

laboratorijsko delo 4

# **DELOVANJE ENOSTAVNIH KATALIZATORJEV**

## 1. CILJI VAJE

- seznanjanje z lastnostmi encimov in njihovo vlogo v živih celicah
- spoznavanje razlik med encimi in katalizatorji
- odkrivanje nekaterih dejavnikov, ki vplivajo na aktivnost encimov
- spoznati lastnosti in pomen encima katalaze ter ugotoviti, kje ga najdemo

## 2. UVOD

Vodikov peroksid ( $H_2O_2$ ) nastaja kot stranski produkt pri metabolnih procesih v celicah. Ker je strupen, ga mora celica takoj razgraditi. Pri njegovem razkroju sodeluje snov – encim katalaza, ki ga najdemo v jetrih.

Pri tem laboratorijskem delu smo opazovali delovanje katalaze in ga primerjali z delovanjem anorganskega katalizatorjamanganovega dioksida.

## 3. MATERIAL

- epruvete
- držalo za epruvete
- menzura
- vroča, topla in mrzla vodna kopel
- manganov dioksid ( $MnO_2$ ) v prahu (0,1 g)
- 120 ml sveže 3 % raztopina vodikovega peroksida ( $H_2O_2$ )
- koščki svežih jeter in krompirja
- droben kremenčev pesek
- pH papir (lakmusov papir)
- 0,1 M raztopina NaOH
- 0,1 M raztopina HCl
- skalpel

demonstracija – proizvodi reakcije:

- kristalizirka
- erlenmajerica
- gumijasta cev
- steklena cevka
- preluknjan gumijast zamašek

## 4. METODE DELA

Pri vseh poskusih smo označili hitrost reakcije: 0 – ni reakcije; 1 – počasna reakcija; 2 – zmerna reakcija; 3 – hitra reakcija; 4 – zelo hitra, burna reakcija.

### A) Učinek katalizatorja

V dve epruveti nalijte 2 ml raztopine vodikovega peroksida ( $H_2O_2$ ). V eno epruveto dodajte malo kremenčevega peska, v drugo enako količino manganovega dioksida ( $MnO_2$ ). Opazujte in zapišite hitrost reakcije v obeh epruvetah.

### B) Učinek encima

V dve čisti epruveti nalijte 2 ml raztopine vodikovega peroksida ( $H_2O_2$ ). V eno epruveto dodajte košček jeter, v drugo pa enako velik košček krompirja. Kakšni sta reakciji v primerjavi z reakcijo, ki je potekala ob prisotnosti manganovega dioksida?

### C) Ponovna uporaba encima

Tekočino iz epruvete z jetri (ko mehurčki prenehajo izhajati) razdelite v dve čisti epruveti. Prerežite jetra na dva dela in dajte v vsako epruveto po en košček. V eno dodajte košček svežih jeter, v drugo pa kanite 1 ml svežega  $H_2O_2$ . Zapišite spremembe!

### D) Vpliv velikosti delcev

V eno epruveto dajte nekaj koškov jeter, v drugo pa enako količino krompirja. V vsako epruveto dodajte še malo kremenčevega peska in ves material zmečkajte s stekleno palčko. V vsako epruveto dodajte 2 ml  $H_2O_2$ . Kakšni so rezultati v primerjavi s tistimi, ki ste jih dobili z nezmečkanimi koški jeter in krompirja. Določite hitrost reakcije.

### E) Vpliv temperature

V epruveto dajte nekaj zmečkanih jeter in epruveto postavite v vrelo vodno kopel za 5 minut. Kuahnim jetrom dodajte 1 ml svežega  $H_2O_2$ . Opazujte in si zapišite rezultat.

V dve epruveti nalijte po 1 ml  $H_2O_2$ . Eno epruveto postavite v toplo vodno kopel ( $37^\circ C$ ), drugo pa v ledeno kopel. Po petih minutah vzemite obe epruveti iz kopeli in v vsako dodajte še košček jeter. Primerjajte hitrost reakcij.

### F) Vpliv pH

V tri epruvete dajte košček jeter in nekaj kremenčevega peska. Vsebinsko zmečkajte s stekleno palčko. V prvo epruveto dodajte 2 ml destilirane vode, v drugo 2 ml NaOH, v tretjo pa 2 ml HCl. S pH papirjem izmerite vrednosti pH v vsaki od treh epruvet in jih zapišite. V vsako epruveto vlijte 2 ml  $H_2O_2$ . Opazujte reakcijo in zapišite rezultate.

### G) Proizvodi reakcije (demonstracija)

Plitvo kristalizirko do treh četrtin napolnite z vodo. Nato z vodo napolnite tudi večji epruveti. Epruveti v plitvo posodo obrnite tako, da bo odprtina epruvet pod vodno gladino. Prosti konec cevi iz aparata vtaknite v odprtino ene epruvete.

V 250 ml erlenmajerici zmečkajte malo jeter in peska. Dodajte 100 ml  $H_2O_2$ . Čez 5 sekund zamašite steklenico z zamaškom. Zberite dve epruveti plina tako, da prestavite cev v drugo epruveto, ko je prva polna plina.

Vzemite eno od epruvet s plinom in jo držite z odprtino navzdol. Nato jo obrnite z odprtino navzgor in odprtemu koncu hitro približajte gorečo vžigalico. Zapišite kaj ste opazili. Potem vzemite drugo epruveto in jo takoj obrnite z odprtino navzgor. V to epruveto vtaknite tlečo trsko. Zapišite rezultate.

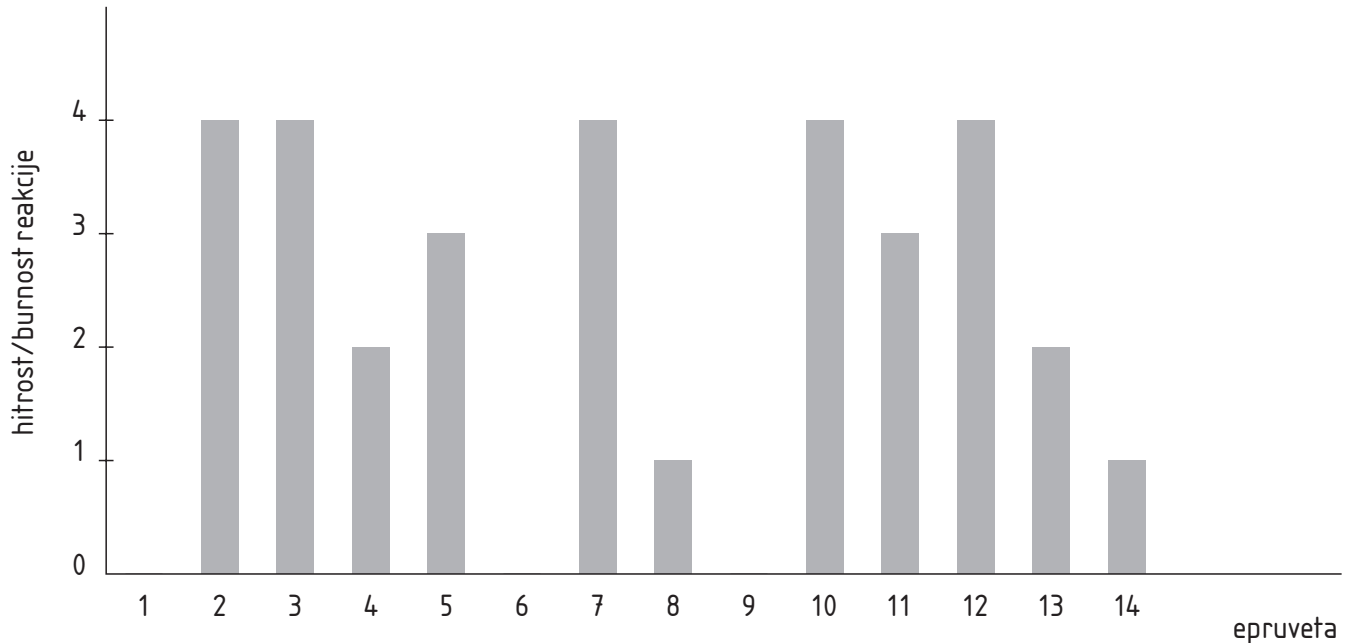
## 5. REZULTATI

tabela 1: Hitrost reakcij

poskus	epruveta	vsebina epruvete	hitrost reakcije
A - Učinek katalizatorja	1	2 ml $H_2O_2$ + pesek	0
	2	2 ml $H_2O_2$ + $MnO_2$	4
B - Učinek encima	3	2 ml $H_2O_2$ + jetra	4
	4	2 ml $H_2O_2$ + krompir	2
C - Ponovna uporaba encima	5	uporabljen jetra + jetra	3
	6	uporabljen jetra + 1 ml $H_2O_2$	0
D - Vpliv velikosti delcev	7	2 ml $H_2O_2$ + zmečkana jetra + pesek	4
	8	2 ml $H_2O_2$ + zmečkan krompir + pesek	1

E - Vpliv temperature	9	kuhana jetra + 1 ml H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0
	10	1 ml H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (37° C) + jetra	4
	11	1 ml H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (0° C) + jetra	3
F - Vpliv pH	12	2 ml destilirane vode + jetra + pesek (pH 7)	4
	13	2 ml NaOH + jetra + pesek (pH 14)	2
	14	2 ml HCl + jetra + pesek (pH 1)	1

graf 1: Hitrost reakcij



## 6. DISKUSIJA

Vodikov peroksid H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> je stranski produkt celične presnove. Ker je strupen, ga morajo celice čimprej razgraditi na neškodljive produkte vodo in kisik (2H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> → 2H<sub>2</sub>O + O<sub>2</sub>). Slednjega smo s tlečo trsko, ki je ob prisotnosti kisika zagorela, dokazali pri demonstracijskem poskusu. Če bi izhajal vodik, bi prišlo do eksplozije.

Kot smo ugotovili pri prvem poskusu, taka reakcija poteče, če vodikovemu peroksidu dodamo anorganski katalizator manganov dioksid. Reakcija, ki poteče je eksotermna – kar pomeni, da se pri tem sprosti toplota. Iz tega lahko sklepamo, da je za razpad H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> potrebna dodatna temperatura (segrevanje), saj se molekule pri običajni temperaturi ne gibljejo dovolj hitro, da bi med seboj lahko reagirale.

Vendar pa se temperatura pri procesih v celici ne more dovolj zvišati, saj bi pri visoki temperaturi razpadle tudi molekule (beljakovine), ki gradijo celico. Zato so v celici snovi, ki imajo sposobnost zniževanja energijske pregrade. Te snovi imenujemo encimi.

Encim, ki v celicah razgrajuje vodikov peroksid, imenujemo katalaza. Kot smo dokazali pri vaji B (učinek encima), katalazo najdemo predvsem v jetrih. Ko smo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dodali jetra, je potekla burna reakcija, ko pa smo dodali koscek krompirja, je reakcija potekla bistveno počasneje.

Encimi, tako kot anorganski katalizatorji, vstopajo v reakcije, jih pospešijo, vendar se pri tem ne spreminjajo in ne porabljajo. To smo dokazali tako (poskus C – Ponovna uporaba encima), da smo koščku jeter, ki smo ga uporabili v prejšnjem poskusu, dodali še 1 ml  $H_2O_2$  in reakcija je potekla ponovno, kar pomeni, da je bil encim še vedno prisoten.

Kot smo opazili v naslednjih treh poskusih na delovanje encimov vplivajo različni faktorji.

Če je encimov več, reakcija poteče hitreje. Ravno tako poteče hitreje, če so delci substrata manjši, ker imajo sorazmerno večjo površino. To smo dokazali s poskusom D, ko je bila burnejša tudi reakcija, ko smo vodikovemu peroksidu dodali zmečkan krompir.

Na delovanje encimov vplivata tudi temperatura in pH okolja v katerem poteka reakcija. Reakcijo lahko pospešimo, če dovajamo toploto, vendar le do določene meje, saj pri previsokih temperaturah encimi, ki so beljakovine, koagulirajo. To smo dokazali s poskusom E, ko smo uporabili kuhana jetra in reakcija sploh ni potekla. V primeru, ko smo epruveto ohladili na  $0^\circ C$ , je reakcija sicer potekla, vendar počasneje. Optimalna temperatura za delovanje encima katalaze je, pri  $37^\circ C$ . Za razliko od katalaze, ki je beljakovina, pa manganov dioksid ni občutljiv na temperaturo, saj je anorganska snov.

Nekateri encimi delujejo bolje v alkalnem (visok pH) kot v kislem (nizek pH) okolju. Za katalazo je optimalno nevtravno okolje (pH 7). Reakciji v bazičnem (NaOH) in kislem okolju (HCL) sta sicer potekli, vendar bistveno počasneje.

## 7. ZAKLJUČEK

Encim katalaza in anorganski katalizator  $MnO_2$  razgrajujeta vodikov peroksid v neškodljiva produkta vodo in kisik. Slednjega smo dokazali z gorečo trsko. Encim katalaza deluje hitreje, če celice poškodujemo (zmečkamo). Njegovo optimalno temperaturno območje delovanja je okrog  $37^\circ C$  in optimalno pa deluje tudi v nevtralnem pH (pH 7). Encim se pri reakciji ne spreminja, ne porablja in ne uničuje. Reakcijo le pospeši.

## 8. LITERATURA

Jože Drašler, Nada Gogala, Meta Povž, Franc Sušnik, Tatjana Verčkovnik in Branko Vesel, BIOLOGIJA - Navodila za laboratorijsko delo. DZS, Ljubljana. 2005.

Gerald C. Karp, Cell and molecular biology: concepts and experiments. J. Wiley & Sons, New York. 2004.

W. R. Pickering Biologija. Shematski pregledi. Tehniška založba Slovenije, Ljubljana. 1996.

Peter Stušek, Andrej Podobnik in Nada Gogala, Biologija 1, Celica. DZS, Ljubljana. 1998.

Hydrogen peroxide. Answers Corporation, <http://www.answers.com/hydrogen%20peroxide%20>. 2006.

Catalyst. Answers Corporation, <http://www.answers.com/topic/catalyst?method=8>. 2006.