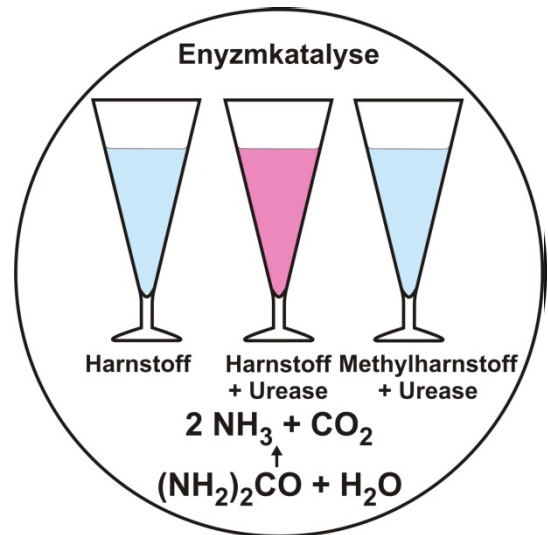


Katalytische Spaltung von Harnstoff durch das Enzym Urease



Geräte:

3 Kelchgläser
3 Glasstäbe
Spatel
Becherglas (10 mL)
2 Messzylinder
2 Tropfpipetten
(optional: Becherglas (400 ml)
Stabmixer und geeignetes Plastikgefäß
Trichter mit Filterpapier und Erlenmeyerkolben
oder besser Büchnertrichter mit Filterpapier,
Saugflasche und Wasserstrahlpumpe o. ä.)

Chemikalien:

Harnstoff
n-Methylharnstoff
Urease
Phenolphthalein-Indikatorlösung
demineralisiertes Wasser
(optional: Sojabohnen)

Sicherheitshinweise:

Urease:



H315, H319, H334, H335
P261, P264, P271, P302+352, P304+340+312, P305+351+338

Phenolphthalein-Lösung (C₁₂H₁₄O₄) (in Ethanol):



H225, H319, H341, H350
P210, P280, P305+351+338, P308+313

Da beide Substanzen Augenreizungen verursachen können und Urease zusätzlich Hautreizungen, sind unbedingt eine Schutzbrille und geeignete Schutzhandschuhe zu tragen. Darüber hinaus kann Urease beim Einatmen allergische Reaktionen, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden hervorrufen, weshalb ein Einatmen unbedingt zu vermeiden ist. Auch sollte unter einem Abzug gearbeitet werden. Der Sojabohnenauszug kann in seltenen Fällen (ca. 1 % der Bevölkerung) ebenfalls zu allergischen Reaktionen führen.

Versuchsdurchführung:

Vorbereitung des Sojabohnenauszuges [1]: Die Sojabohnen werden über Nacht in einem Becherglas in etwa der dreifachen Menge an Wasser eingeweicht. Die eingeweichten Bohnen werden dann zusammen mit etwa 10 mL Wasser pro Gramm trockener Sojabohnen (das Einweichwasser kann hierzu verwendet werden) mit dem Stabmixer püriert, bis

eine glatte Mischung entsteht. Anschließend wird das Sojabohnenpüree filtriert und das ureasehaltige Filtrat aufgefangen.

Vorbereitung: Es werden eine Harnstoff-Lösung ($w = 2 \%$) und eine n-Methylharnstoff-Lösung ($w = 2 \%$) hergestellt. Durch Vermischen von 2 Spatenspitzen Urease mit 3 mL Wasser in dem 10 ml-Becherglas erhält man eine Urease-Suspension.

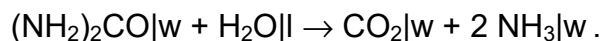
Durchführung: In zwei der drei Kelchgläser werden je 200 mL der Harnstoff-Lösung gefüllt, in das dritte gibt man hingegen 200 mL der n-Methylharnstoff-Lösung. Alle drei Lösungen werden mit ungefähr der gleichen Menge an Phenolphthalein-Indikatorlösung versetzt. Die Harnstofflösung im ersten Kelchglas dient als Referenz. Zu der Harnstoff-Lösung im zweiten und der n-Methylharnstoff-Lösung im dritten Kelchglas wird jeweils etwas Urease-Suspension (oder alternativ das ureasehaltige Filtrat) hinzugefügt.

Beobachtung:

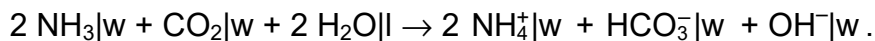
Bei der Harnstoff-Lösung im zweiten Kelch beobachtet man nach kurzer Zeit eine zunehmende Violettfärbung, während die n-Methylharnstoff-Lösung unverändert bleibt.

Erklärung:

Das Enzym Urease katalysiert die Hydrolyse von Harnstoff, wobei Ammoniak und Kohlendioxid entstehen:



Aufgrund des Ammoniaks bildet sich ein basisches Milieu aus:



Daher kann der Umschlag des Indikators Phenolphthalein zum Nachweis der Hydrolyse dienen. Strukturverwandte Stoffe wie n-Methylharnstoff werden hingegen nicht gespalten, obwohl dies nach Lage der chemischen Potenziale möglich sein sollte, ein Zeichen für die hohe Substratspezifität der Urease.

Entsorgung:

Die Lösungen können dem Abwasser zugeführt werden.

Literatur:

[1] A. Lorenc: „Investigating the Action of Urea“, Science in School, 2008, Bd. 9, S. 39-44