

## ACCIÓ DE LA CATALASA (Multilab)

### Objectius

---

- Comprovar l'acció de la catalasa del llevat sobre l'aigua oxigenada.
- Diferenciar enzim i substrat en una reacció enzimàtica.
- Estudiar la influència d'algun factor en l'acció de la catalasa sobre el peròxid d'hidrogen

### Introducció

---

Durant la respiració cel·lular, les cèl·lules oxiden la matèria orgànica per obtenir energia. Un dels metabòlits que es formen és peròxid d'hidrogen ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), un agent oxidant molt potent que pot afectar a moltes molècules i ocasionar la mort cel·lular. La catalasa és l'enzim encarregat de desactivar la molècula de peròxid i descompondre-la en aigua i oxigen. Aquest enzim es troba en els teixits dels éssers vius (per exemple, patata, fetge o microorganismes com els llevats).



Es proposa l'estudi del despreniment d'oxigen a partir d'una solució d' $\text{H}_2\text{O}_2$  en presència de llevats, mitjançant la mesura de l'increment de pressió dins del recipient on es produeix la reacció, amb sensors de pressió i el programa Multilab, que permet una mesura contínua dels valors que pren la variable al llarg del temps.

### Plantejament de la hipòtesi

---

A partir de la lectura de la introducció i del següent llistat de material disponible per a l'experiència, després de l'observació del muntatge que us proposem, caldria plantejar la hipòtesi de treball que s'haurà de contrastar en discutir les conclusions.

## Material i Equipament

<b>Elements de l'equip Multilog</b>	<b>Reactius i mostra</b>
- sensor de pressió	- Solució d'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> al 3%
<b>Material de laboratori</b>	- Solució d'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> a l'1,5%
- Balança digital	- Llevats secs
- 2 xeringues de 50 ml	- Aigua destil·lada
- clau de tres vies	<b>Ordinador</b>

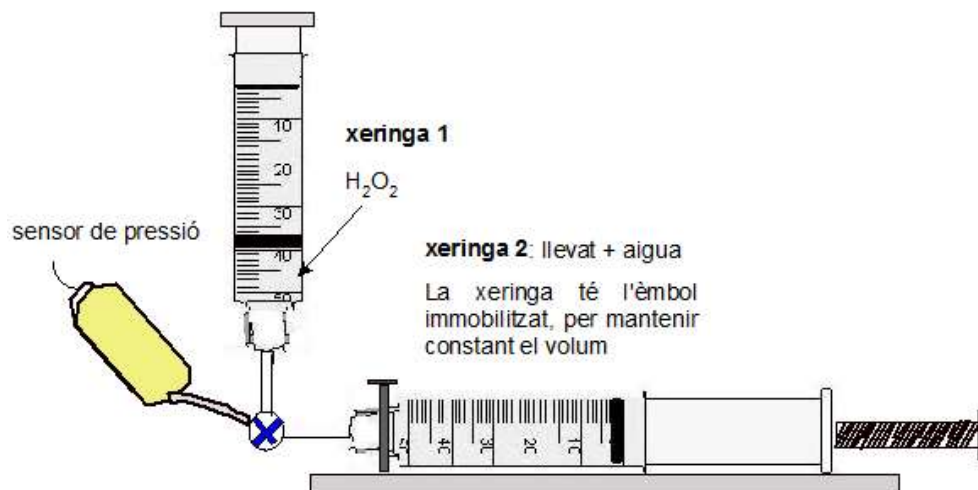
## Procediment

### A. Execució de l'experiència

Dissenyeu un muntatge de manera que l'augment de pressió que l'acció dels llevats provoca en formar-se gas, es pugui mesurar amb un sensor de pressió.

Per això és convenient que una de les xeringues estigui amb l'èmbol immobilitzat, mentre que l'altra xeringa contingui l'aigua oxigenada. La clau de tres vies ha de connectar les dues xeringues i el tub transparent del sensor de pressió.

Heu de muntar les dues xeringues de manera que quedin en posició horitzontal a la taula de treball. El tub transparent del sensor de pressió haureu de col·locar-lo de manera que quedi vertical respecte a les xeringues, això evitarà que entri líquid en el tub.




1. Peseu entre 0,2 g i 0,4 g de llevat sec a la xeringa 2 i afegiu-hi 10 ml d'aigua i remeneu bé fins a obtenir una solució d'aspecte el més homogeni possible. Situeu l'èmbol en el màxim volum possible i poseu la xeringa de manera que l'èmbol quedi immobilitzat i no es pugui desplaçar si augmenta la pressió.
2. A la xeringa 1, poseu 10 ml d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de concentració del 3%.
3. Ara munteu les dues xeringues. Tingueu preparat el sensor de pressió tal com veieu al dibuix, però no el connecteu encara a la clau de tres vies.
4. Poseu la clau de tres vies, de manera que connecti les xeringues 1 i 2. No injecteu res per ara.

## B. Configuració del sistema (paràmetres de la captació de dades)

Abans de poder recollir les dades, cal seguir els passos següents:

- Connecteu la font d'alimentació a la consola i assegureu-vos que la connexió amb el PC també estigui en ordre.




- Poleu el botó **on**  de la consola i espereu que surti la pantalla del menú amb les icones.
- Obriu el programa **Multilab** a l'ordinador.
- En obrir el programa aquest crearà automàticament un arxiu nou.
- Aneu al menú *Gràfic/Editar gràfic* o seleccioneu a la barra inferior el



botó **Editar gràfic** . S'obrirà la pantalla.

Poseu títol al gràfic i comproveu que teniu les variables ben definides: a l'eix X el temps, i a l'eix de les Y la pressió. Sortiu clicant **D'acord**.



- Seleccioneu la icona  o bé aneu a la barra de menú i obri *Configurar ajuda / Temps a continu*.
- Comproveu que a l'entrada I/O detecta la connexió amb el corresponent sensor de pressió. Passeu a la següent pantalla clicant sobre **Proper**.

- Dins d'aquesta pantalla heu d'escollir la freqüència en què farà les lectures. Per aconseguir-ho cal clicar a la dreta de la finestra. Escolliu l'opció **cada 10 segons**.

Passeu a la pantalla següent clicant sobre **Proper**.

- En aquesta pantalla escollirem quant de temps durarà la captació de dades. En la nostra experiència el temps necessari per aconseguir enregistrar tot el procés està al voltant dels 20-30 minuts.

Donat que allò que ens interessa és allargar la captació fins que s'estabilitzi el gràfic, escollirem l'opció **Continu**.

### C. Enregistrament de dades

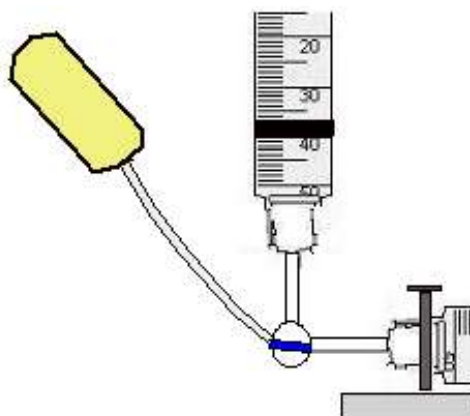
Abans de començar la lectura de dades, feu una predicció de l'evolució dels valors de pressió en el decurs de l'experiment.



Per iniciar la lectura, cliqueu el botó **Executar**.

5. Comproveu el nivell de pressió enregistrat al monitor de l'ordinador. Observareu que el sensor us marca l'actual pressió atmosfèrica.

6. Ara, injecteu la solució d' $H_2O_2$  de la xeringa 1 a la xeringa 2. Poseu la clau de tres vies en posició de connectar la xeringa 2 amb el sensor de pressió. Procureu que el tub transparent del sensor de pressió estigui en posició vertical per evitar l'entrada de líquid al tub del sensor.



7. Quan hagi passat suficient temps, i el gràfic s'hagi estabilitzat, atureu la lectura. Cliqueu **STOP**.

### **Seguretat i residus**

#### **Cal aplicar els criteris habituals en el treball al laboratori:**



- Els reactius utilitzats en aquesta experiència poden abocar-se per l'aigüera, convenientment diluïts
- Les restes de les mostres d'origen orgànic, cal llençar-les als contenidors on habitualment es llença la brossa orgànica abans de rentar el material.

## **Resultats**

---

### **Observacions qualitatives**

Cal anotar amb tot detall quin ha estat el muntatge, qualsevol canvi en els diferents tractaments, possibles problemes sorgits durant l'experiència, les operacions que hem anat realitzant i els fenòmens observats. És molt important que les observacions siguin anotades i intercanviades per tots els membres del grup de treball. Això enriquirà sens dubte les conclusions finals.

### **Adquisició i enregistrament de les dades**

Un cop acabat l'enregistrament cal imprimir els gràfics i les dades numèriques corresponents per tal d'interpretar els resultats amb posterioritat.

Durant l'experiència, és convenient anotar en quin moment s'observen variacions apreciables al gràfic i als valors de la taula, quan s'estabilitzen els gràfics i, per tant, els valors de la pressió, etc.

## **Conclusions**

---

### **Anàlisi de les dades**

Ara ja teniu els resultats en forma de gràfics i de taules, i a més les observacions dutes a terme durant el propi experiment. Cal extreure les conclusions d'aquesta informació.

Observeu acuradament els gràfics i les taules, i no perdeu de vista les notes de treball:

- Quina és la variable independent i la variable dependent del vostre experiment?. Quines magnituds heu mantingut constants?
- Què ha passat dins la xeringa 2? Com es pot interpretar?
- Els valors de pressió a la xeringa 2 comencen a variar immediatament després d'injectar l' $H_2O_2$  o varien al cap d'un temps? Per què?
- És continu l'augment de pressió? O bé hi ha una estabilització del gràfic al cap d'un cert temps? Com es podrien interpretar els resultats?
- Són consistents els resultats obtinguts amb la vostra hipòtesi? Podeu confirmar-la o heu de fer hipòtesis noves?