

## Enzymaktivität



Bildquelle: 123rf.com

Klassenstufe	Thema	Niveau	Vorbereitungszeit
Sek II + Biologie G-Kurs	Enzymaktivität	• •	•

### Aufgabenstellung

Die Schüler untersuchen die Enzymaktivität von Katalase bei der Zersetzung von Wasserstoffperoxid im Vergleich zur spontanen (unkatalysierten) Zersetzungsrate.

## Einleitung

### Was sind Enzyme?

Zellen müssen Tausende von chemischen Reaktionen sehr schnell durchführen, um ihr Leben zu erhalten. Enzyme sind für diese Operation unerlässlich. Enzyme sind Proteinkatalysatoren - sie erhöhen die Geschwindigkeit der entsprechenden Reaktion, indem sie die Aktivierungsenergie der Reaktion senken. Die Form eines Enzyms ist entscheidend für seine Fähigkeit, Reaktionen zu katalysieren.

Enzyme sind hyperspezifisch, d.h. in der Regel interagiert ein Enzym mit nur einem Substrat. Wie Katalysatoren in anderen chemischen Reaktionen werden Enzyme während der Reaktion nicht verbraucht, sondern helfen, das Substrat in das Endprodukt umzusetzen. Beachten Sie in der folgenden Reaktion, dass das Enzym sowohl vor als auch nach der Reaktion vorhanden ist.



Wasserstoffperoxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ist ein Nebenprodukt der aeroben Atmung in Zellen und wird bei der Zellsignalisierung und Apoptose eingesetzt. Wasserstoffperoxid ist hochreaktiv und kann freie Radikale produzieren, die Nukleinsäuren schädigen, weshalb die Zellen die  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Konzentration sorgfältig regulieren muss. Um überschüssiges Wasserstoffperoxid zu entfernen, produzieren die Zellen ein Enzym (in Tierzellen Katalase und in Pflanzenzellen Peroxidase genannt), das  $\text{H}_2\text{O}_2$  in Sauerstoff ( $\text{O}_2$ ) und Wasser ( $\text{H}_2\text{O}$ ) zerlegt, wie oben gezeigt. Diese Reaktion verläuft spontan ohne die Enzyme mit einer sehr langsamen Geschwindigkeit. Diese nicht katalysierte Reaktion dient als Basis oder Kontrolle in der ersten Untersuchung.

## Material & Methoden

Für jeden Schüler oder jede Gruppe werden folgende Materialien benötigt:

- Datenerfassungssystem
- Smart Drucksensor
- Magnetrührer und Magnetrührstäbchen
- Schraubdeckelflasche, 250 ml
- Stopfen mit Bohrung
- Stativplatte und Stativstab
- Messzylinder, 25 ml
- Doppelmuffe und Dreifingerklemmen
- Pipette, 1 ml und Peleusball
- 1,5 % Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), 20 ml
- Katalasesuspension, 2 ml

## Sicherheit

Beachten Sie neben Ihren gewohnten Sicherheitsvorkehrungen bitte folgende Sicherheitshinweise:

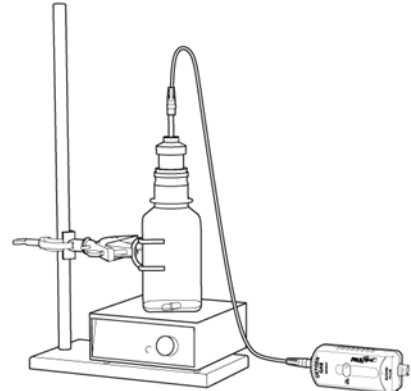
- Tragen Sie immer eine Schutzbrille.
- Bei Verwendung einer Heizplatte ist Vorsicht geboten, um Verbrennungen zu vermeiden

## Durchführung der Erstuntersuchung

Führen Sie die folgende Untersuchung durch, bevor Sie Ihr eigenes Experiment konzipieren und durchführen. Notieren Sie alle Beobachtungen, Daten, Erklärungen und Antworten.

1. Setzen Sie Ihre Schutzbrille auf.
2. Verbinden Sie den Drucksensor mit dem Datenerfassungssystem. Öffnen Sie die Datei Enzymaktivität (diese können Sie [hier](#) herunterladen).

*Wenn die Konfigurationsdatei Ihnen nicht zur Verfügung steht, können Sie alternativ eine grafische Darstellung des Drucks über der Zeit erstellen. Stellen Sie die Abtastrate so ein, dass alle 15 Sekunden eine Messung durchgeführt wird. Wenn möglich, stellen Sie eine Auto-Stop-Bedingung für drei Minuten ein.*



3. Stellen Sie das Gerät wie abgebildet auf.
4. Legen Sie den Magnetrührstäbchen in die Probenflasche.
5. Geben Sie mit einem Messzylinder 20 ml von 1,5 %  $\text{H}_2\text{O}_2$  in die saubere 250 ml-Probenflasche. Wenn sich die Flasche auf einer Rührplatte befindet, stellen Sie die Rührgeschwindigkeit auf eine mittlere Einstellung.
6. Fügen Sie mit einer Pipette 2 ml Katalase hinzu, setzen Sie den Sensor schnell in die Öffnung der Flasche ein und beginnen Sie mit der Datenerfassung.

**HINWEIS:** Halten Sie die Mischung unter ständigem Rühren (bei einer mittleren Einstellung) oder schwenken Sie die Flasche sanft von Hand und achten Sie darauf, dass die Lösung nicht mit dem Sensor in Berührung kommt.

7. Warum verursacht die Zugabe der Hefesuspension eine Druckänderung in der Probenflasche?
8. Kopieren Sie Tabelle 1, um die Ergebnisse aufzuzeichnen.
9. Berechnen Sie nach Beendigung der Datenerfassung die Reaktionsrate in [geeignete Einheit]/min und notieren Sie sie in Ihrer Kopie von Tabelle 1.

10. Der spontane Abbau von Wasserstoffperoxid ist sehr langsam, weniger als 0,5%/Tag. Als die Zersetzung in einem kontrollierten Experiment über mehrere Tage mit dem Drucksensor gemessen wurde, konnten folgenden Daten erhalten werden.

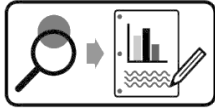
**Tabelle 1: Vergleich der Zersetzungsrates von Wasserstoffperoxid mit und ohne Katalysator**

Sensor	Spontane Zersetzungsrates	Katalysierte Zersetzungsrates	Erhöhung der katalysierten Rates
Drucksensor	$4,26 \times 10^{-5}$ kPa/min.		

- Wie viel schneller ist die von Ihnen beobachtete katalysierte Reaktion im Vergleich zur spontanen Zersetzungsrates?
  - Erklären Sie, warum die Reaktion so viel schneller ist, wenn ein Enzym vorhanden ist.
11. Ist die Reaktionsgeschwindigkeit für die 180 Sekunden der Datenerfassung konstant? Belegen Sie Ihre Antwort anhand der Daten.
12. Angenommen die Reaktion würde weiter fortfahren, würde die Reaktionsrate Ihrer Meinung nach konstant bleiben? Erklären Sie Ihre Überlegungen.

## Gestaltung und Durchführung eines Experiments

Viele Faktoren, die die Struktur und Funktion von Enzymen und die Reaktionsgeschwindigkeit enzymkatalysierter Reaktionen beeinflussen, können leicht manipuliert werden. Identifizieren Sie einen dieser Faktoren und gestalten Sie ein Experiment, um festzustellen, wie sich dieser Faktor auf die Rate einer enzymkatalysierten Reaktion auswirkt.



Gestalten und führen Sie Ihr Experiment entweder gemäß „Durchführung der Erstuntersuchung“ oder dem „Gestaltung und Durchführung eines Experiments“-Arbeitsblatt durch. Füllen Sie dann die Fragen zur Datenanalyse und die abschließenden Fragen aus.

## Gestaltung und Durchführung des Experiments: Datenanalyse

1. Gemäß Ihren Beobachtungen und Daten:
  - a. Beschreiben Sie, wie die von Ihnen manipulierte unabhängige Variable die Zersetzungsrates von Wasserstoffperoxid beeinflusst hat. Unterstützen die Daten Ihre Hypothese? Begründen Sie Ihre Behauptung mit Daten aus Ihrem Experiment.
  - b. Erklären Sie die Ergebnisse anhand der von Ihnen gesammelten Daten.
2. Liegen Ihnen Beweise in Ihren Daten oder aus Ihren Beobachtungen vor, dass experimentelle Fehler oder andere unkontrollierte Variablen Ihre Ergebnisse beeinflusst haben? Wenn ja, sind die Daten zuverlässig genug, um festzustellen, ob Ihre Hypothese unterstützt wurde?
3. Bestimmen Sie alle neuen Fragen, die sich aus Ihren Untersuchungen ergeben haben.

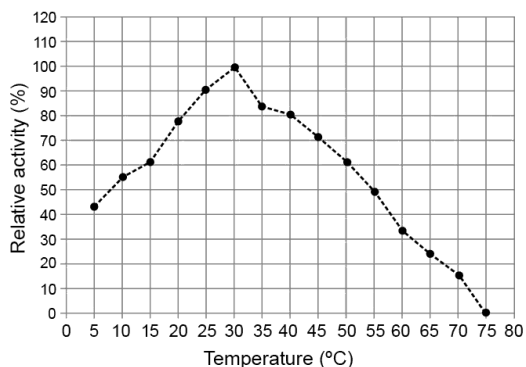
## Abschließende Fragen

1. Wenn Sie die Menge an Katalase in der Anfangsuntersuchung verdoppeln würden, wie würde sich die Reaktionsrate ändern? Erklären Sie Ihre Argumentation.
2. Viele Organismen, wie Pilze, Tiere und Pflanzen, haben Katalase.
  - a. Was sagt das über das Enzym aus?
  - b. Katalase ist nur eines von Tausenden von verschiedenen Enzymen, die in Hefezellen und anderen Organismen vorkommen. Warum brauchen Organismen so viele verschiedene Arten von Enzymen?

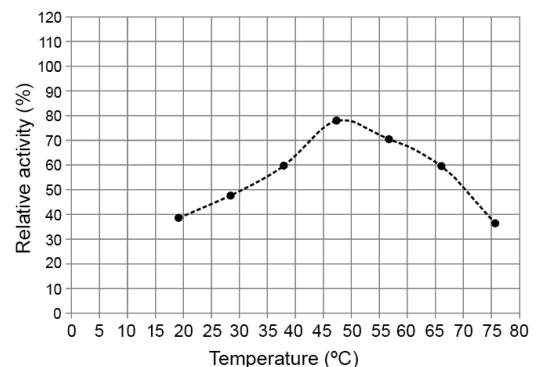
3. Die folgenden Diagramme zeigen die relative Aktivität der  $\alpha$ -Amylase von zwei verschiedenen Arten. Amylase ist ein Enzym, das komplexe Kohlenhydrate (wie Stärke) in einfache Zucker zerlegt, die dann in der Zellatmung verwendet werden.

Abbildung 1 zeigt Daten, die mit  $\alpha$ -Amylaseproben aus dem Bakterium *Bacillus subtilis* gewonnen wurden, das im Darm von Termiten im Süden der USA gefunden wurde.<sup>1</sup>

Abbildung 2 zeigt Daten für eine  $\alpha$ -Amylase-Probe aus dem Kopepoden *Heliodiaptomus viduus*. Dieser Organismus kommt hauptsächlich im Indischen Ozean um hydrothermale Spalten herum vor. In jedem Versuch wurde das Enzym bei einer bestimmten Temperatur inkubiert und anschließend in regelmäßigen Abständen auf seine Aktivität getestet.<sup>2</sup>



**Abbildung 1.** Amylase-Aktivität in *Bacillus subtilis*



**Abbildung 2.** Amylase-Aktivität bei *Heliodiaptomus viduus*

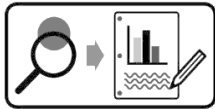
- a. Diskutieren Sie, wie und warum die Temperatur die Enzymaktivität beeinflusst.
- b. Erklären Sie, warum die optimale Temperatur für  $\alpha$ -Amylase bei diesen Arten unterschiedlich ist.

<sup>1</sup> Femi-Ola, T. O.; Olowe, B. M. Characterization of Alpha Amylase from *Bacillus subtilis* BS5 Isolated from *Ameritermes evuncifer* Silvestri. *Research Journal of Microbiology* 6 (2011): 140–146.

<sup>2</sup> Dutta, T.K.; Jana, M; Pahari, P. R; Bhattacharya, T. The Effect of Temperature, PH, and Salt on Amylase in *Heliodiaptomus viduus* (Gurney) (Crustacea: Copepoda: Calanoida). *Turkish Journal of Zoology* 30 (2006): 187–195.

**„Gestaltung und Durchführung eines Experiments“-Arbeitsblatt**

Viele Faktoren, die die Struktur und Funktion von Enzymen und die Reaktionsgeschwindigkeit enzymkatalysierter Reaktionen beeinflussen, können leicht manipuliert werden. Identifizieren Sie einen dieser Faktoren und gestalten Sie ein Experiment, um festzustellen, wie sich dieser Faktor auf die Rate einer enzymkatalysierten Reaktion auswirkt.



Gestalten und führen Sie Ihr Experiment anhand der folgenden Orientierungshilfe durch.

1. Welche Umweltfaktoren (abiotisch oder biotisch) könnten die Raten enzymkatalysierter Reaktionen beeinflussen, basierend auf Ihren Kenntnissen über Enzyme und Reaktionen?
2. Erstellen Sie eine Kernfrage: Wählen Sie einen der von Ihnen identifizierten Faktoren, die überprüft werden können und entwickeln Sie eine überprüfbare Frage für Ihr Experiment.
3. Wie begründen Sie Ihre Kernfrage? Warum ist es biologisch bedeutsam, relevant oder interessant?
4. Was wird die unabhängige Variable des Experiments sein? Beschreiben Sie, wie diese Variable in Ihrem Experiment manipuliert wird.
5. Was ist die abhängige Variable des Experiments? Beschreiben Sie, wie die Daten im Experiment gesammelt und verarbeitet werden.
6. Stellen Sie eine überprüfbare Hypothese auf (Wenn...dann...).
7. Welche Bedingungen müssen im Experiment konstant gehalten werden? Quantifizieren Sie diese Werte, wenn möglich.
8. Wie viele Versuche werden für jede Versuchsgruppe durchgeführt? Begründen Sie Ihre Wahl.
9. Was werden Sie vergleichen oder berechnen? Welche Analyse werden Sie durchführen, um Ihre Ergebnisse und Hypothesen zu bewerten?
10. Beschreiben Sie mindestens 3 potenzielle Fehlerquellen, die die Genauigkeit oder Zuverlässigkeit der Daten beeinträchtigen könnten.



11. Verwenden Sie den nachfolgenden Platz, um eine Übersicht über das Experiment zu erstellen. Schreiben Sie die Schritte für die Vorgehensweise auf. (Jemand anderes oder eine andere Gruppe sollte in der Lage sein, den Vorgang zu wiederholen und ähnliche Ergebnisse zu erzielen.)

**Thematisch passende Artikel aus unserem Shop auf einen Blick:**

Gerät / Material	Bestellnummer
• Datenerfassungssystem	
• PASCO Smart Drucksensor	<a href="#">71164023</a>
• Magnetrührer	<a href="#">71186320</a>
• Magnetrührstäbchen	<a href="#">020754</a>
• Schraubdeckelflasche, 250ml	<a href="#">72006791</a>
• Stopfen mit einer Bohrung	<a href="#">71093396</a>
• Stativplattenfuß	<a href="#">310505031</a>
• Stativstab	<a href="#">310505112</a>
• Doppelmuffe	<a href="#">310505360</a>
• Dreifingerklemme	<a href="#">313101053</a>
• Messzylinder, 25ml	<a href="#">149370068</a>
• Messpipette, 1 ml	<a href="#">72006743</a>
• Peleus-Ball	<a href="#">270004703</a>

**Literaturverzeichnis:**

- [PASCO Digital Library](#)
- Femi-Ola, T. O.; Olowe, B. M. Characterization of Alpha Amylase from Bacillus subtilis BS5 Isolated from Ameritermes evuncifer Silvestri. Research Journal of Microbiology 6 (2011): 140–146.
- Dutta, T.K.; Jana, M; Pahari, P. R; Bhattacharya, T. The Effect of Temperature, PH, and Salt on Amylase in Heliodiaptomus viduus (Gurney) (Crustacea: Copepoda: Calanoida). Turkish Journal of Zoology 30 (2006): 187–195.

**Bilderverzeichnis:**

PASCO

<https://de.123rf.com/>

Diese Versuchsanleitung wurde im April 2020 erstellt.

**Bitte beachten Sie, dass die Versuchsanleitung lediglich als Orientierung dient. Sie wurde nach bestem Wissen und Gewissen angefertigt. Dennoch können wir keine Haftung für die Richtigkeit, Vollständigkeit und Aktualität übernehmen und bitten Sie, die jeweiligen Aussagen und Quellen vor Verbreitung zu überprüfen.**