

Enzymatisk bestämning av ureas i sojaböner



Teori: Sojabönan innehåller stora mängder protein. Man kan ersätta kött med sojaböner. Men i sojaböner finns även två proteasinhistorer. Inhibitorerna hämmar matsmältningsenzym och gör rå (okokt) soja oätlig. Tofu och sojasås görs av soja. Om man äter okokta sojaböner, dåligt fermenterad sojasås eller tofu där inte proteinerna har denaturerats ordentligt kan man få ont i magen.

Sojabönan innehåller även enzymet ureas. Ureas katalyserar nedbrytning av urea (även kallad karbamid eller urinämne) till ammoniak och koldioxid. Växten kan återanvända kvävet. Ureas förekommer i magbakterien *Helicobacter pylori*, som kan orsaka magsår/katarr hos människa. I magen kan då pH höjas från ca 3 till 7. Ammoniak är basiskt. Laboratorietest på magkatarr är just förekomsten av ureas. Urea är ett neutralt, vattenlösligt ämne och mindre toxiskt än ammoniak.

När sojabönan kokas förstörs enzymer och inhibitorer. Det är svårt att bestämma halten proteasinhistorer. Då proteasinhistorerna och ureas har samma värmetålighet. Ureas används som ett mått på aktiv inhibitor. Om det inte finns någon ureasaktivitet är även inhibitorerna inaktiva och tvärtom.

Uppgift: Att studera ureasaktiviteten i sojaböner genom att se pH förändring.

Material: Rödkålsindikator eller fenolftalein, en syra (10% citronsyra), en bas (10% bikarbonat, NaHCO_3), 10% urea/(kallas även karbamid), sojabönextrakt, 7 provrör, provrörställ, tratt, filtrerpapper, pipetter.

Risker vid experimentet: Elever kan vara allergiska mot sojamjöl. Använd skyddsglasögon och personlig skyddsutrustning. *En riskbedömning ges av undervisande lärare.*

Preparation av:

a) *rödkålextrakt:* Skär rödkål i små bitar och häll på varm vatten. Låt stå i 5 minuter. Filtrera. Eller tag fenolftalein som indikator.

b) *sojaextrakt:* Blötlägg sojabönorna i minst en timme och helst över natten (1 g sojaböner och 10 cm^3 vatten per grupp). Mixa vatten och böner i ca 5 minuter. Filtrera "sojapurén".

Utförande: Skriv och balansera reaktionen urea bildar ammoniak och vatten

1. Testa indikatorns färger för en syra (citronsyra), en bas(bikarbonat) och vatten (neutralt) och skriv ner färgerna.
2. Märk 4 provrör A, B, C och D och tillsätt enl. schemat nedanför. Koka 4 cm³ sojaextrakt.

| Provrör | A | B | C | D |
|---------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Indikator | 2 cm ³ | 2 cm ³ | 2 cm ³ | 2 cm ³ |
| Urealösning | 2 cm ³ | 2 cm ³ | 2 cm ³ | |
| Sojaextrakt | 2 cm ³ | | | |
| Kokt Soja ext | | 2 cm ³ | | |
| Vatten | | | 2 cm ³ | 4 cm ³ |

3. Läs av färgförändring omedelbart och efter fem minuter. Lukta efter ammoniak!
4. Dra slutsatser angående ureasaktiviteten och ev. förekomst av inhibitor.
5. **Extrauppgift:** Studera temperaturens, pH och koncentrationens inverkan på enzymet.

Övrigt:

Idén omarbetad från: Science in School: Autumn 2008, Issue 9, page 40–44

Till läraren

Riskbedömningsunderlag:

Ammoniak 2M: Frätande, Miljöfarligt, Utropstecken, Fara, H290, H314, H335, H400 och P273, P280, P301+P330+P331, P305+P351+P338, P308+P310

Ammoniak 0,5 M Ej märkespliktigt

Urea, karbamid Livsmedelstillsats E 927b: Faktaunderlag saknas

Ureas: Faktaunderlaget otillräckligt för klassificering. Fara kan inte uteslutas - tillämpa försiktighetsprincipen.

Citronsyra: Utropstecken, Varning, H319 och P264, P280

Bikarbonat: Ej märkespliktigt

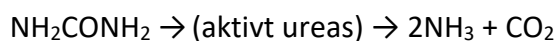
Rödkålsextrakt: Ej märkespliktigt

Fenolftalein: Hälsoskadligt, Varning, H351 och P201, P202, P281, P405

Sojaextrakt: Faktaunderlag saknas

Resultat:

Urea sönderfaller till ammoniak med aktiv ureas. Detta finns endast i provrör A. Efter ca 5 minuter är färgen utvecklad. Det är svårt att känna lukt av ammoniak, särskilt där rödkålsaft används. Använd inte BTB. Men BTB slår om för fort (pH =7) och ger därmed för snabbt och osäkert utslag.



| Indikatorn | sur | neutral | bas |
|------------------|---------|---------|-----------|
| Rödkålsindikator | Röd | Violett | Grön |
| Fenolftalein | Ofärgad | Ofärgad | Ceriseröd |

| Provrör | A | B | C | D |
|------------------|-----------------|---------------------|--------------|------------------|
| Resultat | Ureas är aktivt | Ureas har förstörts | Saknar enzym | Endast indikator |
| Rödkålsindikator | Grön | Violett | Violett | Violett |
| Fenolftalein | Ceriseröd | Ofärgad | Ofärgad | Ofärgad |

”Risker vid experimentet” gäller endast de kemikalier som nämnts, under förutsättning att beskrivna koncentrationer, mängder och metod används.

Som lärare förväntas du göra en fullständig riskbedömning för dig själv och din elevgrupp.