



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávací materiál vytvořený v projektu OP VK

Název školy:	Gymnázium, Zábřeh, náměstí Osvobození 20
Číslo projektu:	CZ.1.07/1.5.00/34.0211
Název projektu:	Zlepšení podmínek pro výuku na gymnáziu
Číslo a název klíčové aktivity:	III/2 - Inovace a zkvalitnění výuky prostřednictvím ICT

Anotace

Název tematické oblasti:	Soubor návodu do laboratorních cvičení (PCh)
Název učebního materiálu:	Biokatalyzátory – enzymy
Číslo učebního materiálu:	VY_32_INOVACE_Ch0120
Vyučovací předmět:	Praktikum z chemie
Ročník:	3. ročník čtyřletého gymnázia septima osmiletého gymnázia
Autor:	Zbyněk Vlček
Datum vytvoření:	30.4.2013
Datum ověření ve výuce:	5.6.2013
Druh učebního materiálu:	Pracovní list
Očekávaný výstup:	Pracovní list slouží v první řadě jako návod pro činnost žáků v laboratorním cvičení. Dále žáci využijí pracovní list pro vypracování protokolu z laboratorního cvičení. V závěru protokolu žáci odpovědí na otázky, které jsou uvedené v pracovním listu. Protokol odevzdají učiteli v elektronické podobě (ve formátu pdf).
Metodické poznámky:	Časově náročné laboratorní cvičení, při kterém žáci pracují ve dvojicích. Reakci s octanem olovnatým ruší vznik černé sraženiny (reakce siriých aminokyselin).

Laboratorní cvičení 20

Téma: Biokatalyzátory – enzymy

1. Vliv činitelů na aktivitu sacharasy

Princip úlohy:

Vysvětlete pojem aktivita enzymů; uveďte činitele, kteří aktivitu enzymů ovlivňují.

Postup:

a) vliv koncentrace enzymu na aktivitu sacharasy

Do čtyř očíslovaných zkumavek připravte směs roztoku sacharasy (2 cm^3 , $w = 2\%$) a pufru (ústožného roztoku) o $\text{pH} = 4,5$ (1 cm^3). V rychlém sledu do zkumavek odměřte

č. 1: 1 cm^3 roztoku enzymu,

č. 2: $0,5 \text{ cm}^3$ roztoku enzymu a $0,5 \text{ cm}^3$ destilované vody,

č. 3: $0,1 \text{ cm}^3$ roztoku enzymu a $0,9 \text{ cm}^3$ destilované vody,

č. 4: $0,05 \text{ cm}^3$ (1 kapka) roztoku enzymu a 1 cm^3 destilované vody.

Směs ve zkumavkách protřepte a zkumavky vložte do vodní lázně o teplotě 37°C .

b) vliv reakční teploty na aktivitu sacharasy

Do čtyř očíslovaných zkumavek připravte směs roztoku sacharasy (2 cm^3 , $w = 2\%$) a pufru o $\text{pH} = 4,5$ (1 cm^3). Zkumavku

č. 1 vložte do kádinky se studenou vodou nebo do kádinky s vodou a ledem (teplotu doplňte do tabulky),

č. 2 ponechte za laboratorní teploty (teplotu doplňte do tabulky),

č. 3 vložte do vodní lázně o teplotě 37°C ,

č. 4 vložte do vodní lázně o teplotě 60°C .

V rychlém sledu do zkumavek odměřte po 1 cm^3 roztoku enzymu a směsi ve zkumavkách protřepte.

c) vliv pH reakční směsi na aktivitu sacharasy

Do čtyř očíslovaných zkumavek připravte roztoku sacharasy (2 cm^3 , $w = 2\%$). Do zkumavek přidejte po 1 cm^3 pufru:

č. 1 o $\text{pH} = 4,0$, č. 2 o $\text{pH} = 4,5$, č. 3 o $\text{pH} = 6,0$, č. 4 o $\text{pH} = 8,0$.

V rychlém sledu do zkumavek odměřte po 1 cm^3 roztoku enzymu, směsi ve zkumavkách protřepte a zkumavky vložte do vodní lázně o teplotě 37°C .

d) vliv některých látek na aktivitu sacharasy

Do čtyř očíslovaných zkumavek připravte směs roztoku sacharasy (2 cm^3 , $w = 2\%$) a pufru o $\text{pH} = 4,5$ (1 cm^3). Dále přidejte do zkumavky

č. 1 destilovanou vodu (2 cm^3), zkumavka slouží jako srovnávací (referenční) vzorek,

č. 2 roztok NaCl (2 cm^3 , $w = 0,9\%$),

č. 3 roztok KSCN (2 cm^3 , $c = 0,2 \text{ M}$),

č. 4 roztok $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$ (2 cm^3 , $w = 5\%$). Roztoky odměřujte odměrnou zkumavkou.

Do všech zkumavek odměřte 1 cm^3 roztoku enzymu, směsi ve zkumavkách protřepte a zkumavky vložte do vodní lázně o teplotě 37°C .

Před každým odměřením směsi, která obsahuje sacharasu, tuto směs protřepte.

Závěr všech pokusů provádějte vždy stejně. Po uplynutí 30 minut od začátku pokusu do všech zkumavek s reakční směsí přidejte roztok NaOH (1 cm³, w = 10 %) a Fehlingovo činidlo (4 cm³). Směsi promíchejte protřepáním a zkumavky vložte do kádinky s vroucí vodou.

V průběhu 5 až 10 minut sledujte, zda ve zkumavkách dochází k pozitivní reakci s Fehlingovým činidlem. Podle rychlosti barevných změn Fehlingova činidla, intenzity zabarvení nebo podle množství vyloučeného Cu₂O porovnejte účinnost enzymu za různých podmínek v jednotlivých zkumavkách.

Roztok enzymu sacharasy připravíte tak, že ve třetí misce jemně roztíráte směs 12 g čerstvých kvasnic, 10 cm³ destilované vody a 5 g křemenného písku. Po 5 minutách přidáte 20 cm³ destilované vody, směs rozetřete a zfiltrujete přes jemné plátno nebo přes smotek vaty.

Pufry připravte smícháním roztoků uvedených v tabulce:

hodnota pH pufru	4,0	4,5	6,0	8,0
0,2 M roztok hydrogenfosforečnanu sodného (cm ³)	7,7	9,1	12,6	19,4
0,1 M roztok kyseliny citronové (cm ³)	12,3	10,9	7,4	0,6

Úkoly do závěru:

1) Výsledky pokusů uveďte v tabulce

reakční podmínky	pokus číslo			
	1	2	3	4
množství enzymu ve směsi (cm ³)	1,00	0,50	0,10	0,05
průběh reakce *)				
teplota reakční směsi (°C)			37	60
průběh reakce *)				
pH reakční směsi	4,0	4,5	6,0	8,0
průběh reakce *)				
přítomnost jiné látky	H ₂ O	NaCl	KSCN	(CH ₃ COO) ₂ Pb
průběh reakce *)				

*) Průběh reakce vyjádřete symboly:

- reakce neprobíhá,
- + reakce probíhá v sérii nejmenší rychlostí,
- ++ reakce probíhá v sérii střední rychlostí,
- +++ reakce probíhá v sérii největší rychlostí nebo ++++ pokud probíhají všechny reakce.

2) Které látky vznikají působením sacharasy na sacharosu? Do které skupiny látek tyto produkty patří?

3) Na základě výsledků pokusů vysvětlete:

- a) Jak závisí rychlost enzymové reakce na koncentraci enzymu v reakční směsi?
- b) Jaká je optimální teplota pro činnost sacharasy?
- c) Při které hodnotě pH má sacharasa největší aktivitu?
- d) Které ze zkoumaných látek aktivují činnost sacharasy a které jsou jejími inhibitory?

2. Důkaz specifického účinku sacharasy a amylasy (ze slin)

Princip úlohy:

Vysvětlíte pojem substrátová specifita enzymů.

Postup:

Do šesti očíslovaných zkumavek odměřte jednotlivé výchozí látky podle údajů uvedených v tabulce v závěru úkol č. 4.

Objemy jednotlivých roztoků odměřujte jednotlivými nebo dobře vymytými odměrnými nádobami, aby nedošlo k jejich vzájemnému znečištění!

Zkumavky vložte do vodní lázně a její teplotu udržujte na hodnotě 37°C.

Po uplynutí 30 minut zkumavky z vodní lázně vyndejte. Do zkumavek přidejte

- Fehlingovo činidlo (4 cm³) - zkumavky č. 1, 3, 4, 5 a 6,

- jednu kapku Lugolova roztoku - zkumavka č. 2.

Zaznamenejte, ve které zkumavce je reakce pozitivní a ve které negativní.

Roztok enzymu sacharasy připravíte tak, že ve třecí misce jemně roztíráte směs 4 g čerstvých kvasnic, 5 cm³ destilované vody a 2 g křemenného písku. Po 5 minutách přidáte 5 cm³ destilované vody, směs rozetřete a zfiltrujete přes jemné plátno nebo přes smotek vaty.

Roztok amylasy připravíte tak, že si ústa vypláchnete asi 20 cm³ destilované vody, pak si dáte do úst 6 cm³ destilované vody, 1 minutu ji v ústech podržíte (za občasného „promíchání“) a vypustíte ji do čisté kádinky. Objem roztoku amylasy upravte přidáním destilované vody na minimální objem 6 cm³ (viz tabulka).

Suspenzi celulosy připravíte tak, že na jemno rozetřete ve třecí misce 0,1 g na malé kousky roztrhaného filtračního papíru s 5 cm³ destilované vody.

Úkoly do závěru:

- 1) Podle typu katalyzované reakce se dělí enzymy do šesti hlavních tříd. Do které z těchto tříd patří sacharasa a do které amylasa?
- 2) Jak se provádí důkaz sacharidů Fehlingovým činidlem? Které sacharidy s tímto činidlem obecně reagují?
- 3) Která látka vzniká jako konečný produkt působením amylasy ze slin na škrob? Do které skupiny látek patří?
- 4) Výsledky pokusů uveďte v tabulce

zkumavka číslo	škrob w = 2% (cm ³)	sacharosa w = 2% (cm ³)	celulosa suspenze (cm ³)	amylasa roztok (cm ³)	sacharasa roztok (cm ³)	reakce s *)	
						Fehlingovo činidlo	Lugolův roztok
1	2	--	--	2	--		
2	2	--	--	--	2		
3	--	2	--	2	--		
4	--	2	--	--	2		
5	--	--	2	2	--		
6	--	--	2	--	2		

*) Průběh reakce vyjádřete symboly: - reakce neprobíhá, + reakce probíhá.

- 5) Které závěry o specifitě sacharasy a amylasy z tabulky vyplývají?

Citace:

ČÁRSKY, J.; KOPŘIVA, J.; KRIŠTOFOVÁ, V.; PECHÁŇ, I. *Chemie pro III. ročník gymnázií*. 2. vyd. Praha : SPN, 1990. ISBN 80-04-24922-1. s. 226 - 228

BENEŠ, P.; ČIPERA, J.; HOLADA, K.; POSPÍŠIL, J.; VELIKANIČ, A. *Cvičení z chemie pro III. ročník gymnázií*. 1. vyd. Praha : SPN, 1986. s. 58 - 66