**PRACTICA 5H, THEMA 1, Stofwisseling.**

Bij dit thema is het volgende practicum mogelijk:

• 1 lesuur. Practicum katalase.

• 1 lesuur. Practicum Papierchromatografie.

**Het enzym katalase.**

**Inleiding:**

Katalase is een enzym dat waterstofperoxide afbreekt. H202 (waterstofperoxide) is een stof die in organismen wordt gevormd bij de eiwitstofwisseling en chemisch zeer actief is. Indien de stof niet direct zou worden afgebroken zou het beschadigingen kunnen aanrichten. In het organisme komt dan ook een enzym voor dat H202 afbreekt tot water (H20) en zuurstof (02).

Dit enzym heet katalase. Het is afkomstig uit aardappelcellen. Wanneer het enzym katalase werkt komt er zuurstof vrij, die als schuim in een reageerbuis te zien is. Je kunt aan de hoogte van de schuimkraag zien hoe de werking van het enzym is. Hoe hoger de schuimkraag, des te beter werkt het enzym katalase.

**PROEF 1: De werking van het enzym katalase.**

1. Pipeteer in buis 1, 2 ml water.

2. Pipeteer in buis 2, 2 ml katalase-oplossing.

3. Pipeteer nu in beide reageerbuizen 3 ml H202.

4. Wacht drie minuten en bekijk wat er gebeurt.

5. Vul het resultaat in in tabel 1 (van je antwoordblad), waarbij de reactie-sterkte

 kan worden aangegeven in de hoogte van de schuimvorming in cm.

**Vul de tabel in en beantwoord de vragen behorende bij proef 1 op je antwoordenblad.**

**PROEF 2: De enzymactiviteit bij verschillende temperaturen**

1. Pipeteer in reageerbuis 1 t/m 3, elk 2 ml katalase.

2. Zet buis 1 in ijswater (5°C).

3. Zet buis 2 in het waterbad van (37 °C).

4. Zet buis 3in het waterbad van (85 °C).

5. Laat de buizen 2 minuten op temperatuur komen.

6. Neem de buizen mee naar je plaats en pipeteer dan in elke buis **3** ml H202 en wacht drie minuten.

7. Vul het resultaat in in tabel 2 (van je antwoordblad), waarbij de reactie-sterkte wordt aangegeven

 in de hoogte van de schuimvorming in cm.

**Vul de tabel in en beantwoord de vragen behorende bij proef 1 op je antwoordenblad.**

**PROEF 3: De enzymactiviteit bij verschillende pH-waarden**

1. Pipeteer in reageerbuis 1 t/ m 3, elk met 2 ml katalase.

2. Voeg in buis 1, 6 druppels buffer pH 4 toe (zuur milieu).

3. Voeg in buis 2, 6 druppels buffer pH 7 toe (neutraal milieu).

4. Voeg in buis 3, 6 druppels buffer pH 9 toe (basisch milieu).

5. laat de buizen 2 minuten reageren met de buffer.

6. Pipeteer dan in elke buis 3ml H202 en wacht drie minuten.

7. Vul het resultaat in in tabel 3 (van je antwoordblad), waarbij de reactie-sterkte wordt aangegeven

 in de hoogte van de schuimvorming in cm.

**Vul de tabel in en beantwoord de vragen behorende bij proef 1 op je antwoordenblad.**

**PROEF 4: Katalase in verschillend vers organisch en anorganisch materiaal.**

1. Er liggen 5 materialen op schalen klaar. Aardappel, biefstuk, lever steentjes en sla.
2. Doe van elk materiaal een klein beetje in een reageerbuis.
3. Voeg nu 3 ml H202 toe en wacht drie minuten.
4. Vul het resultaat in in tabel 4 (van je antwoordblad), waarbij de reactie-sterkte wordt aangegeven de hoogte van de schuimvorming in cm.

**Vul de tabel in en beantwoord de vragen behorende bij proef 1 op je antwoordenblad.**

**Antwoordenblad practicum katalase.**

**PROEF 1: De werking van het enzym katalase.**

Tabel 1: Resultaat proef 1.

|  |  |
| --- | --- |
| Buis: | Reactieintensiteit (cm schuimvorming) |
| 1. (+ water) |  |
| 2. (+ katalase) |  |

**Beantwoord de vragen behorende bij proef 1:**

1.1. Welke buis is de blanco-proef? …………………………………………………

1.2. Welke stof zorgt ervoor dat schuim ontstaat? ….……………………………..

**PROEF 2: De enzymactiviteit bij verschillende temperaturen.**

Tabel 2: Resultaat proef 2.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Buis nr: | Temperatuur in °C. | Reactieintensiteit (cm schuimvorming) |
| 1. | 4 |  |
| 2.  | 35 |  |
| 3.  | 85 |  |

**Beantwoord de vragen behorende bij proef 2:**

2.1. Bij welke buis(zen) is er H202 omgezet? ………………………………………….

2.2. Bij welke buis(zen) is er geen H202 omgezet? ……………………….……………

2.3. Bij welke temperatuur werkt het enzym het beste? ……………..………………

2.4. Bij welke temperatuur werkt het enzym niet? …………………………………….

2.5. Waarom werkt het enzym het beste bij lage temperaturen? ..........................................................

................................................................................................................................................................

2.6. Waarom werkt het enzym niet bij hoge temperaturen? …………………………………………………

 ………………………………………………………………………………………………………………….

2.7. Kun je iets zeggen over de optimumtemperatuur van het enzym katalase? …………………………

**PROEF 3: De enzymactiviteit bij verschillende pH-waarden.**

Tabel 3: Resultaat proef 3.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Buis nr. | pH | Reactieintensiteit (cm schuimvorming) |
| 1. | 4 |  |
| 2.  | 7 |  |
| 3.  | 9 |  |

**Beantwoord de vragen behorende bij proef 3:**

3.1. Bij welke buis(zen) is er H202 omgezet? ………………………………………………………………….

3.2 Bij welke buis(zen) is er geen H202 omgezet? ………………………………………….………………..

3.3. Bij welke pH werkt het enzym het beste? ………………………………………………..………………

3.4. Bij welke pH werkt het enzym minder of niet? ..…………………………………….……………………

3.5. Waarom werkt het enzym minder of niet bij hoge of een lage pH? ...............................................

 …………………………………………………………………………………………….……………………

3.6. Kun je iets zeggen over de optimum-pH van het enzym katalase? ……………………………………

**PROEF 4: Katalase in verschillend vers organisch en anorganisch materiaal.**

Tabel 4: Resultaat proef 4.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Buis nr. | materiaal | Reactieintensiteit (cm schuimvorming) |
| 1. |  |  |
| 2. |  |  |
| 3. |  |  |
| 4.  |  |  |
| 5.  |  |  |

**Beantwoord de vragen behorende bij proef 4:**

3.1. Bij welke buis(zen) is er H202 omgezet? ……………………………………….

3.2 Bij welke buis(zen) is er geen H202 omgezet? ………………………………..

3.3. Bij welke materiaal werkt het enzym het beste en waarom? ……………………..………………

………………………………………………………………………………………………………………..

3.4. Welke conclusie kun je trekken uit deze proef? …………………………………………………..

**PRACTICA Papierchromatografie.**

**Tijdsduur: 50** min.

**Basisstof:** Opdracht 1 en 2, blz. 122.

**Uitvoering:** Leerlingen werken in groepen van twee.

**Benodigdheden per groep:** • reageerbuis met houder

 • kurk met schuifbaar haakje

 • strook chromatografiepapier

 • 2 potloden

 • glasstaaf

 • schaar

 • mortier met stamper en zand

 • aceton

 • loopvloeistof (8% aceton, 92% petroleumether)

**Werkwijze:** zie werkblad.

Het scheiden van bladpigmenten met

papierchromatografie.

**Benodigdheden per groep:** • reageerbuis met houder

 • kurk met schuifbaar haakje

 • strook chromatografiepapier

 • 2 potloden

 • glasstaaf

 • schaar

 • mortier met stamper en zand

 • aceton

 • loopvloeistof (8% aceton, 92% petroleumether)

**Uitvoering practicum:**

Je werkt in groepen van twee. Iedereen maakt een chromatogram.



De bedoeling van deze proef is aan te tonen dat er in bladgroen ver­schillende soor­ten kleurstoffen voor­komen.

Per twee leerlingen krijgen jullie de hier­naast afgebeelde opstelling, bestaand uit; een reageerbuis vast­gezet in een hou­der, een glasstaaf en een kurk met een haakje. Hieraan wordt het chromato­grafiepapier gehan­gen.

**BELANGRIJK! Pak het chromatografie­papier alleen bij het gaatje aan de bovenkant vast, omdat er anders een verstoring van het transport van de loopvloeistof zal plaatsvinden.**

In een mortier worden nu enkele ver­knipte bla­deren met een stamper flink fijngemalen. Voeg een beetje zand toe en telkens een klein scheutje aceton. Hier­door los­sen de kleur­stoffen in de bla­dcellen op.

 Voeg zoveel aceton toe, dat er onderin het mortier een kleine hoeveelheid ontstaat met opgeloste kleurstoffen. Na deze voor­berei­dingen begint men met het maken van een chromatogram.

Leg het strookje chromatografiepapier zo op de twee potloden dat het de tafel niet raakt en de inkepingen vrij liggen. Breng nu met een glas­staaf een klein druppeltje bladgroen aanaan aan tussen de inkepingen.

Wacht tot de druppel opgedroogd is. Voeg dan een nieuwe druppel toe. Doe dit een dergelijk 15 maal. Maak meteen twee papiertjes klaar!

Als de laatste druppel is aangebracht, vult men de reageerbuis met ± 1,5 cm loopvloeistof (petrolieumether - acteton). Nu laat men m.b.v. het haakje het papiertje in de loopvloeistof zakken.

LET OP! De strook mag de rand van de reageerbuis niet raken en zorg ervoor dat de aangebrachte kleurstof niet rechtstreeks in de loopvloeistof komt.

Nu begint de loopvloeistof te stijgen. Wacht totdat de loopvloei­stof een centimeter onder het haakje is gekomen. Haal nu de strook eruit en geef met potlood op de strook de hoogte van verschillende kleurstoffen aan en de hoogte van de loopvloeistof.

Laat de strook daarna drogen. Trek met potlood of pen de begren­zingen van de verschillende lagen over. Deze i.v.m. verdwijnen van de kleuren door invloed van licht.

Plak nu je chromatogram in het kader op de achterkant van je stencil.

**Vragen behorende bij het papierchromatografiepracticum:**

Welke kleurstoffen zijn er nu zichtbaar? Dit wordt bepaald aan de hand van de R**ƒ**-waarde van de kleurstof. Deze waarde kan men dan vergelijken met de waarden in de Binas. Deze zijn in tabel 1 weegegeven.

 Hoogte kleurstofniveau

Wat is de R**ƒ**-waarde? R**ƒ** = -------------------------------

 Hoogte loopvloeistof

Tabel 1. Rƒ-waarden van bladpigmenten. Relatieve meeloopsnelheden in loopvloeistof petrolieumether 92% aceton 8%.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **pigment:** | **Rƒ-waarde:** | **Rƒ-waarde eigen chromatogram:** |
| β - caroteen | 0,98 |  |
| α - caroteen | 0,78 |  |
| luteïne (bladxanthofyl) | 0,69 |  |
| violaxanthol | 0,53 |  |
| chlorofyl-a | 0,38 |  |
| chlorofyl-b | 0,21 |  |
| andere pigmenten | 0,00 |  |

1. Hoeveel kleurbanden kunnen op het chromatografiepapier onder­scheiden worden?

 ...........................................................................................................................

2. Bepaal van de gevonden kleurstoffen de R¦-waarden, zet deze in tabel 1

 en vergelijk deze met de Rƒ- waarden van tabel 1.

3. Hoeveel kleurstoffen daarvan zijn chlorofyl?

 .........................................................................................................................

4. Welke andere kleurstoffen zijn er in het chromatogram zicht­baar?

 .........................................................................................................................

5. Waarom kunnen we die niet zien in het intacte blad?

 .........................................................................................................................

6. Hoe weet je, of alle kleurstoffen in het gebruikte oplosmiddel konden oplossen?

 ...........................................................................................................................

7. In welk kenmerk verschillen de kleurstoffen in het blad?

 .........................................................................................................................