

# Delovanje katalizatorjev in biokatalizatorjev

---

## 1. Uvod

Za začetek kemijskih reakcij je potrebna aktivacijska energija. Aktivacijska energija je včasih lahko relativno visoka. Znižamo jo lahko z uporabo katalizatorjev, ki jih v presnovnih in prebavnih procesih v organizmih imenujemo biokatalizatorji ali kar encimi.

Encimi so ponavadi po svoji zgradbi beljakovine, ki imajo vgrajen tudi nebeljakovinski del (koencim – vitamni ali mineral).

**Encim** se veže na substrat (to je molekula na katero encim deluje) in nastane encimsko-substratni kompleks. Substrat in encim sta vezana prek aktivnega mesta encima, kjer se ujemata po strukturi in naboju.

Encimi se pri reakcijah ne spreminjajo, zato se potrebujejo le v majhnih količinah.

### Dejavniki ki vplivajo na aktivnost encimov:

- **Temperatura**  
S temperaturo hitrost encimatskih reakcij narašča, vendar le do neke meje, saj določen encim pri določeni temperaturi denaturira in postane neaktiven.
- **pH**  
Za vsak encim obstaja določen pH pri katerem je najbolj aktiven. Za večino encimov je najboljši pH okoli 7, lahko pa je tudi bolj bazično ali bolj kislo.
- **Koncentracija substrata**  
S povečevanjem koncentracije substrata se hitrost reakcije povečuje, dokler niso vse molekule encima "zasedene".
- **Koncentracija encima**  
S povečevanjem se hitrost reakcije povečuje dokler ne zmanjka substrata.
- **Inhibitorji**  
So snovi ki zavirajo ali ustavijo delovanje encima s tem da se vežejo na encim. Primer inhibitorjev so antibiotiki (za bakterijske encime).

### Encim katalaza

V jetrih imamo poseben encim, ki ga imenujemo katalaza. Prisoten je pri živalih in rastlinah. Njegov namen je, da razgrajuje strupen vodikov peroksid. Ta nastaja kot stranski produkt v metabolizmu. Če bi ostal v celici, bi lahko poškodoval nukleinske kisline in druge biomolekule. Reakcija njegove razgradnje brez pomoči katalizatorja poteka počasi. Pri razgradnji se sproščajo mehurčki plinastega O<sub>2</sub>, nastaja tudi voda.

Razpad  $\text{H}_2\text{O}_2$  močno pospešimo z organskimi ali anorganskimi katalizatorji. Močno ga pospešimo z dodajanjem katalaze. Molekula katalaze lahko v minuti razgradi več tisočkrat večjo maso substrata kot je težka sama.

### **Cilji in namen vaje**

Ugotoviti kako zgoraj naštetih dejavnikov vplivajo na hitrost encimatskih reakcij in vlogo katalaze kot biokatalizatorja. Primerjava hitrosti reakcije z biokatalizatorji, anorganskimi katalizatorji s hitrostjo reakcije brez katalizatorjev.

### **Delovne hipoteze**

- Predvidevamo da bo razkroj  $\text{H}_2\text{O}_2$  najhitreje potekal ob prisotnosti anorganskega katalizatorja ( $\text{MnO}_2$ ), nekoliko počasneje ob prisotnosti biokatalizatorja (katalaza) in najpočasneje brez katalizatorja (le s segrevanjem).
- Ob večji količini dodanega encima bo razkroj hitrejši
- Predvidevamo da bo katalaza najbolje delovala pri  $37^\circ\text{C}$  in da pri  $100^\circ\text{C}$  ne bo delovala več (denaturacija beljakovine).
- Predvidevamo da bo katalaza najbolje delovala v bazičnem okolju, v kislem pa najslabše (denaturacija beljakovine).
- Katalaza se pri reakciji ne spremeni
- Tleča trska v epruveti zagori zaradi  $\text{O}_2$  ki izhaja pri razgradnji  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

### **2. Postopek (material in metode dela)**

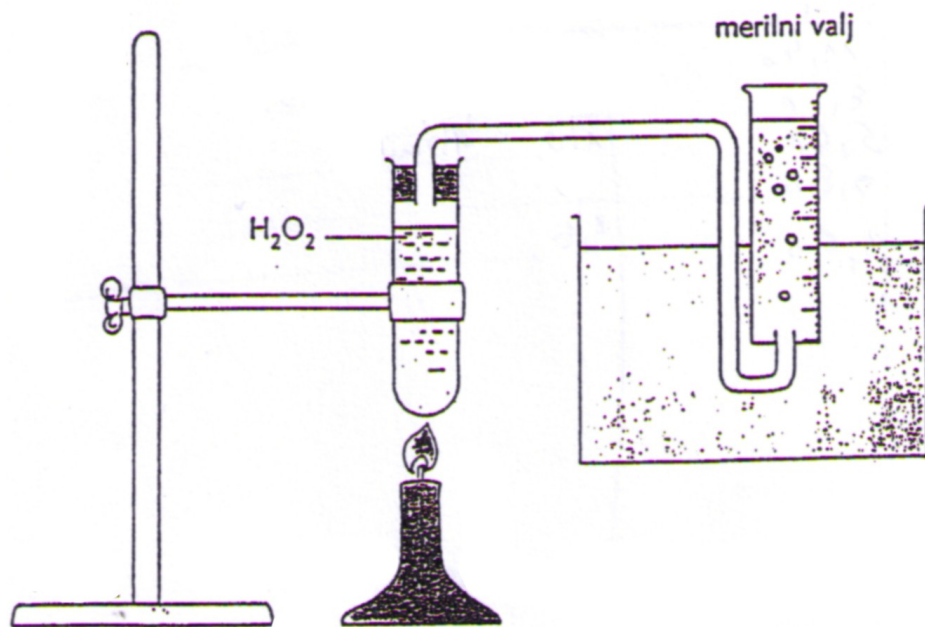
Pri večini meritev smo hitrost reakcij merili s pomočjo aparature ki je na spodnji sliki (slika1), torej s pomočjo nastalega  $\text{O}_{2(g)}$ . V enakih časovnih intervalih smo izmerili volumen kisika v valju. Na ta način smo na zelo preprost način dobili približne hitrosti reakcij.

Hitrost reakcije pa smo merili tudi z Vernierjevim vmesnikom in merilcem za koncentracijo kisika (slika2). Na računalniku se nam je izrisal graf koncentracije kisika po času.

Hitrosti razkroja  $\text{H}_2\text{O}_2$  smo merili ob naslednjih pogojih:

- I. Segrevanje (brez katalizatorjev)
- II. Prisotnost manganovega dioksida
- III. Prisotnost katalaze (stala temperatura, različna koncentracija katalaze)
- IV. Prisotnost katalaze (različna temperatura, enaka koncentracija katalaze v vseh meritvah)

V. Prisotnost katalaze, različen pH



Slika1: preprosta aparatura za merjenje hitrosti razpada  $H_2O_2$ .



Slika2: Vernierjev vmesnik in merilc za koncentracijo kisika

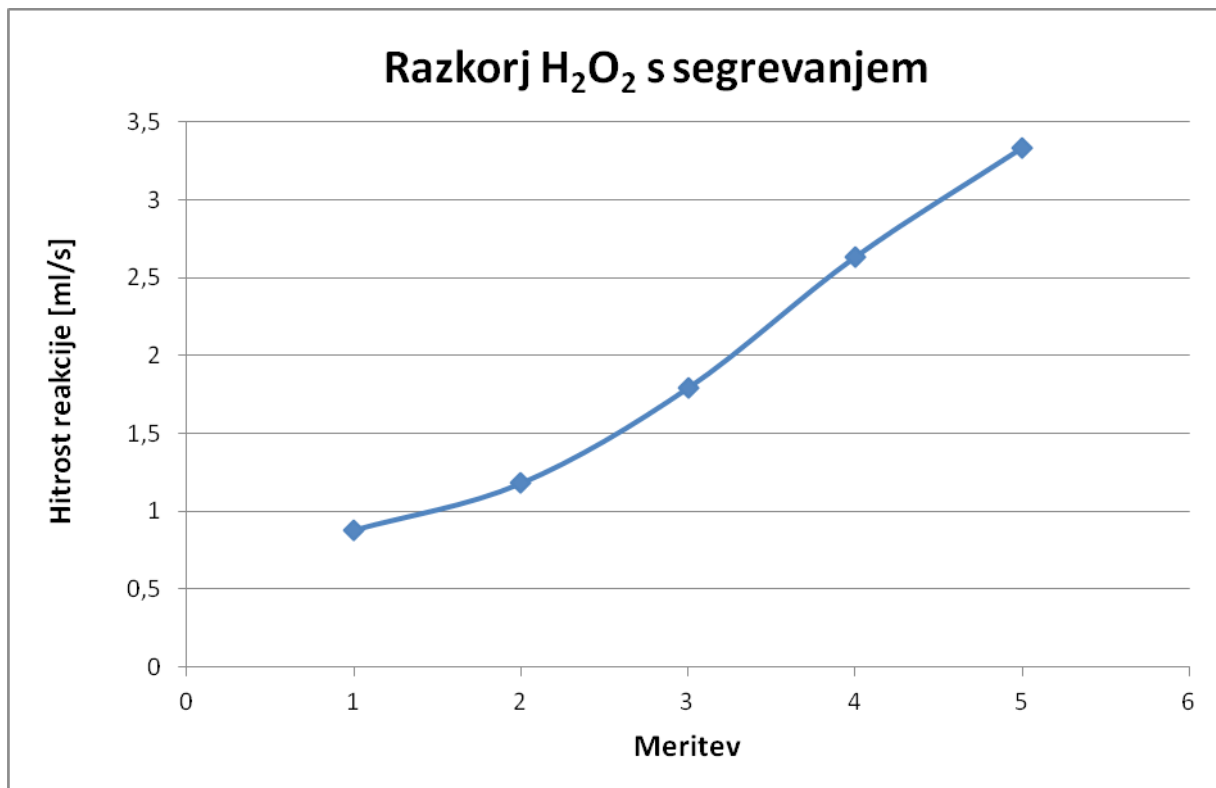
### 3. Rezultati

#### I. Razkorj $H_2O_2$ s segrevanjem, brez katalizatorjev

Pri segrevanju z  $H_2O_2$  z gorilnikom je kot pričakovano hitrost razpada naraščala. Rezultati te meritve so predstavljeni v tabeli 1 in na grafu 1.

Meritev	Hitrost reakcije [ml/s]
1	0,88
2	1,18
3	1,79
4	2,63
5	3,33

Tabela 1 : Razkorj  $H_2O_2$  s segrevanjem

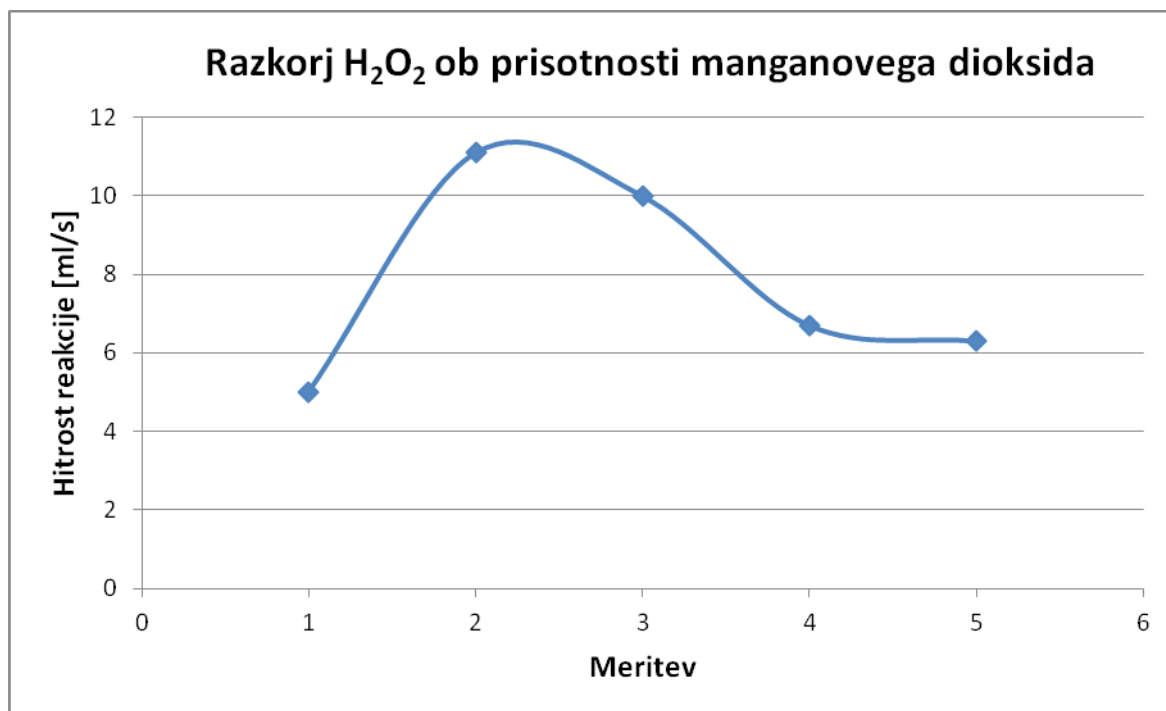


Graf 1: Razkorj  $H_2O_2$  s segrevanjem

## II. Razkorj $H_2O_2$ ob prisotnosti manganovega dioksida

Meritev	Hitrost reakcije [ml/s]
1	5,0
2	11,1
3	10,0
4	6,7
5	6,3

Tabela 2: Razkorj  $H_2O_2$  ob prisotnosti manganovega dioksida



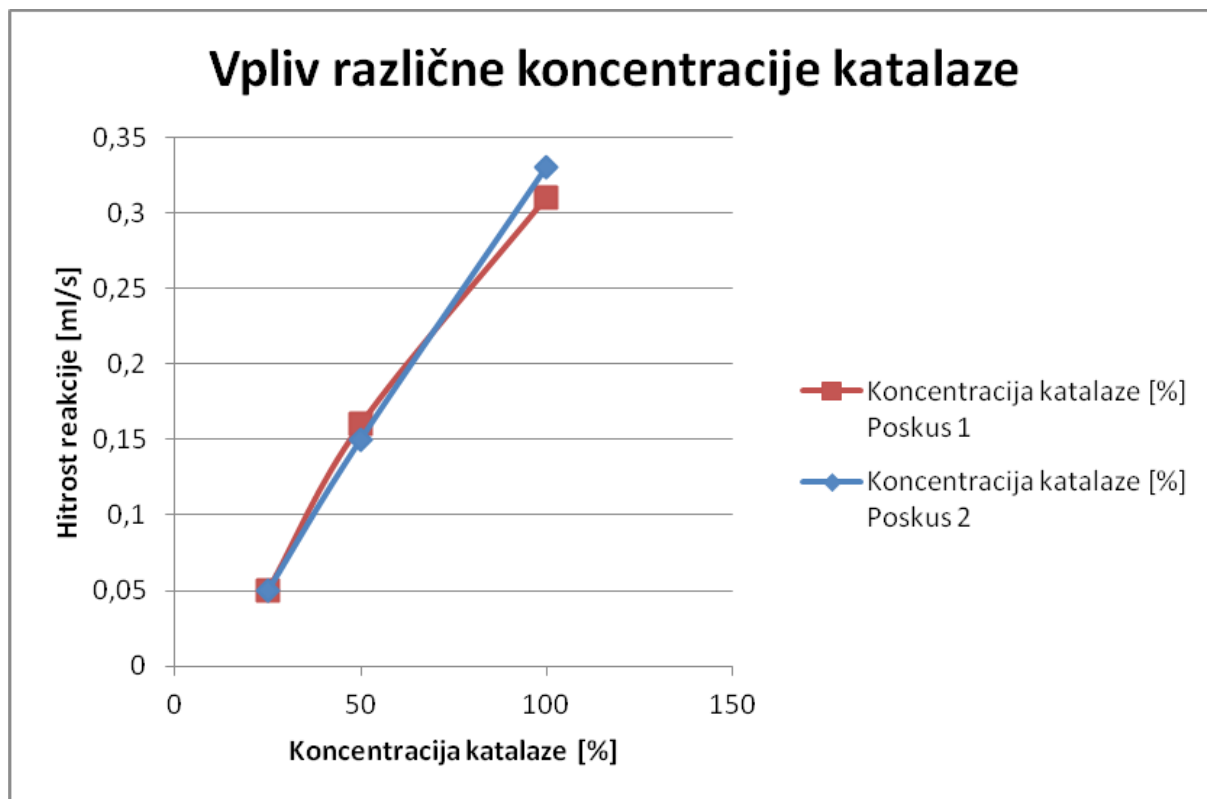
Graf 2: Razkorj  $H_2O_2$  ob prisotnosti manganovega dioksida

Ob prisotnosti manganovega dioksida razkorj poteka zelo hitro. Vrh doseže po koncu druge meritve, nato pa hitrost začne padati, saj že zmanjkuje substrata.

## III. Razkorj $H_2O_2$ ob prisotnosti katalaze (stala temperatura, različna koncentracija katalaze)

Koncentracija katalaze [%]	Hitrost reakcije [ml/s] Poskus 1	Hitrost reakcije [ml/s] Poskus 2
100	0,31	0,33
50	0,16	0,15
25	0,05	0,05

Tabela 3: Prisotnost katalaze (stala temperatura, različna koncentracija katalaze)

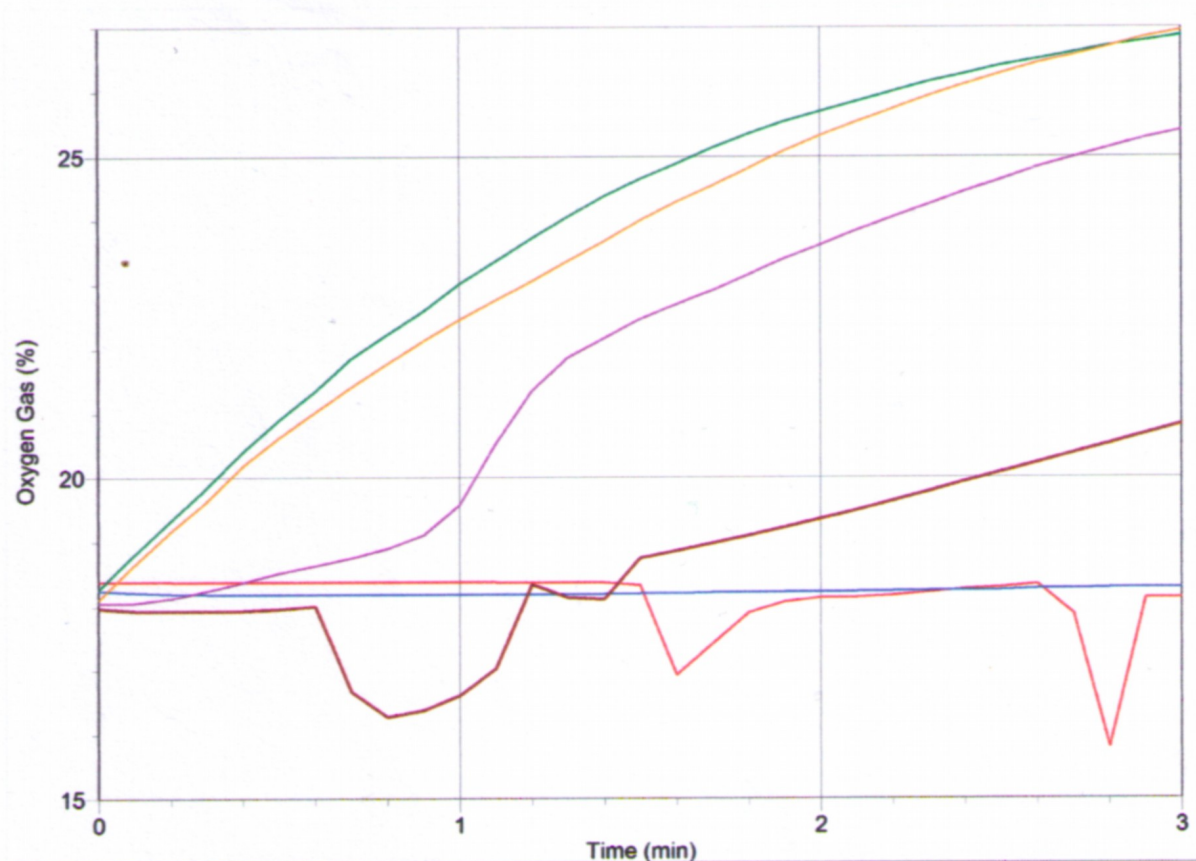


Graf 3: : Prisotnost katalaze (stala temperatura, različna koncentracija katalaze)

IV. Razkorj  $H_2O_2$  ob prisotnosti katalaze (različna temperatura, enaka koncentracija katalaze v vseh meritvah)

Meritev izvedena z Vernierjevimi vmesnikom.

**Odvisnost delovanja katalaze od temperature**



Graf 4: Odvisnost delovanja katalaze od temperature

**Legenda:**

- **svetlo rdeča – zračni kisik (~ 18% O<sub>2</sub>)**
- **modra – 60° C; 0,03%/min (18,25% - 18,29%)**
- **zelena – 40° C; 2,3%/min (18,27% - 26,87%)**
- **rumena – 30° C; 2,9%/min (18,11% - 26,95%)**
- **vijolična – 20° C; 2,9%/min (18,05% - 25,40%)**
- **temno rdeča – 0° C; 1,2%/min (17,98% - 20,83%)**

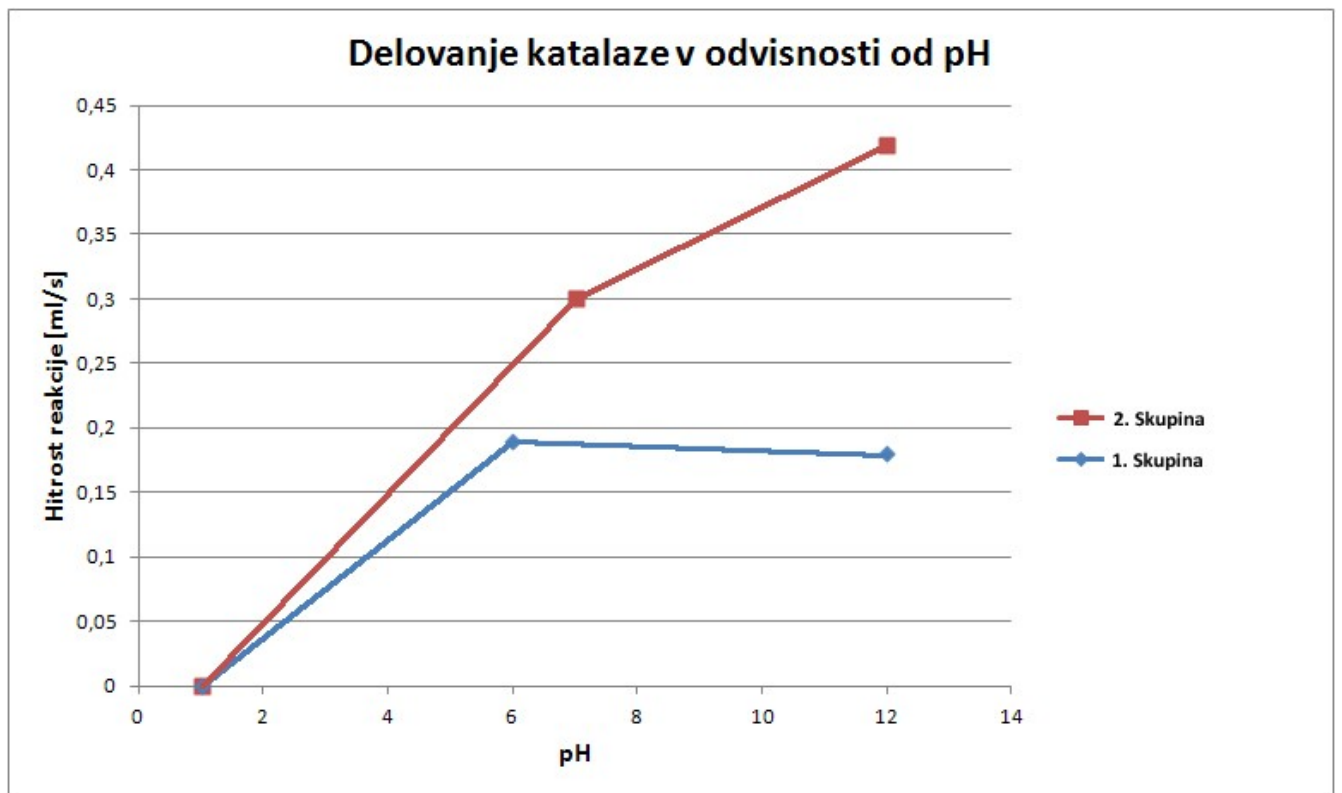
Svetlo rdeča krivulja predstavlja kontrolni poskus. Dela krivulje, kjer koncentracija kisika pada, sta nastala zaradi našega pihanja v Vernierjev vmesnik. Pri temno rdeči krivulji padva koncentracije kisika ne znamo pojasniti.



V. Prisotnost katalaze, različen pH

zmes	1. Skupina		2. Skupina	
	pH	Hitrost reakcije [ml/s]	pH	Hitrost reakcije [ml/s]
Kvasovke H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> natrijev hidroksid	12	0,18	12	0,42
Kvasovke H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	6	0,19	7	0,30
Kvasovke H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> klorovodikova kislina	1	/	1	/

Tabela 4: Prisotnost katalaze, različen pH



Graf 5: Odvisnost delovanja katalaze od pH

#### 4. Razprava

Vodikov peroksid pri povišani temperaturi sam razpada na vodo in kisik, njegov razkroj pa pospešimo z dodajanjem anorganskega katalizatorja (manganov dioksid) ali biokatalizatorja (katalaze).

Kot vir katalaze v poskusih smo uporabili kvasovke, nahaja pa se tudi v jetrih. Živa bitja encim katalazo vsebujejo, da se na ta način znebijo strupenega vodikovega peroksida.

Katalaza po naših meritvah najbolje deluje pri okoli 40°C. Če pogledamo v literaturo pa naj bi ta najbolje delovala pri 37°C. Kot pričakovano se z zmanjšanjem temperature hitrost reakcije upočasnjuje, s segrevanjem na 60°C ali več pa reakcija ne poteka več, saj encim katalaza denaturira. (Graf 4)

Če kot katalizator uporabimo manganov dioksid, ta tudi pri visokih temperaturah ne denaturira, ker ni beljakovina.

Predvidevamo, da imajo homeotermni organizmi encime, ki optimalno delujejo le na ozkem temperaturnem območju, polikilotermni organizmi pa encime ki niso posebej "specializirani" za delovanje pri določeni temperaturi.

Do rezultatov ki smo jih dobili pri merjenju odvisnosti hitrosti reakcije od pH sem zelo skeptičen. Katalaza deluje v telesnih celicah kjer je pH običajno približno 7, zato bi pričakovali, da bo pri tem pH delovanje katalaze optimalno. Naše meritve se s to hipotezo ne ujemajo. Razlog je vrjetno v naši napaki. (Graf 5)

Pri povečani koncentraciji encima je bila hitrost reakcije (kot pričakovano) večja.

Encim se pri reakcijah ne porablja. Če bi po končanih reakcijah iz epruvete odstranili kvasovke bi v epruveti ostala le voda in katalaza.

Vodikov peroksid razpade na vodo in kisik ki je v plinasti dvoatomarni obliki, dokazali smo ga z tlečo trsko.

Pri katalazi nebeljakovinski del predstavlja hem (štiri pirolovi obroči in atom železa). Hem najdemo tudi v hemoglobinu in mioglobinu.

## 5. Zaključki

### Bistvene ugotovitve

- Razkroj  $\text{H}_2\text{O}_2$  najhitreje poteka ob prisotnosti  $\text{MnO}_2$ , nekoliko počasneje ob prisotnosti katalaze in najpočasneje brez katalizatorja (le s segrevanjem).
- Ob večji količini dodanega encima je razkroj hitrejši
- Katalaza najbolje deluje pri  $37^\circ\text{C}$ , pri temperaturah višjih od  $60^\circ\text{C}$  pa denaturira.  $\text{MnO}_2$  ne denaturira.
- Katalaza po naši meritvah najbolje deluje v bazičem in nevtralem okolju.
- Katalaza se pri reakciji ne spremeni
- Delovanje katalizatorjev povečamo tudi s tem da jih dodamo v obliki čim manjših koščkov.

Ugotavljam da smo dosegli vse cije vaje, razen pri meritvah kjer smo spreminjali pH.