



Zachodniopomorski
Uniwersytet Technologiczny

CHEMIA ŻYWNOCI



Wydział Nauk o Żywności i Rybactwa

**Centrum Bioimmobilizacji
i Innowacyjnych
Materiałów Opakowaniowych**

ul. Klemensa Janickiego 35

71-270 Szczecin



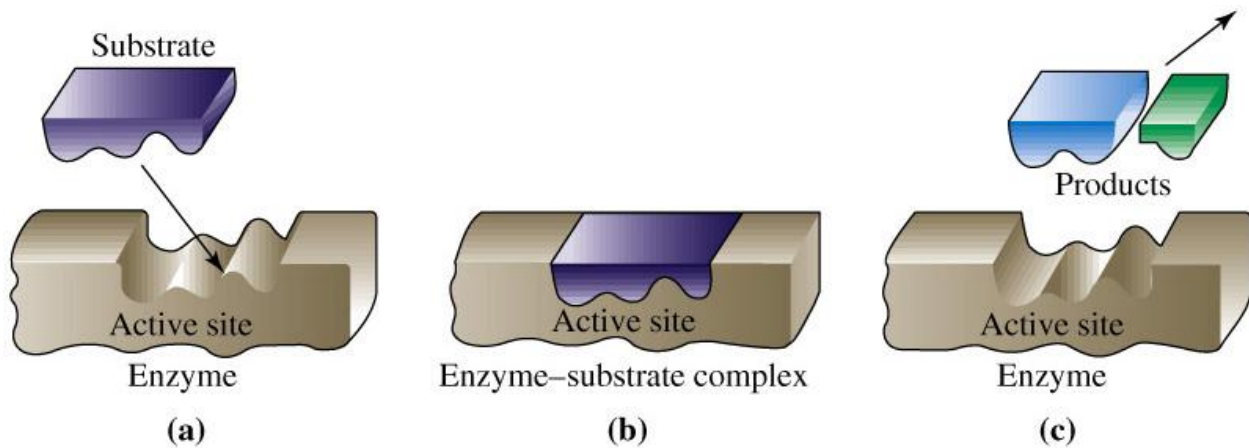
ĆWICZENIE 4.

Enzymy w żywności (I)

Ureaza

Wstęp

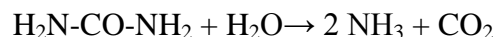
W układach biologicznych reakcje chemiczne rzadko zachodzą przy braku katalizatora. Katalizatorami są swoiste białka zwane enzymami. Uderzającą cechą wszystkich enzymów jest duża aktywność katalityczna oraz specyficzność działania. Ponadto aktywność enzymów podlega regulacji. Enzymy przyspieszają reakcje chemiczne co najmniej milionkrotnie. Przy braku enzymów większość reakcji w układach biologicznych biegnie tak wolno, że są one niezauważalne. Enzymy nie naruszają równowagi reakcji lecz służą jako katalizatory, zmniejszające energię aktywacji reakcji chemicznej. Kinetyczne właściwości niektórych enzymów dają się opisać modelem Michaelisa-Menten. W tym modelu enzym (E) łączy się z substratem (S) tworząc kompleks enzym-substrat, który może się przekształcać, tworząc produkt (P), lub dysocjować z powrotem do E i S.



Zatrucie organizmów żywych pod wpływem niedużych dawek trucizn można wyjaśnić blokowaniem przez nie enzymów, warunkujących wszelkie procesy życiowe.

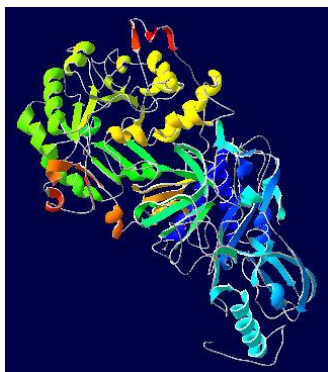
Mocznik to pierwszy związek organiczny, który udało się zsyntetyzować ze związków nieorganicznych. Dokonał tego w 1828 r. Friedrich Wöhler. Dziś mocznik wytwarza się w olbrzymich ilościach w skali przemysłowej i wykorzystuje do wyrobu tworzyw sztucznych oraz jako tani nawóz azotowy.

Ureaza jest enzymem (aminohydrolazą) katalizującym hydrolizę mocznika według równania:



Powstający w wyniku hydrolizy amoniak jest wyraźnie bardziej zasadowy niż dwutlenek węgla - kwasowy, jego hydrolizie towarzyszy zatem alkalizowanie się roztworu.

Enzym ten występuje w organizmach bezkręgowców, a także u niektórych roślin oraz u bakterii rozkładających mocznik. Był on pierwszym enzymem otrzymanym w 1926r w postaci krystalicznej z nasion kanawalii *Canavalia ensiformis* przez J. Sumnera. Ureaza występuje też w różnych stężeniach w nasionach niektórych innych roślin, takich jak soja, czy pestki z dyni. Niewielka ilość *ureazy* zawarta w kilku pestkach dyni stanowić może dawkę śmiertelną, pod warunkiem wprowadzenia jej bezpośrednio do krwioobiegu! Zatrucie spowodowane jest powstaniem NH_3 w wyniku hydrolizy mocznika zawartego we krwi. Po zjedzeniu pestek, *ureaza* nie jest szkodliwa; zostaje ona strawiona wraz z pestkami w przewodzie pokarmowym. Wprowadzona taką drogą do organizmu, nie stanowi więc zagrożenia.



Molekularny model ureazy syntetyzowanej przez *Helicobacter pylori* [3]

Wiele różnych bakterii wytwarza ureazę. Również *Helicobacter pylori*, bakteria powodująca wrzody żołądka, wykorzystuje ją do podniesienia pH soku żołądkowego (optimum pH dla *H. pylori* to 7, normalne pH w żołądku to około 3). Również trawiące celulozę bakterie, które żyją w pierwszym przedziale żołądka przeżuwaczy (m. in. krowy, owce) wydzielają ureazę. Przeżuwacze wydzielają do wnętrza żwacza mocznik, który bakterie wykorzystują jako źródło azotu do własnego wzrostu. Potem zwierzę trawi masę bakteryjną. Wiele innych bakterii również wydzielają ureazę, dlatego bezwonny mocz po jakimś czasie zaczyna intensywnie pachnieć.

Ćwiczenie 1.

Przygotować roztwór: do 50 ml mocznika dodać 4 krople fenoloftaleiny.

Przygotować cztery probówki i osiem płytek Petriego. Na płytce:

1. pierwszej umieścić kilka namoczonych ziaren soi;
2. drugiej kilka rozgniecionych w moździerzu namoczonych ziaren soi;
3. trzeciej umieścić kilka ziaren namoczonej soi, wcześniej rozgrzanych we wrzącej wodzie (w probówce);
4. czwartej umieścić kilka rozgniecionych w moździerzu ziaren soi, wcześniej rozgrzanych we wrzącej wodzie (w probówce);

Do każdej z płytek dodać mocznika z dodatkiem fenoloftaleiny tak by zakryć całą powierzchnię płytki Petriego. Reakcja hydrolizy mocznika jest tak powolna, że nawet po kilku godzinach nie następuje zmiana barwy (na różową). Dodatek do mocznika zmielonych ziaren soi, czy pestek z dyni powoduje, że już po kilkudziesięciu sekundach zachodzi w zauważalnym stopniu hydroliza mocznika i roztwór barwi się na różowo. Po dłuższym czasie daje się wyraźnie wyczuć silny zapach amoniaku. Wykorzystane w doświadczeniu identyczne ilości soi, czy pestek z dyni, które jednak uprzednio, przed dodaniem roztworu mocznika, ogrzano przez kilka minut w probówce zanurzonej we wrzącej łaźni wodnej nie powinny powodować zmiany barwy.

Do opracowania

	po 30s		po 2min		po 15min		po 30min		po 50 min	
	zmiana barwy	brak zmian	zmiana barwy	brak zmian	zmiana barwy	brak zmian	zmiana barwy	brak zmian	zmiana barwy	brak zmian
ziarna soi										
rozgniecione ziarna soi										
rozgrzane ziarna soi										
rozgrzane pestki dyni										
rozgrzane rozgniecione ziarna soi										

*krzyżykiem zaznaczyć właściwe

Ćwiczenie 2.

1. Kilka ziaren soi rozgnieść w moździerzu na miazgę, przenieść wszystko do probówki a następnie dolać do niej 5ml wody i pozostawić na 30min.
2. Przygotować wskaźnik pH – pokroić liść z czerwonej kapusty na drobne fragmenty, umieść w zlewce na 100ml i zalać wodą. Liść powinien być całkowicie zanurzony. Po 10 min gotowania odlać wywar do nowej zlewki na wskaźnik pH.

Etap 1. doświadczenia 2

1. Podpisz 3 probówki „K” (odczyn kwaśny), „Z” (odczyn zasadowy), „O” (bez dodatków) – naklej naklejki lub podpisz flamastrem.
2. Do wszystkich 3 probówek nalej do 1/3 wysokości wywaru z czerwonej kapusty.
3. Do probówki oznaczonej „K” dodać kilka kropli roztworu kwasu cytrynowego – obserwować zmianę barwy.
4. Do probówki oznaczonej „Z” dodać kilka kropli roztworu sodы oczyszczonej – obserwować zmianę barwy.
5. Porównać barwy roztworów we wszystkich 3 probówkach.

Etap 2. doświadczenia 2- działanie ureazy z nasion soi na mocznik

1. Podpisać 3 probówki: „M” (mocznik), „U” (ureaza z soi), „M+U”(mocznik i ureaza z soi).
2. Do wszystkich trzech probówek nalej wywaru z czerwonej kapusty - do 1/5 wysokości probówki.
3. Do probówek „M”, „M+U” nalać roztworu mocznika – do 2/5 wysokości probówki. Zaobserwować barwę – jakie jest pH roztworu (sprawdzić pH za pomocą papierka wskaźnikowego).
4. Do probówek „U” i „M+U” dodać przygotowanej wcześniej zawiesiny soi – tyle samo, co mocznika lub nieco mniej.
5. Porównać zabarwienie i zapach roztworów w naczyniach „M+U”, „U i M”.
6. Poczekać 10min i porównać je z probówkami „K”, „Z” i „O” z poprzedniej części doświadczenia.

Do opracowania

	Barwa po 30s	pH	Barwa po 10min	pH
K				
Z				
O				
M				
M+U				
U				