

Biologija
Laboratorijska vaja:
Delovanje enostavnih katalizatorjev

1. UVOD

Pri vaji smo izvedeli, da je vodikov peroksid (H_2O_2) kemična snov, ki nastaja kot stranski proizvod pri kemičnih reakcijah v živih celicah. Ker pa je strupen, ima celica nalogo, da ga takoj razgradi. Pri tem razkroju sodeluje snov – katalizator – ki pospešuje kemične reakcije. Te katalizatorje imenujemo encimi ali fermenti. Encimi so kemično beljakovine.

Namen in cilji vaje:

- opazovati delovanje encima katalaze, ki pospešuje razkroj vodikovega peroksida
- primerjati njeno delovanje z delovanjem nebeljakovinskih katalizatorjev in ugotoviti, v kakšnih razmerah deluje
- spoznati razlike in podobnosti v delovanju anorganskega katalizatorja in encima,
- spoznati dejavnike, ki vplivajo na delovanje encimov (pH, temperatura, velikost delcev),
- razumeti pomen encimov v živih celicah,
- spoznati encim katalazo in njeno vlogo v celicah.

2. MATERIAL

- erlenmajerica
- manganov dioksid v prahu
- sveža 3 % raztopina vodikovega peroksida
- destilirana voda
- koščki svežih govejih jeter in krompirja
- standardne epruvete
- valji s prostornino 350 ml
- pinceta
- termometer
- držalo za epruveto
- kopel z vrelo vodo
- ledena kopel
- kopel sobne temperature
- steklena paličica
- kremenčev pesek (SiO_2)
- univerzalni indikatorski papir

- skalpel
- raztopina natrijevega hidroksida (0,1 M)
- raztopina klorovodikove kisline (0,1 M)
- kristalizirka
- terilnica in pestilo
- lesene trske
- vžigalice
- dve veliki epruveti
- gumijaste cevke
- steklene cevke
- preluknjani zamaški
- gorilnik
- stativ s tremi mufami in prižemami

3. METODA DELA

Hitrost reakcije smo označili:

0 = ni reakcije

1 = počasna reakcija

2 = zmerna reakcija

3 = hitra reakcija

4 = zelo hitra reakcija

1) Razkroj H_2O_2 s segrevanjem (brez katalizatorjev)

Najprej smo pripravili napravo za zbiranje plina, ki nastaja pri razgradnji H_2O_2 . Potem smo nalili v epruveto 5 ml 3 % raztopine H_2O_2 in jo previdno segrevali tako, da se je H_2O_2 začel razkrajati v produkte razgradnje, od katerih je eden plin. Plin pa smo seveda zbirali v prej omenjeni aparaturi oz. napravi. Nato pa smo s tlečo trsko ugotovili, kateri plin je nastal.

2) Delovanje katalizatorja in delovanje encima

Nato smo nalili raztopino H_2O_2 v dve epruveti približno do višine 2 cm. V eno izmed njih smo dodali malo drobnega peska, v drugo pa približno enako količino manganovega dioksida. Paziti pa smo morali, da nismo prenašali MnO_2 in kremenčevega peska z isto žličko.

3) Učinek encima

V dve čisti drugi epruveti pa smo nalili enaki količini (2 ml) H_2O_2 . V prvo smo dodali za riževno zrno velik košček jeter, v drugo pa približno enako velik košček krompirja. Košček jeter smo v epruveti držali s pomočjo paličice, dokler reakcija ni potekla.

4) Ponovna uporaba encima

Tekočino iz prve epruvete z jetri iz prejšnjega poskusa, smo razdelili v 2 čisti epruveti. Tako pa smo naredili tudi z jetri in dali v vsako epruveto košček jeter. Nato pa smo v prvo epruveto dodali še svež košček jeter, v drugo pa smo dolili še 1 ml svežega H_2O_2 .

5) Vpliv velikosti delcev na delovanje encima

Dali smo nekaj koščkov jeter v velikosti riževih zrn v eno in nekaj enako velikih koščkov krompirja v drugo epruveto. V drugo epruveto smo dali nekaj koškov krompirja, v prvo pa nekaj enako velikih koščkov jeter. Nato smo v obe epruveti vsuli tudi malo peska in ves material previdno zmečkali s stekleno paličico. Potem pa smo dodali še po 2 ml H_2O_2 .

6) Vpliv temperature na delovanje encima

Nekaj zmečkanih jeter smo z dna epruvete postavili za 5 minut v vrelo vodo. Potem smo dodali kuhanim jetrom približno 1 ml svežega H_2O_2 . Nato smo vzeli 2 epruveti in dali v vsako 1 ml H_2O_2 . Eno izmed epruveto smo postavili za 5 minut v toplo vodno kopel (37 °C) drugo pa v ledeno. Kasneje smo ju vzeli iz kopeli in obema dodali košček jeter.

7) Vpliv pH na delovanje encima

V tri čiste epruvete smo dali majhen košček jeter in dodali malo peska ter vse skupaj zopet zmečkali s stekleno paličico. V prvo izmed epruvet smo dodali 2 ml destilirane vode, v drugo 2 ml natrijevega hidroksida in v tretjo 2 ml klorovodikove kisline. Nato smo si za vsako epruveto zapisali njen pH. Nato smo v vsako epruveto vlili še 2 ml H_2O_2 .

4. REZULTATI

1) Razkroj H₂O₂ s segrevanjem (brez katalizatorjev)

Pri segrevanju H₂O₂ sta, kot produkta nastala voda in kisik. V sami epruveti pa je ostala voda. Reakcija je potekla zelo hitro. S tlečo trsko pa smo dokazali tudi prisotnost kisika. Razkroj H₂O₂ bi v živih celicah potekel s pomočjo katalizatorjev. Katalizatorji omogočajo potek pri nižji aktivacijski temperaturi, celice bi drugače pomrle zaradi previsoke temperature, ki bi bila potrebna za potek reakcije.

2) Učinek katalizatorja

Epruveta	Dodane snovi	Hitrost reakcije
1	H ₂ O ₂ + pesek	0
2	H ₂ O ₂ + manganov dioksid	3

3) Učinek encima

Epruveta	Dodane snovi	Hitrost reakcije
1	H ₂ O ₂ + jetra	3
2	H ₂ O ₂ + krompir	1

4) Ponovna uporaba encima

Epruveta	Dodane snovi	Hitrost reakcije
1	star H ₂ O ₂ + stara in sveža jetra	0
2	star in svež H ₂ O ₂ + stara jetra	3

5) Vpliv velikosti delčkov

Epruveta	Dodane snovi	Hitrost reakcije
1	H ₂ O ₂ + jetra + pesek	4
2	H ₂ O ₂ + krompir + pesek	3

6) Vpliv temperature

Epruveta	Dodane snovi	Temperatura	Hitrost reakcije
1	H ₂ O ₂ + kuhana jetra	100 °C	0
2	H ₂ O ₂ + jetra + topla vodna	37 °C	3

	kopel		
3	H ₂ O ₂ + jetra + ledena vodna kopel	3 °C	3

7) Vpliv pH

Epruveta	Dodane snovi	pH	Hitrost reakcije
1	H ₂ O ₂ + jetra + pesek + destilirana voda	7	3
2	H ₂ O ₂ + jetra + pesek + NaOH	13	2
3	H ₂ O ₂ + jetra + pesek + HCl	1	0

5. RAZPRAVA (diskusija)

Pri tej vaji smo ugotavljali, kako delujejo katalizatorji. Za primer smo vzeli katalizator – encim katalazo, ki pospešuje razkroj vodikovega peroksida (H₂O₂), ki je v tej situaciji substrat (snov, na katero deluje encim). Katalizator se veže na reagirajočo molekulo in tako zniža njeno aktivacijsko energijo tako, da se reakcija lahko začne.

Že pri prvem poskusu smo izvedeli, da razpad H₂O₂ povzroči visoka temperatura. Ker pa, kot sem že omenil v živih celicah to ni mogoče, celice uporabljajo encim katalazo.

Z drugim poskusom pa smo dokazali, da je mogoče H₂O₂ razgraditi tudi z nebeljakovinskim katalizatorjem, in sicer MnO₂. Tukaj smo ugotovili, da pesek ni katalizator za H₂O₂.

Pri tretjem poskusu smo videli, da je encima katalaze več v jetrih kot pa v krompirju, saj je bila reakcija ob prisotnosti jeter hitrejša. Poskusili smo tudi ugotoviti, katera snov se je spremenila pri reakciji med H₂O₂ in jetri.

Pri četrtem poskusu pa nas je zanimalo, če se encim pri reakcijah uniči ali porabi. V prvo epruveto smo dali star H_2O_2 ter stara in sveža jetra. Reakcija ni potekla. V drugo epruveto smo nato dali stari H_2O_2 , stara jetra ter še sveži H_2O_2 . Pri tem pa je reakcija potekla. S tem smo prišli do ugotovitve, da je encim katalaza v jetrih ostal po reakciji, saj je deloval v dveh reakcijah.

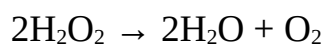
Pri petem poskusu smo ugotovili, da velikost delcev krompirja in jeter močno vpliva na hitrost reakcije, saj se je lahko s tem, ko smo zmečkali krompir in jetra na manjše koščke, sprostito več katalaze in je reakcija tako potekla hitreje kot v tretjem in četrtem poskusu.

Vpliv temperature na delovanje katalaze pa smo ugotavljali pri šestem poskusu. Reakcija je najhitreje potekla pri topli vodni kopeli ($37\text{ }^\circ\text{C}$), pri mrzli ($3\text{ }^\circ\text{C}$) počasneje, pri $100\text{ }^\circ\text{C}$ pa sploh ni potekla.

Pri tej vaji pa smo poleg naštetega tudi ugotovili, da pH vrednost vpliva na encim. V našem primeru je za katalazo najprimernejša pH vrednost 7, ki je nevtralna, saj je reakcija najhitreje potekla v epruveti z destilirano vodo, saj ima voda nevtralen pH, počasneje v bazičnem okolju, še manj primerno pa je kislo okolje.

Pri dokazovanju produktov reakcije smo uporabili tlečo trsko in gorečo vžigalico. Ker je tleča trska v epruveti močneje zažarela, smo s tem dokazali prisotnost kisika v epruveti, saj je kot vsi vemo za gorenje potreben kisik. Da pa bi dokazali prisotnost vodika, bi moralo počiti, ko bi gorečo vžigalico približali k ustju epruvete. Ker pa se to ni zgodilo smo dokazali, da vodik ni produkt reakcije.

Pri razpadu H_2O_2 s pomočjo encima katalaze sta nastala kisik in voda:



Dejavniki, ki vplivajo na delovanje encimov, so:

- temperatura
- pH vrednost
- količina substrata
- količina encima
- površina
- antibiotiki

KOMENTAR

Lahko, da je lahko prišlo do manjše napake v preglednicah pri podatkih za hitrost reakcije, saj smo jo ocenili le s prostim očesom.

6. ZAKLJUČEK

Pri vaji smo spoznali, da so encimi življenjskega pomena, saj brez njih ne reakcije snovi ne bi mogle poteči, reakcije snovi, ki nastajajo med metabolizmom v našem telesu, npr. razpad H_2O_2 , ki ga mora celica zaradi strupa takoj razgraditi, nastane pa kot stranski proizvod pri kemičnih reakcijah v živih celicah. Če katalizatorja ne bi bilo, bi ga mogla razgraditi z visoko temperaturo, kar pa tega ne more, saj bi beljakovine spremenile obliko.

Ugotovili pa smo tudi, da katalizatorji v različnih pogojih delujejo drugače ter da se katalizatorji ne porabijo ali uničijo, ampak le vstopajo v nadaljnje reakcije. S to vajo smo dosegli vse cilje napisane v uvodu.

7. LITERATURA

- Drašler, Povž, Gogala, ostali, BIOLOGIJA, Navodila za laboratorijsko delo, DZS, Ljubljana 1998
- Pevec S., BIOLOGIJA, Laboratorijsko delo
- Stušek P., Podobnik A., Gogala N., CELICA, DZS, Ljubljana 1997