

# Ein Enzym bekennt Farbe

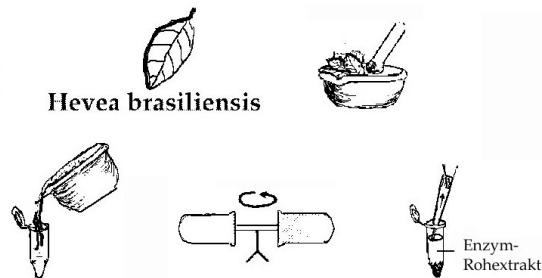
## -Isolierung und Charakterisierung eines Enzyms-

In lebenden Organismen werden fast alle Reaktionen des Stoffwechsels von Enzymen katalysiert, deren Aktivität stark von der Temperatur sowie der Ionenzusammensetzung der umgebenden Lösung abhängig ist.

In unserem Experiment isolieren wir ein Enzym-Gemisch aus den Blättern des Kautschukbaums (*Hevea brasiliensis*) und untersuchen Eigenschaften des Enzyms  $\beta$ -Glucosidase, indem wir ein spezifisches Substrat anbieten. Im Verlauf der enzymatischen Reaktion entsteht ein Produkt, dessen Absorptionsmaximum bei 400 nm liegt. Die dadurch bedingte Gelbfärbung ist schon mit bloßem Auge zu erkennen.

### 1. Herstellung eines Enzym-Rohextraktes

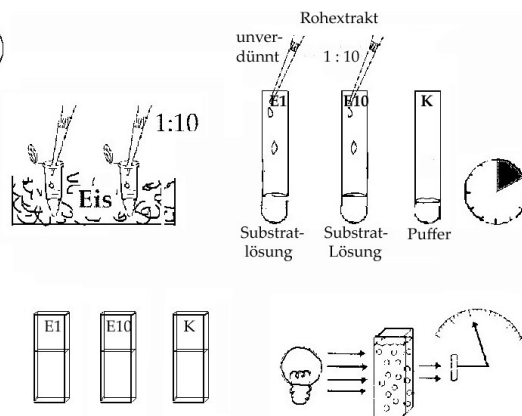
1



Das Blattmaterial wird im Mörser zerkleinert, in einem Puffer suspendiert und zentrifugiert. Der Überstand ist der Enzym-Rohextrakt.

### 2. Ermittlung einer geeigneten Enzymkonzentration aus dem Rohextrakt mithilfe spektralphotometrischer Messung

2

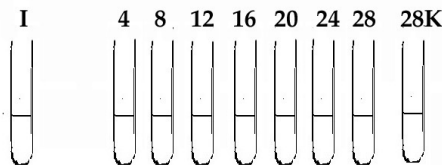


Ein Teil des Rohextraktes wird 1:10 verdünnt. Die verschiedenen konzentrierten Enzymlösungen werden zu den Substratlösungen gegeben und damit die Reaktionen gestartet.

Nach 10 Minuten werden die enzymatischen Reaktionen abgestoppt und die Extinktionen der Reaktionsgemische bei  $\lambda = 400\text{nm}$  im Spektralphotometer gemessen. Die Extinktion ist proportional zur Menge des gebildeten Produktes.

### 3. Messung der Enzymaktivität in Abhängigkeit von der Zeit

3



Nach dem Start der enzymatischen Reaktion wird im Abstand von jeweils 4 Minuten eine Probe entnommen und die Menge des jeweils gebildeten Produktes spektralphotometrisch bestimmt.

### 4. Untersuchung der Charakteristika des Enzyms $\beta$ -Glucosidase (arbeitsteilig)

4

I

#### Abhängigkeit der Enzymaktivität

- von der Temperatur

II

- von der Substratkonzentration

III

- vom pH-Wert

IV

Substratspezifität

Hembarkeit durch Schwermetallionen