

DENEY 2.4.: Enzim Faaliyetine Sıcaklığın Etkisi

Teorik Bilgi: Enzimlerin katalizlediği reaksiyonlarda, sıcaklığın her 10 °C artmasına karşılık, enzimin reaksiyon hızı iki kat artmaktadır. Hayvansal kaynaklı enzimlerin maksimum aktivite gösterdikleri optimum sıcaklık ortalama 40-50 °C ler arasındadır. Bitkisel kaynaklı enzimlerde bu değer biraz daha yüksek ve genellikle 50-60 °C ler arasındadır. Bu derecelerin üstünde enzimlerin sıcaklığa bağlı olarak denatüre (yapısal bozulma) olma hızı, enzimin reaksiyon hızı artışından daha süratli olduğu için enzim aktivitesi azalmaktadır. Bu özellik enzimlerin protein karakterindeki yapısından ileri gelir.

Enzimlerin birçoğu ancak 60 °C nin üstünde denatüre olmaktadır. Buna karşın sıcak su kaynaklarında bulunabilen bazı termofilik bakterilerden elde edilen enzimlerin 85 °C de bile denatüre olmaksızın aktivite gösterebildikleri saptanmıştır. Fakat burada enzimlerin yüksek sıcaklıklarda tutulma süresi önemli bir rol oynamaktadır. Buna rağmen genelde, çok yüksek sıcaklıklar enzim aktivitesinin irreversibl (geriye dönüşümsüz) durmasına neden olurken, düşük sıcaklıklar ise reversibl (geriye dönüşümlü) etkili olmaktadır.

Sonuç olarak, her enzimin optimum aktivite gösterdiği bir sıcaklık değeri vardır. Bu sıcaklığın daha da artması veya azalması, enzim aktivitesinde değişikliklere neden olmaktadır.

Amaç: Amilaz enziminin farklı sıcaklık değerlerinde, nişastayı hidroliz hızının (Reaksiyon Hızı-RH) saptanması ve hız/sıcaklık grafiğinin çizilerek yorumlanması.

Materyal: Taze amilaz çözeltisi, nişasta çözeltisi, iyot çözeltisi, tüp, pottüp, mezür, pipet, beher, damlalık, lam, saat, termometre.

Metot:

Deneyde çalışılacak sıcaklık değerleri:

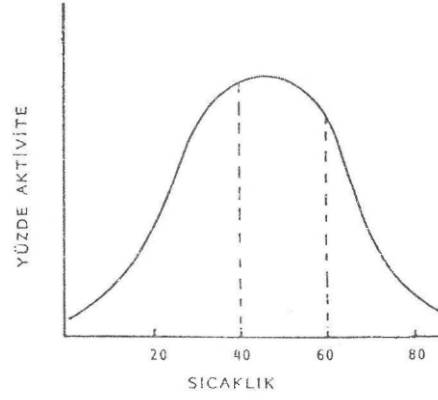
- Oda sıcaklığı (termometreden okuyunuz)
- Çeşme suyu sıcaklığı (termometreden okuyunuz)
- Vücut sıcaklığı (37 °C)
- Ortalama 60-65 °C sıcaklık
- Kaynar su sıcaklığı (100 °C)

1. Her masa kendisi için belirlenecek tek bir sıcaklık değerinde çalışacaktır.
2. Çalışmada önemli olan nokta, deneyin tamamlanıp, reaksiyon hızını hesaplayıncaya kadar deney tüpünüzün, size verilen sıcaklık değerinde oluşturduğunuz ortamda devamlı olarak tutulmasıdır.
3. Karbohidrat sindirimi deneyinde olduğu gibi taze bir amilaz çözeltisi hazırlayınız.

4. Dört tane lam alıp, her birinin üzerine aralıklı olarak 3 damla iyot çözeltisi damlatınız. (İyot çözeltisi bu deneyde ne amaçla kullanılmaktadır?)
5. Temiz bir deney tüpüne 6 ml nişasta çözeltisi koyunuz.
6. Temiz başka bir deney tüpüne 0.5 ml enzim çözeltisi koyunuz.
7. Temiz bir beher alıp yarısına kadar su doldurarak, sıcaklığını size verilen sıcaklık değerine getiriniz.
8. Enzim ve nişasta çözeltisinin bulunduğu tüpleri beher içine daldırıp, 5 dakika bekleyiniz.
9. Bu süre sonunda nişasta çözeltisini, enzim çözeltisinin üzerine dökünüz. Böylece bu iki çözeltiyi bir tüp içerisinde toplanmış ve toplam hacmi 6.5 ml yapmış olacaksınız.
10. Bu dakikadan sonra enzim-substrat reaksiyonu başlayacaktır. İlk 30 saniye bekleyip, tüpteki son karışımdan bir damla alarak iyot çözeltisinin üzerine damlatınız.
11. Karbohidrat sindirimi deneyinde olduğu gibi nişastanın tamamı parçalanıncaya kadar her 30 saniye aralıklarla damlatma işlemine devam ediniz. (Nişastanın tamamen parçalandığını nasıl anlarsınız?).
12. Nişasta tamamen parçalandığında, bu ana kadar geçen süreyi tespit ediniz.
13. Size verilen sıcaklık değeri için Reaksiyon Hızını (RH) hesaplayınız.

$$\text{Reaksiyon Hızı (RH)} = \frac{\text{Kullanılan substrat miktarı (ml)}}{\text{Reaksiyonun bittiği süre (Dak.)}}$$

14. Tüm masalardan farklı sıcaklık değerlerine ait reaksiyon hızı sonuçlarını kaydederek, hız/sıcaklık grafiğini milimetrik kağıda çiziniz.
15. Bu grafikte dikey eksene (Y ekseni) reaksiyon hızı değerlerini, yatay eksene de (X ekseni) sıcaklık değerlerini yazınız (Şekil:2.4.1.).
16. Çıkaracağınız grafiğin yorumunu çok iyi bir şekilde yaparak, tartışınız.



Şekil:2.4.1

Enzim faaliyetine sıcaklığın etkisinde çizilecek bir çan eğrisi grafiği örneği.(Gözükara'dan)