**Les 1. Het enzym katalase 5VWO**

**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 cellen en weefsel. In de meeste weefsels komt dan ook een enzym voor dat H202 afbreekt tot water (H20) en zuurstof (02). Dit enzym heet katalase.

Katalase is in grote hoeveelheid te vinden in de lever, maar is ook te vinden in plantaardig weefsel zoals aardappel.

De enzymactiviteit van katalase zichtbaar maken.

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 enzymactiviteit 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 aardappelsuspensie (fijngemalen aardappelweefsel).

3. Pipeteer nu in beide reageerbuizen 3 ml H202.

4. Wacht drie minuten en bekijk wat er gebeurt.

5. Vul het resultaat in tabel 1 in, waarbij de reactie-intensiteit

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

Tabel 1: Resultaat proef 1.

|  |  |
| --- | --- |
| Buis: | Enzymactiviteit (cm schuimvorming) |
| 1. (+ water) |  |
| 2. (+ aardappelsuspensie) |  |

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

Welke buis is de controle-proef? …………………………………………………………………………

Welke variabelen probeer je gelijk te houden?..................................................................................

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

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

Wat is in deze proef het substraat van het enzym? ….…………………………………………………..

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

1. Pipeteer in reageerbuis 1 t/m 4, elk 2 ml aardappelsuspensie

2. Piperteer in 4 andere buizen 4 ml H202

2. Zet buis 1 in ijswater ( ± 5°C)

3. Laat buis 2 bij kamertemperatuur ( ± 20°C) staan

3. Zet buis 3 en 4 in het waterbad van respectievelijk ± 37 °C en ± 85 °C

5. Zet de buizen met de 4 ml H202 ook in de waterbaden om op temperatuur te komen

5. Laat alle buizen 3 minuten op temperatuur komen

**Schrijf ondertussen een onderzoeksvraag die past bij deze proef** (wat is in de onderzoeksvraag de (on)afhankelijke variabele?). **En geef de hypothese**

6. Neem de buizen mee naar je plaats en voeg dan de H202 bij de buizen met aardappelsuspensie en wacht drie minuten.

7. Vul de resultaten in tabel 2, waarbij de reactie-intensiteit wordt aangegeven

in de hoogte van de schuimvorming in cm.

Onderzoeksvraag:

………………………………………………………………………………………………………………………

………………………………………………………………………………………………………………………

Onafhankelijke variabele………………………. …………………………………………………………………

Afhankelijke variabele……………………………………………………………………………………………..

Hypothese:

………………………………………………………………………………………………………………………

………………………………………………………………………………………………………………………

………………………………………………………………………………………………………………………

Tabel 2: Resultaat proef 2.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Buis nr: | Temperatuur in °C. | Enzymactiviteit (cm schuimvorming) |
| 1. | 5 |  |
| 2. | 20 |  |
| 3. | 37 |  |
| 4. | 85 |  |

Maak in het onderstaande vak een grafiek van je resultaat. Denk aan titel grafiek, grootheden/eenheden X-as en Y-as (afhankelijke en onafhankelijke variabelen op de goede as). Etc.

Titel: …………………………………………………………………………………………………….

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

Conclusie:

………………………………………………………………………………………………………………………

………………………………………………………………………………………………………………………

Discussie: Denk je dat de resultaten een betrouwbaar en valide antwoord geven op de onderzoeksvraag?

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

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

Welke werkwijze zou een verbetering kunnen zijn van de proef?

Verbeteringen zijn:

Betrouwbaarheid:…………………………………………………………………………………………………..

………………………………………………………………………………………………………………………

Validiteit: ………………………………………………………………………………………………………….

………………………………………………………………………………………………………………………

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

**Les 2 De enzymactiviteit bij verschillende pH-waarden**

**Doel:**

Onderzoeken wat de optimum pH is voor de werking van het enzym katalase uit aardappels. De gevonden optimum pH gebruiken we als controle pH bij het volgende practicum.

1. Vraagstelling:   
  
…………………………………………………………………………………………………………………  
  
…………………………………………………………………………………………………………………  
  
2. Hypothese:

…………………………………………………………………………………………………………………  
  
…………………………………………………………………………………………………………………

Methode:

1. Neem het rek met de reageerbuizen met de reeks van oplopende pH’s (1,5 ml bufferoplossing met pH 2.8, 4.4, 6.0, 7.6, 9.2 en 12.8)
2. Pipeteer 2 ml aardappelsuspensie bij elke buis
3. Meng door te “kwispelen” en laat dit precies 5 minuten staan. Waarom?

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

1. Voeg na deze 5 minuten 3 ml H2O2 toe. “kwispel” de buis zodat de inhoud goed gemengd wordt.
2. Meet na exact 5 minuten de hoogte van de schuimlaag in de buizen. Meet alleen fijne belletjes, grote schuimbellen worden niet gemeten.
3. Maak een tabel van de zuurtegraad en de hoogte van de schuimlaag (denk ook aan een tabeltitel en eenheden).
4. Zet de activiteit van het enzym uit tegen de pH in een grafiek (benoem de assen op de juiste manier en denk aan een grafiektitel).
5. Bepaal uit de grafiek de optimum pH voor het enzym katalase uit aardappel.
6. Welke conclusies kun je trekken over de enzymactiviteit bij hele hoge en hele lage pH’s voor dit enzym ?

Tabel 3: Resultaat proef 3.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Buis nr. | pH | Reactie-intensiteit (cm schuimvorming) |
| 1 | 2,8 |  |
| 2 | 4,4 |  |
| 3 | 6,0 |  |
| 4 | 7,6 |  |
| 5 | 9,2 |  |
| 6 | 12,8 |  |

Maak in het onderstaande vak een grafiek van je resultaat. Denk aan titel grafiek, X-as en Y-as.

Titel: …………………………………………………………………………………………………….

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

Conclusies:

………………………………………………………………………………………………………………………

………………………………………………………………………………………………………………………

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

**Les 3 Proef 4. Onderzoeken of denaturatie door pH reversibel is**

**Inleiding:**

In je biologieboek (biologie voor jou 5B) staat op bladzijde 20 het volgende:

***INVLOED VAN DE PH***

*Een oplossing die veel H+-ionen bevat, is zuur. De pH (zuurgraad) is dan lager dan 7. Een oplossing die heel weinig H+-ionen bevat, is basisch. De pH is dan hoger dan 7.*

*De activiteit van een enzym is afhankelijk van de pH van de oplossing waarin de omzetting plaats vindt. De ruimtelijke structuur van een enzymmolecuul blijft intact bij een bepaalde zuurgraad: het optimum. Verhoging of verlaging van de pH heeft tot gevolg dat bij steeds meer enzymmoleculen het actieve centrum verandert, waardoor het enzym zijn werking verliest****. Deze verandering is reversibel (omkeerbaar): bij de optimale pH krijgt het enzym de passende structuur weer terug.***

Maar is dit wel zo? Als je een enzym of eiwit kookt is deze reactie irreversibel (denk maar aan het koken van een ei, deze wordt niet weer vloeibaar als het afkoelt naar een temperatuur van 37°C). Gebeurt bij een hele hoge of hele lage pH niet precies hetzelfde als bij het verhitten van een eiwit/enzym? Dit gaan we onderzoeken.

Jullie ontwerpen een eigen experiment om te onderzoeken of de verandering van een enzym door hele hoge of hele lage pH-waarden inderdaad reversibel is.

**Doel:**

In de vorige les heb je onderzocht bij welke pH katalase uit aardappel het meest optimaal werkt. Je hebt ook conclusies kunnen trekken over de activiteit bij hele hoge en hele lage pH’s.

Deze les ga je zelf een onderzoek opzetten om te bepalen of de in-activatie van het enzym door een hele hoge of hele lage zuurgraad reversibel is.

**Onderzoeksvraag**

Bedenk zelf een onderzoeksvraag voor dit experiment.

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

**Hypothese**

Bedenk zelf een hypothese voor dit experiment

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

**TIP!**

Om je een beetje te sturen staan hieronder de materialen die je **kunt** (dus niet **moet**) gebruiken. Uiteraard kun je in overleg met de TOA of docent ook aanvullende materialen gebruiken.

- Reageerbuisrek met 3 reageerbuizen

- aardappel suspensie met pipetje

- 3% H2O2

- Buffer oplossingen (1,5 ml) met de pH’s 2.8, 4.4, 6.0, 7.6, 9.2 en 12.8

- Druppelflesje 1M NaOH

- Druppelflesje 1M HCl

- Indicator BroomThymolBlauw (BTB), pH < 6.0 = geel, pH 6.0 – 7.6 = groen, pH > 7.6 = blauw, bij gebruik 10 druppels toevoegen.

**Methode:**

Ontwikkel zelf een methode om je onderzoeksvraag te beantwoorden en schrijf deze op. Vraag jezelf het volgende af:

Hoe bepaal je de activiteit van het enzym? Kun je de activiteit nog bepalen nadat het enzym al actief is geweest? Wat kun je met de indicator? Bij welke pH was het enzym inactief en bij welke pH het meest actief. Wat kun je als controle inzetten? Wat kan ik met de pH indicator?

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

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

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

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

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………

……………………………………………………………………………………………………………………………