***POROČILO ZA BIOLOGIJO***

1. **UVOD**

Zato, da reakcija poteče je potrebna neka energija. Kadar govorimo o reakcijah, ki so encimsko pogojene, pravimo da so to reakcije katerim dejansko encimi pomagajo poteči. Te encimi znižujejo nivo potrebne AKTIVACIJSKE ENERGIJE – se pravi energije, ki je potrebna, da na primer pride do razgrajevanja neke snovi. V našem primeru je šlo za encim katalazo, ki razgrajuje H2O2 .

1. **NAMEN**

Namen vaje je bil odkriti, kako encim katalaza deluje na razgradnjo H2O2 pod različnimi pogoji. H2O2. Vodikov peroksid nastaja v kemijskih reakcijah v celicah in ker je močno reaktiven, je za celice strupen. Encim katalaza pa se je v našem primeru nahajal v celicah baby beef jeter. Tako je v teh poskusih nastopal H2O2 kot substrat oz. podlaga (snov s katero encim zreagira). Naša naloga je bila opazovati spremembe in narediti relativno oceno hitrosti reakcije od 0 (ni reakcije) do 4 (zelo burna reakcija).

1. **POTREBŠČINE**

Za vajo smo potrebovali:

* + H2O2
  + Baby beef jetra
  + Kremenčev pesek (SiO2)
  + 1ml destilirane vode
  + 1ml NaOH
  + 1ml HCl
  + epruvete
  + palčko za homogenizacijo jeter
  + škarjice in pinceto za rezanje in dodajanje jeter
  + pH indikatorji

1. **POSTOPEK**

Vajo je sestavljalo 11 nalog, tako da bom opisal vsako posebej.

1. V prvo epruveto smo nalili H2O2 – seveda je bila posledica, da se ni zgodila nobena reakcija in nobena druga posebna sprememba.
2. Prvi epruveti smo dodali kremenčev pesek. Prišlo je do reakcije druge hitrosti pri kateri se je vonjal oster vonj, vendar sprememb v temperaturi ali barvi ni bilo. Isto nalogo smo nato naredili še z MnO2 in ugotovili, da je v tem primeru reakcija zelo burna (stopnje štiri) ter postane vsebina črne barve.
3. V novo epruveto smo dodali košček jeter temu koščku pa nato dodali H2O2 . Potekla je reakcija stopnje 2, začela se je reakcija med substratom in encimom, ki pa še vedno ni bila preveč burna. Iz epruvete so izhajali mehurčki (kisik). Večje spremembe v barvi, vonju in temperaturi ni bilo zaznati. Med encimom in substratom nastane kompleks encim-substrat, saj se dela encimske in substratne molekule prostorsko skladata. Tako se je aktivacijska energija zmanjšala, reakcija pa je lažje potekla.
4. Polovico vsebine epruvete smo nato zlili v novo epruveto. Tej smo dodali še en košček jeter. V temu primeru je bila hitrost reakcije 0, saj pri tem nismo dodali novega substrata (vodikovega peroksida), ki bi lahko reagiral z encimi katalaze.
5. Drugi polovico epruvete številka 3 smo nato dodali H2O2. V tem primeru je lahko prišlo do burnejše reakcije, saj smo dodali substrat, ki je lahko reagiral z encimi v jetrih. Stopnja reakcije je bila 3, izhajali so mehurčki (glej nalogo 3), zaznali smo šibek vonj. V tem primeru je torej prišlo do stika aktivnega mesta encimov s substrati in reakcija je lahko dobro potekla.
6. Tokrat smo jetra homogenizirali (v novi epruveti) in sicer tako, da smo jih strli s kremenčevim peskov. Nato smo jim dodali vodikov peroksid. Potekla je precej burna reakcija stopnje 3.5, vsebina se je rahlo segrela, ponovno so izhajali mehurčki, vonj pa je bil zelo rahel. S tem smo dokazali, da če povečamo površino jeter, postane stična površina med encimi in substratom večja in s tem reakcija med encimi in substrati lažje poteče.
7. Poskus številka sedem nam je demonstrirala profesorica. Homogeniziranim jetrom je dodala vodikov peroksid in nam nato z žarečo trsko dokazala, da iz zmesi izhaja kisik, saj je ogenj močneje zasvetil.
8. Pri tem poskusu smo homogeniziranim jetrom dodali vodikov peroksid nato pa epruveto segrevali pet minut pri 100 stopinjah Celzija. Potekla je reakcija s hitrostjo (stopnjo) 1, temperaturne spremembe ni bilo, izhajalo je malo mehurčkov, postalo je rjavkaste barve. Ugotovili smo, da določeni encimi pri visokih temperaturah ne delujejo najbolje.
9. Homogeniziranim jetrom smo dodali 1ml destilirane vode in nato H2O2. Reakcija je potekla zelo hitro in burno (3,5 stopnje), rahlo se je spremenila barva, izhajali so mehurčki, temperaturnih sprememb ni bilo. Prvič smo uporabili pH indikatorje in ugotovili,da je pH vsebine 7. tako lahko sklepamo, da encimi v nevtralnem okolju delujejo dobro.
10. Homogeniziranim jetrom smo najprej dodali 1ml NaOH in nato še vodikov peroksid. Stopnja reakcije je bila 3, reakcija je bila dokaj burna, rahlo se je spremenila barva, še vedno so izhajali mehurčki. Izmerili smo pH=11 in iz tega lahko sklepamo, da reakcija poteka dobro tudi v bazičnem okolju.
11. Navsezadnje pa smo homogeniziranim jetrom dodali 1ml HCl in nato še vodikov peroksid. Hitrost reakcije je bila 1,5, saj je izhajalo le malo mehurčkov, barvnih in temperaturnih sprememb pa ni bilo. Izmerili smo ph=1 in tako lahko sklepamo, da reakcija v kislem okolju ne poteka najbolje.

Glejte tudi priložen list, z izpolnjeno tabelo za podrobnosti.

1. **UGOTOVITVE**

Ugotovili smo, da encim katalaza reagira z vodikovim peroksidom v različnih pogojih različno. Če so pogoji primerni, kar pomeni, da je dovolj encimov in substratov, da lahko reakcija sploh poteče in seveda, da okolje ni kislo, encim in substrat zreagirata in tvorita kompleks encim-substrat. S tem se aktivacijska energija zmanjša in reakcija lažje poteče. Seveda pa je še bolje, če je stična površina med encimi in substrati velika, tako da pride do boljše, hitrejše, burnejše reakcije in da se vpliv encima kot biokatalizatorja v reakciji še poveča.

Opomba: pri izdelavi poročila sem uporabljal:

P. Stušek, A. Podobnik, N. Gogala: Biologija 1, Celica, DZS, Ljubljana, 2001, str. 69, 70.