**POROČILO O LABORATORIJSKEM DELU**

 **BIOLOGIJA**

***DELOVANJE***

 ***ENOSTAVNIH KATALIZATOR*JEV**

1. **UVOD**

Vodikov peroksid (H2O2) je kemična snov, ki nastaja kot stranski proizvod pri kemičnih reakcijah v živih celicah. Ker je strupen, ga mora celica takoj razgraditi. Pri razkroju sodeluje snov - katalizator - ki pospešuje kemične reakcije. Katalizatorje v živih celicah imenujemo encimi ali fermenti. Encimi so kemično beljakovine.

Pri tem laboratorijskem delo bomo opazovali delovanje encima katalaze, ki pospešuje razkroj vodikovega peroksida. Katalazo najdemo v tkivih. Primerjali bomo njeno delovanje z delovanjem nebeljakovinskih katalizatorjev in ugotovili v kakšnih razmerjih deluje.

Namen naše vaje je:

* 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.
1. **POSTOPEK**

*Material:*

* manganov dioksid v prahu
* sveža 3 % raztopina vodikovega peroksida
* destilirana voda
* koščki svežih jeter in krompirja
* standardne epruvete
* menzura
* pinceta
* termometer
* kopel z vrelo vodo
* ledena kopel
* kopel sobne temperature
* steklena paličica
* droben pesek
* univerzalni indikatorski papir
* skalpel
* raztopina natrijevega hidroksida (0,1 M)
* raztopina klorovodikove kisline (0,1 M)
* 250 ml erlenmajerica
* kristalizirka
* terilnica in pestilo
* 2 veliki epruveti
* preluknjan zamašek

*Metoda dela:*

***1. Učinek katalizatorja.*** Nalijemo raztopino vodikovega peroksida v dve epruveti približno do višine dveh centimetrov. V eno dodamo malo drobnega peska, v drugo pa približno enako količino manganovega dioksida. Opazujemo reakcijo v obeh epruvetah in ocenimo hitrost reakcije!

***2. Učinek encima.*** V dve čisti epruveti nalijemo enaki količini (2 ml) vodikovega peroksida. V eno dodamo za riževo zrno velik košček jeter, v drugo pa enako velik košček krompirja. Košček jeter držimo s pomočjo paličice v epruveti, dokler reakcija ne poteče.

***3. Ponovna uporaba encima.*** Tekočino iz epruvete z jetri iz prejšnjega poskusa razdelimo v dve čisti epruveti. Tudi jetra razdelimo na dva dela in dodajmo v vsako epruveto košček. V prvo epruveto dodamo še svež košček jeter, v drugo pa dolijemo še 1 ml svežega vodikovega peroksida. Opazujemo in ocenimo hitrost reakcij.

***4. Vpliv velikosti delčkov.*** Damo nekaj koščkov jeter v velikosti riževih zrn v eno in nekaj enako velikih koščkov krompirja v drugo epruveto! V epruveti vsujemo malo peska in ves material previdno zmečkamo s stekleno paličico. Nato dodamo v epruveti po 2 ml vodikovega peroksida. Določimo hitrost reakcije.

***5. Vpliv temperature.*** Damo nekaj zmečkanih jeter na dno epruvete in jo postavimo za 5 minut v vrelo vodo. Potem dodamo kuhanim jetrom približno 1 ml svežega vodikovega peroksida. Opazujemo in zapišimo hitrost reakcije.

 Vzamemo dve epruveti in damo v vsako 1 ml vodikovega peroksida Postavimo za 5 minut eno epruveto v toplo vodno kopel (37°C), drugo pa v ledeno vodno kopel! Potem vzamemo obe epruveti iz njunih vodnih kopeli in v vsako dodamo košček jeter. Primerjamo hitrost reakcij.

***6. Vpliv pH.*** V vsako izmed treh čistih epruvet damo majhen košček jeter in malo peska ter zmečkamo s stekleno paličico. V prvo epruveto dodamo 2 ml destilirane vode, v drugo 2 ml natrijevega hidroksida in v tretjo 2 ml klorovodikove kisline. Zapišemo pH vsake epruvete! V vsako epruveto vlijemo še 2 ml vodikovega peroksida. Opazujemo in zapišemo hitrosti posameznih reakcij.

***7. Proizvodi reakcije.*** Pripravimo aparat za zbiranje plina. Plitvo posodo napolnimo z vodo do treh četrtin. Napolnimo z vodo še dve večji epruveti in ju obrnemo v plitvo posodo – ustje epruvet mora biti pod vodno gladino. Prosti konec cevi, ki je pritrjena na zamašek, vtaknemo pod vodo v ustje epruvete.

 V terilnici zmečkamo 1 cm3 jeter s približno enako količino drobnega peska. Mešanico damo v 250 ml erlenmajerico in dolijemo 100 ml vodikovega peroksida. Po petih sekundah zamašimo erlenmajerico z zamaškom, na katerega je pritrjena cevka. Zberemo dve epruveti plina! Ko je prva epruveta polna, prestavimo cevko v ustje druge.

1. **REZULTATI**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Vaja** | **Številka****epruvete** | **Vsebina epruvete** | **Hitrost reakcije** |
| **Učinek katalizatorja** | 1 | H2O2 + pesek | **0** |
| 2 | H2O2 + MnO2 | **4** |
| **Učinek encima** | 1 | H2O2 + jetra | **3** |
| 2 | H2O2 + krompir | **2** |
| **Ponovna uporaba encima** | 1 | H2O2 + uporabljena jetra + sveža jetra | **0** |
| 2 | H2O2 + uporabljena jetra + 1 ml svežega H2O2 | **4** |
| **Vpliv velikosti delčkov** | 1 | zmečkana jetra + pesek + 2 ml H2O2 | **4** |
| 2 | zmečkan krompir + pesek + 2 ml H2O2 | **3** |
| **Vpliv temperature** | 1 | H2O2 (ledena kopel) + jetra | **0** |
| 2 | H2O2 (pri 37°C) + jetra | **4** |
| 3 | H2O2 (vrela kopel) + jetra | **3** |
| **Vpliv pH** | 1 | jetra + pesek + H2O2 + dest. voda (pH=7) | **4** |
| 2 | jetra + pesek + H2O2 + NaOH (pH=13) | **0** |
| 3 | jetra + pesek + H2O2 + HCl (pH=1) | **0/1** |

*Legenda:*

0 = ni reakcije

1 = počasna reakcija

2 = zmerna reakcija

3 = hitra reakcija

4 = zelo hitra reakcija

GRAFIKON HITROSTI REAKCIJ

1. **RAZLAGA, DISKUSIJA**
2. ***Učinek katalizatorja***

Prva epruveta: reakcija ni potekla, torej pesek ni katalizator za razgradnjo H2O2.

Druga epruveta: reakcija je bila hitra, pod vplivom manganovega dioksida (MnO2), ki je anorganski katalizator in ga najdemo v naravi.

1. ***Učinek encima***

Ugotavljali smo delovanje biokatalizatorja, encima katalaze, ki je beljakovina in jo najdemo v tkivih. Reakcija je bila hitrejša ob prisotnosti jeter, kot pa pri prisotnosti krompirja, torej je encima več v jetrih.

1. ***Ponovna uporaba encima***

Ugotavljali smo, če se encim uniči ali porabi pri reakcijah. V prvo epruveto smo dali H2O2, jetra iz prejšnje epruvete in še sveža jetra. Do reakcije ni prišlo, ker ni bilo več substrata (H2O2). V drugo epruveto smo dali reagiran H2O2, jetra iz prejšnje epruvete in nekaj novega substrata. Reakcija je potekla, torej se v prejšnji reakciji encim ni porabil.

Encimi reakcije le pospešijo, ni jih v produktih, ne uničijo se in se ne porabijo.

1. ***Vpliv velikosti delčkov***

Ugotavljali smo, če velikost delcev krompirja in jeter vpliva na hitrost reakcije. S peskom smo ju zdrobili na manjše koščke, tako se je iz tkiv sprostilo več katalaze in reakcija je potekla hitreje kot v drugem poskusu, kjer smo uporabili večje kose jeter in krompirja.

1. ***Vpliv temperature***

Ugotavljali smo vpliv temperature na delovanje katalaze. Najhitreje je reakcija potekla pri 37°C (optimalno območje). V epruveti, ki je bila v ledeni vodi, je reakcija potekla počasneje, v tisti, ki je bila v vreli vodi pa reakcija sploh ni potekla. Torej je bila temperatura previsoka in beljakovine so spremenile svojo obliko (so koagulirale).

1. ***Vpliv pH***

Ugotavljali smo, v kakšnem pH okolju encim deluje najbolje. Nekateri encimi delujejo najbolje v kislem okoju, drugi v bazičnem in nekateri v nevtralnem.

Katalaza najbolje deluje v nevtralnem okolju (destilirana voda), znaki reakcije so se kazali v kislem (dodana klorovodikova kislina)v bazičnem okolju (dodan natrijev hidroksid) pa reakcija ni potekla, ker je encim koaguliral.

1. ***Proizvodi reakcije***

Ugotavljali smo, kaj pospešuje razgradnjo strupenega vodikovega peroksida (H2O2), ki je stranski produkt živih celic in obenem strupen, tako da ga morajo celice dovolj hitro razgraditi. Taka reakcija je uspešna s katalizatorjem.

Ko segrevamo vodikov peroksid, razpade na kisik in vodo.

Enačba reakcije:



Plin, ki je nastajal ob segrevanju, smo zbirali v okrog obrnjeni epruveti z vodo, da nam ni uhajal. Dokazali smo ga tako, da smo dali v epruveto tlečo trsko, ki je zagorela, torej je bil nastali plin O2.

Razpad vodikovega peroksida torej povzroči visoka temperatura. V živih celicah pa to ni mogoče, saj pri taki temperaturi beljakovine spremenijo svojo obliko. Tako za razpad celice uporabijo encim katalazo.

1. **ZAKLJUČKI**

Ugotovili smo, da se encim pri reakciji ne spremeni, porabi ali uniči, reakcijo le pospešuje. Na hitrost delovanja encima vplivajo temperatura, pH in velikost delcev.

Dokazali smo tudi naslednje:

* da so beljakovinski katalizatorji učinkovitejši od nebeljakovinskih,
* da večja površina delcev pospeši reakcijo,
* da je učinkovitost katalaze največja v nevtralnem, najmanjša pa v kislem okolju
* da pri razgradnji vodikovega peroksida nastaja kisik

*Opomba:*

Rezultati niso najbolj natančni, saj smo hitrost reakcije ocenili na prosto oko in ker delci niso bili vedno enako veliki.

1. **VIRI in LITERATURA**
* Peter Stušek, Andrej Podobnik, Nada Gogala: BIOLOGIJA 1, Celica, DZS,

Ljubljana 2003.

* Biologija – Navodila za laboratorijsko delo
* List z navodili za vajo
* INTERNET:
* http://ro.zrsss.si/projekti/kmetijstvo/mlekoinm/encim.htm

*Priloga:*

Odgovori na vprašanja iz delovnega zvezka.