

Studio dell'attività enzimatica della catalasi

Obiettivi:

verificare l'azione della catalasi in alcuni tipi di cellule eucariote, determinare le differenti concentrazioni dell'enzima nei diversi tipi di cellule in base al minor o maggior sviluppo di effervescenza, verificare che il calore denatura l'enzima.

Premessa teorica

L'ossigeno è indispensabile alla vita di gran parte degli organismi viventi (ad eccezione di quelli anaerobi), ma è anche pericoloso per gli stessi organismi che lo respirano: infatti molti sottoprodotti del suo metabolismo (ad esempio l'acqua ossigenata) sono composti particolarmente reattivi e tossici, che se non vengono controllati possono danneggiare le molecole di cui sono fatti gli organismi. Per questo, la maggior parte degli organismi aerobi (e anche alcuni organismi anaerobi che si sono adattati a vivere anche in presenza di ossigeno) possiedono enzimi che li proteggono da questi effetti collaterali, uno dei più importanti enzimi è la catalasi. La catalasi è una proteina enzimatica che funziona da catalizzatore: accelera la reazione di decomposizione dell'acqua ossigenata in ossigeno e acqua. (la catalasi non si consuma durante la reazione) Data la sua importanza, la catalasi è presente in gran parte degli organismi, anche se in concentrazioni diverse da organismo ad organismo e da tessuto a tessuto all'interno di uno stesso organismo. La cottura inattiva l'enzima che subisce così denaturazione termica.

La reazione in esame è la decomposizione dell'acqua ossigenata (perossido di idrogeno) in acqua e ossigeno: $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ (l'ossigeno si libera sotto forma di bollicine, si nota un'effervescenza). Questa reazione avviene spontaneamente in condizioni standard, ma avverrebbe con tempi troppo lunghi per essere osservata. Alcuni catalizzatori, però sono in grado di renderla più veloce. Un catalizzatore inorganico per questa reazione è il biossido di manganese (MnO_2), mentre un catalizzatore organico è l'enzima catalasi, presente nella maggior parte degli organismi aerobi e in alcuni organismi anaerobi.

Materiale occorrente: • Acqua ossigenata 10 volumi (3%) • Lievito di birra • Patata • Cuore di pollo • Fegato di pollo

Strumenti:

- 10 piccoli vasetti di vetro (meglio se avete delle provette)
- tagliere • coltello • pinzette
- bacchetta di vetro (usare qualcosa di alternativo)
- fornello e tegame

Procedimento:

- 1) Tagliare a pezzi di dimensioni simili la patata, cuore e il fegato di pollo, sbriciolare il lievito, in modo che entrino nei vasetti. Usare la bacchetta di vetro per spingere in fondo i pezzi se si attaccano alle pareti.
- 2) Inserire in 10 vasetti diversi in modo da avere: -2 vasetti con patata; -2 vasetti con cuore di pollo; -2 vasetti con fegato di pollo; -2 vasetti con lievito; -2 vasetti con 2 mL di acqua ossigenata (controllo negativo).
- 3) Prelevare e scaldare 5 vasetti, uno per ogni tipo (1 Patata; 1 Cuore, 1 Fegato, 1 lievito, 1 acqua ossigenata) inserendoli nel tegame contenente dell'acqua calda, e metterlo a riscaldare sul fornello. Dopo 10 minuti di attesa, prelevare i campioni.
- 4) Aggiungere ad ogni vasetto (sia quelli lasciati a temperatura ambiente sia quelli scaldati) circa 2 mL di acqua ossigenata in ogni provetta e osservare cosa succede.

Osservazioni e Risultati

Descrivere in quali casi si nota lo sviluppo di un'effervescenza, se ci sono differenze di intensità (corrispondente ad una diversa concentrazione di enzima nelle diverse cellule). In quali casi non si nota lo sviluppo di un'effervescenza?

Raccogliere i dati in questa tabella

Si nota uno sviluppo di effervescenza? (molto, abbastanza, poco, per nulla)			
campioni	tipo di cellule	campioni a temperatura ambiente	campioni bolliti
Cuore di pollo			
Fegato di pollo			
Lievito di birra			
patate			
H ₂ O ₂	assenti		

Conclusioni

Quali tipi di cellule contengono una quantità maggiore di catalasi? Disporre i campioni in ordine crescente. A quale temperatura funziona meglio l'enzima? In quale caso viene denaturato? Come mai? Cosa è accaduto?

Spiega cosa succede quando si disinfetta una ferita con acqua ossigenata.