

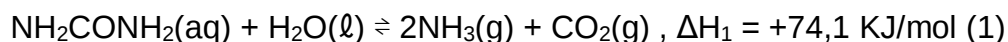
Κινητική μελέτη της διάσπασης της ουρίας υπό την επίδραση της ουρεάσης

Ονοματεπώνυμο:.....



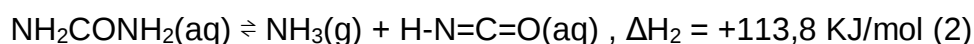
Η ουρία ήταν η πρώτη οργανική ουσία που συντέθηκε. Το 1828, ο Friedrich Wöhler συνέθεσε ουρία από ανόργανες ενώσεις. Αυτό το επίτευγμα ήταν ορόσημο, καθώς μέχρι τότε πιστευόταν ότι μόνο οι ζωντανοί οργανισμοί μπορούν να συνθέσουν οργανικές ουσίες. Αυτές οι ουσίες θεωρούνταν ξεχωριστές και θεωρούνταν ότι απαιτούσαν μια «ζωϊκή δύναμη» για να δημιουργηθούν. Ο Wöhler γεφύρωσε το χάσμα αυτό μεταξύ του έμβιου και του άβιου κόσμου.

Κατά τη διάλυση της ουρίας στο νερό, διασπάται βραδέως προς αμμωνία και διοξείδιο του άνθρακα.



Ο μηχανισμός της αντίδρασης αποτελείται από τα εξής στάδια:

- Διάσπαση ουρίας προς αμμωνία και ισοκυανικό οξύ:



- Υδρόλυση ισοκυανικού οξέος προς καρβαμιδικό οξύ:

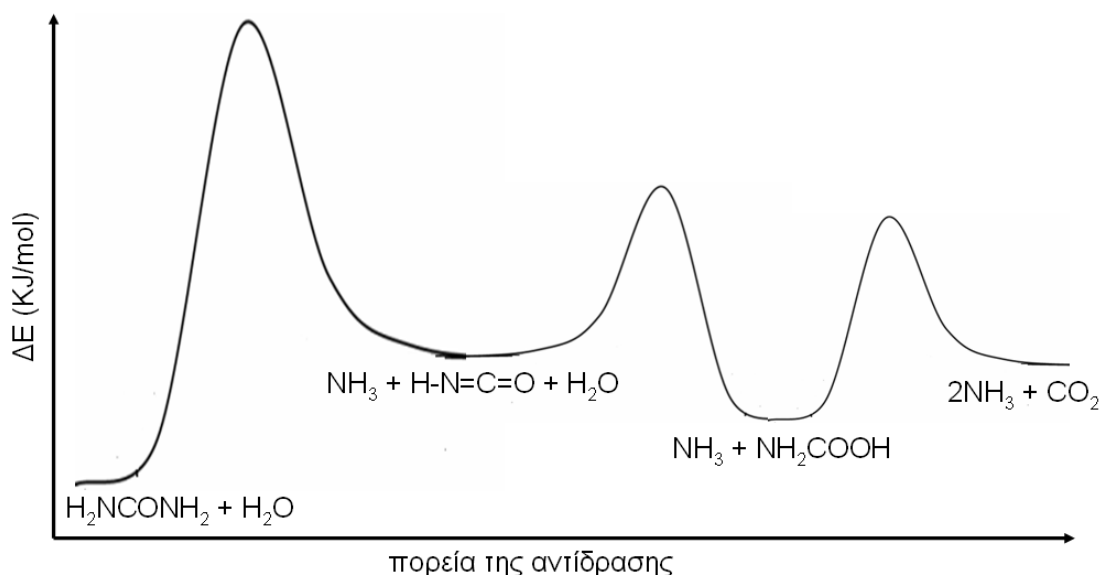


- Διάσπαση καρβαμιδικού οξέος προς αμμωνία και διοξείδιο του άνθρακα:



Η αντίδραση (2), είναι η πιο αργή και είναι αυτή που καθορίζει το νόμο της ταχύτητας της αντίδρασης που δίνεται από την εξίσωση (5):

$$v = k \cdot [\text{NH}_2\text{CONH}_2] \text{ (5)}$$



Η υδρόλυση της ουρίας καταλύεται από το ένζυμο ουρεάση. Η ουρεάση από φασόλια σόγιας (*Canavalia ensiformis*) έγινε το πρώτο ένζυμο που καθαρίστηκε και κρυσταλλώθηκε, το 1926, από τον James B. Sumner. Η κρυστάλλωση των πρωτεϊνών βοηθάει τους επιστήμονες να ανακαλύψουν τη δομή τους και να μάθουν τη λειτουργία τους. Αυτή η γνώση επιτρέπει το σχεδιασμό ουσιών που επεμβαίνουν στην ενζυμική δράση, όπως τα φάρμακα κατά του AIDS που εμποδίζουν τα ένζυμα του ιού HIV να δράσουν.

Το συγκεκριμένο φύλλο εργασίας, θα το βρείτε στη σελίδα:

<https://alchemy-lessons.webnode.gr/c-lykeioy/>

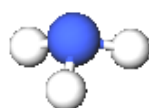
Πολλά είδη βακτηριδίων παράγουν ουρεάση, περιλαμβανομένου και του ελικοβακτηριδίου του πυλωρού (*Helicobacter pylori*), του βακτηριδίου που είναι υπεύθυνο για το έλκος του στομάχου. Κατ' αυτόν τον τρόπο το ελικοβακτηρίδιο του πυλωρού αυξάνει το pH των γαστρικών υγρών περίπου από 3 σε 7, που είναι και το κατάλληλο pH για την ανάπτυξή του.

Τα μηρυκαστικά (όπως οι αγελάδες και τα πρόβατα) έχουν βακτήρια στην άνω κοιλία τους, τα οποία συμβάλλουν στην πέψη της κυτταρίνης και τα βοηθούν να πέψουν την φυτική τους τροφή. Τα μηρυκαστικά εκκρίνουν ουρία σ' αυτό το τμήμα του στομάχου τους, καθώς η ουρία είναι πολύ καλή πηγή αζώτου για τη βακτηριδιακή ανάπτυξη. Για να παραλάβουν το άζωτο, τα βακτήρια εκκρίνουν ουρεάση για να διασπάσουν την ουρία.

Περίσσειμα αζώτου. Η ουρία, το ουρικό οξύ και η αμμωνία είναι οι ουσίες με τη μορφή των οποίων αποβάλλεται το περίσσειμα του αζώτου από τους οργανισμούς. Το άζωτο αυτό προέρχεται: (α) από τον μεταβολισμό των πρωτεϊνούχων τροφών (άζωτο από τα αμινοξέα) και (β) από τον καταβολισμό των πουρινικών βάσεων του DNA και RNA (όπως της **γουανίνης** και της **αδενίνης**) οι οποίες προσλαμβάνονται με την τροφή ή απελευθερώνονται κατά τη φυσιολογική (ή μη) καταστροφή των κυττάρων του οργανισμού.

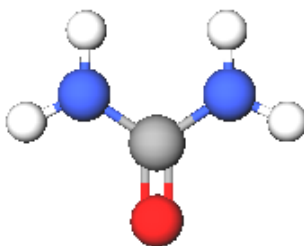
Ανάλογα με το τρόπο με τον οποίο αποβάλλουν το περίσσειμα του αζώτου, οι οργανισμοί, διακρίνονται σε:

α) **αμμωνιοτελικούς**, που αποβάλλουν το περίσσειμα του αζώτου ως αμμωνία (ψάρια και άλλοι υδρόβιοι οργανισμοί),



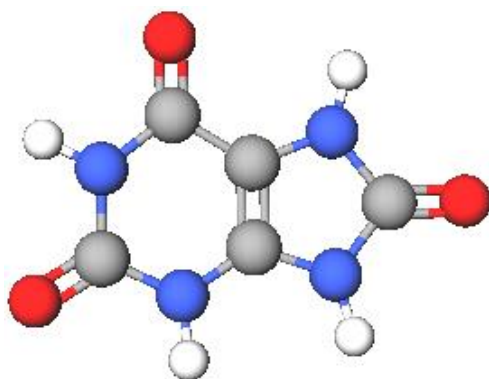
αμμωνία

β) **ουριοτελικούς**, που αποβάλλουν το περίσσειμα του αζώτου ως ουρία (άνθρωπος, θηλαστικά, πολλά αμφίβια και ορισμένα ψάρια) και



ουρία

γ) **ουρικοτελικούς**, που αποβάλλουν το περίσσειμα του αζώτου ως ουρικό οξύ (έντομα, πτηνά, ερπετά).



ουρικό οξύ

Ο άνθρωπος και τα θηλαστικά, ως ουριοτελικοί οργανισμοί αποβάλλουν το περίσσειμα του αζώτου των τροφών (πρωτεϊνών) με τη μορφή ουρίας και μόνο τις πουρινικές βάσεις, από την τροφή τους ή από τη φθορά των ίδιων των κυττάρων τους, αποβάλλουν ως ουρικό οξύ.



Πείραμα 1ο: Ανακαλύπτοντας τη δράση της ουρεάσης

Σε αυτό το πείραμα οι μαθητές θα μελετήσουν τη δράση ενός ενζύμου, της ουρεάσης. Η ουρεάση διασπά το υπόστρωμα (ουρία) σε διοξείδιο του άνθρακα και αμμωνία. Η αμμωνία, διαλυόμενη στο νερό, αυξάνει το pH, γεγονός που γίνεται αντιληπτό με τη χρωματική αλλαγή του δείκτη κόκκινο λάχανο.

Υλικά και εξοπλισμός:

Θα χρειαστούμε για κάθε μαθητή ή ομάδα μαθητών:

20 mL 10% διαλύματος ουρίας

5 mL 5-10% διαλύματος οξικού οξέος

5 mL 5-10% διαλύματος διττανθρακικού νατρίου (NaHCO_3)

40 mL δείκτη κόκκινου λάχανου

10 mL εκχυλίσματος από φασόλια σόγιας

10 mL απεσταγμένου νερού

πιπέτες Παστέρ

6 δοκιμαστικοί σωλήνες και ένα στατώ για τους δοκιμαστικούς σωλήνες.



Για την παρασκευή του δείκτη κόκκινου λάχανου:

Κόψτε δυο μεγάλα φύλλα κόκκινου λάχανου σε μακριές λωρίδες και τοποθετείστε τις σε ένα ποτήρι ζέσεως. Ρίξτε 200 mL ζεστού απιονισμένου νερού, βυθίζοντας εντελώς τα φύλλα. Μετά από 5 λεπτά, αποστάξτε το υγρό και αφήστε το να κρυώσει.

Εκχύλισμα φασολιών σόγιας:

Βυθίστε τα φασόλια σόγιας στο νερό για τουλάχιστον μία ώρα (προτιμότερο κατά τη διάρκεια της νύχτας). Έπειτα αναμείξτε τα μουσκεμένα φασόλια σόγιας σε ένα μπλέντερ με περίπου 10 mL νερό ανά γραμμάριο ξηρής σόγιας (μπορεί να χρησιμοποιηθεί το νερό στο οποίο βυθίσατε τα φασόλια σόγιας) μέχρι το μείγμα να γίνει μαλακό (για περίπου 5 λεπτά). Στη συνέχεια φιλτράρετε τον πουρέ σόγιας με διηθητικό χαρτί και κρατήστε το διήθημα, το οποίο περιέχει ουρεάση.

Ελέγξτε πώς το pH αλλάζει το χρώμα του δείκτη κόκκινου λάχανου:

Ρίξτε 3 mL δείκτη κόκκινου λάχανου σε κάθε έναν από τρεις δοκιμαστικούς σωλήνες.

- Προσθέστε 1-2 mL διαλύματος οξικού οξέος στον πρώτο δοκιμαστικό σωλήνα. Ανακατέψτε και καταγράψτε τη χρωματική αλλαγή.

Ξεπλύνετε την πιπέτα με νερό μετά την προσθήκη κάθε ουσίας.

- Προσθέστε 1-2 mL απεσταγμένου νερού στον δεύτερο δοκιμαστικό σωλήνα. Ανακατέψτε και καταγράψτε τη χρωματική αλλαγή.

Σχεδιασμός φύλλου εργασίας: Καμβίσιος Ευάγγελος
Απόφοιτος ΑΠΘ τμήματος Χημείας

- Προσθέστε 1-2 mL διαλύματος διττανθρακικής σόδας στον τρίτο δοκιμαστικό σωλήνα. Ανακατέψτε και καταγράψτε τη χρωματική αλλαγή.

Διάλυμα αναφοράς	Χρώμα δείκτη κόκκινου λάχανου
οξικού οξέος	
απεσταγμένου νερού	
διττανθρακικής σόδας	

Κρατήστε τους σωλήνες ως δείγματα αναφοράς.

Διερευνήστε την επίδραση της ουρέασης στην ουρία.

- Τοποθετήστε από 2 mL του δείκτη κόκκινου λάχανου σε κάθε έναν από τρεις δοκιμαστικούς σωλήνες.
- Προσθέστε από 2 mL του διαλύματος ουρίας, στους δυο πρώτους δοκιμαστικούς σωλήνες.
- Προσθέστε από 2 mL του διηθήματος της σόγιας στον δεύτερο και τρίτο δοκιμαστικό σωλήνα.

Συγκρίνετε τα χρώματα και τις οσμές των μειγμάτων σε όλους τους σωλήνες. Επαναλάβετε τη σύγκριση έπειτα από 3 λεπτά.



Περίπου το 1% των παιδιών μπορεί να είναι αλλεργικά στο εκχύλισμα των φασολιών σόγιας.

Χρώμα του δείκτη κόκκινου λάχανου αναλόγως το pH.



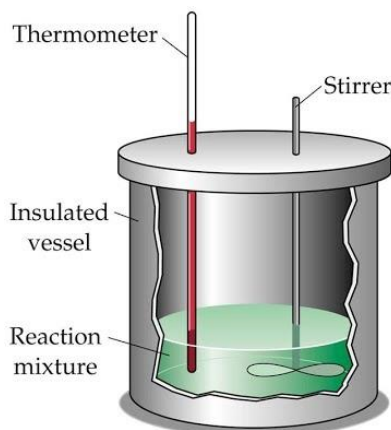
Διάλυμα	Χρώμα δείκτη	Οσμή
δείκτη + ουρίας		
δείκτη + ουρίας + σόγιας		
δείκτη + σόγιας		

Σχεδιασμός φύλλου εργασίας: Καμβίσιος Ευάγγελος
Απόφοιτος ΑΠΘ τμήματος Χημείας

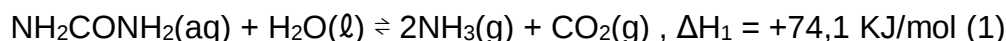


Άσκηση 1η: Εύρεση περιεκτικότητας αζωτούχου λιπάσματος σε ουρία

Διαλύουμε 6 g αζωτούχου λιπάσματος στο εκχύλισμα από φασόλια σόγιας που παρασκευάσαμε προηγουμένως και τοποθετούμε το μείγμα στο θερμιδόμετρο του σχήματος.

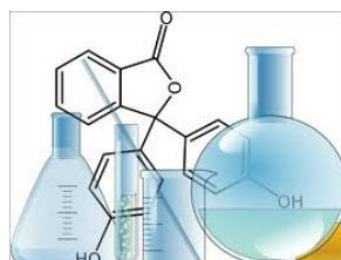


Έχοντας υπ' όψιν τη θερμοχημική εξίσωση της υδρόλυσης της ουρίας:

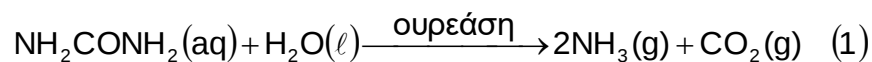


Αν το ποσό της θερμότητας που απορροφήθηκε από το περιβάλλον ήταν **7,41KJ** να βρεθεί το ποσοστό του λιπάσματος σε ουρία.

Τα ένζυμα παρουσιάζουν εξειδίκευση ως προς την αντίδραση που καταλύουν. Οπότε οι τυχών προσμίξεις δεν αντιδρούν με την ουρεάση.



Αν η αντίδραση (1) που διεξήχθη στο θερμιδόμετρο υπό την επίδραση της ουρεάσης,



πραγματοποιηθεί τώρα χωρίς την επίδραση του ενζύμου, ακολουθώντας τα βήματα των αντιδράσεων (2), (3) και (4), ενδιάμεσα βήματα της (1), τι από τα παρακάτω θα συμβεί;

- α) θα ελαττωθεί το ΔH της αντίδρασης,
- β) θα ελαττωθεί ο χρόνος περάτωσης της αντίδρασης,
- γ) δεν θα αλλάξει τίποτα από τα παραπάνω,
- δ) θα ελαττωθεί και ο χρόνος και η ενθαλπία της αντίδρασης.
- ε) θα αυξηθεί ο χρόνος της αντίδρασης και η ενέργεια ενεργοποίησής της καθώς θα αλλάξει ο μηχανισμός της χωρίς την επίδραση του ενζύμου.



Άσκηση 2η: Εύρεση του pH διαλύματος αμμωνίας

Η αμμωνία που **παρήχθη** από την άσκηση 1, απομονώθηκε και διαλύθηκε σε νερό παρασκευάζοντας υδατικό **διάλυμα** όγκου 2L.

A) Τοποθετούμε 25 mL του διαλύματος της αμμωνίας σε κωνική φιάλη και προσθέτουμε μερικές σταγόνες κατάλληλου δείκτη και ογκομετρούμε με πρότυπο διάλυμα HCl 0,1 M.

A1) Ποιον από τους παρακάτω δείκτες θα επιλέγατε;

α) Φαινολοφθαλεΐνης $pK_a = 9,7$

β) Πορτοκαλί του μεθυλίου (ηλιανθίνη) $pK_a = 3,7$

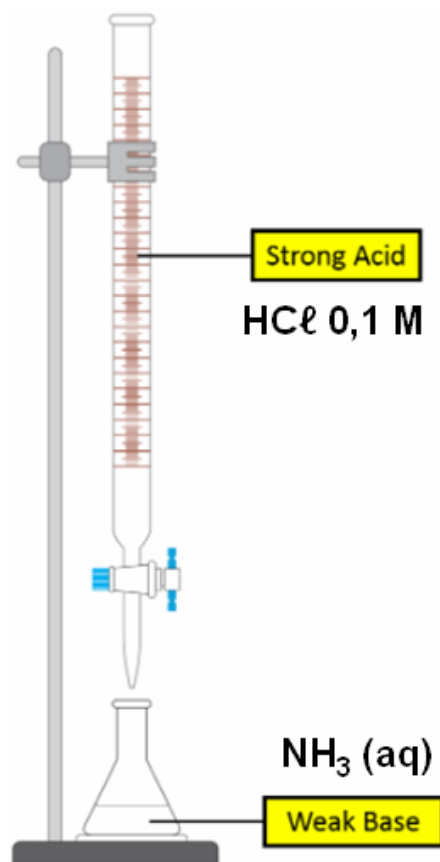
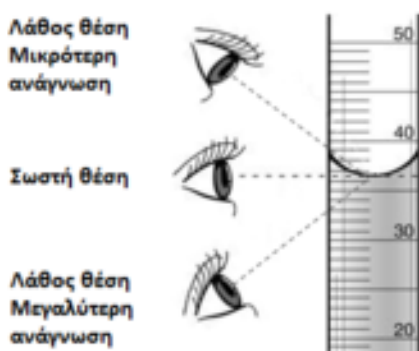
γ) Κυανό της βρωμοθυμόλης $pK_a = 7,3$

A2) Ποιος ο **όγκος** του προτύπου διαλύματος HCl που καταναλώθηκε;

B) Τοποθετούμε 25 mL του διαλύματος της αμμωνίας σε κωνική φιάλη και γεμίζουμε την προχοΐδα με το πρότυπο διάλυμα HCl 0,1M. Έπειτα ρυθμίζουμε τη στρόφιγγα της προχοΐδας ώστε να στάζει με αργό ρυθμό το πρότυπο διάλυμα στην κωνική φιάλη και καταγράφουμε με ένα ηλεκτρονικό πεχάμετρο πως διαμορφώνεται το pH του διαλύματος καθώς σταδιακά εξουδετερώνεται σε συνάρτηση με τον όγκο του προτύπου διαλύματος που καταναλώθηκε και σχεδιάζουμε την **καμπύλη της ογκομέτρησης**.



ΥΠΟΔΕΙΞΗ: Για τη σωστή εκτίμηση του όγκου του υγρού που περιέχεται στην προχοΐδα, η παρατήρηση πρέπει να γίνεται κάθετα προς την προχοΐδα στο ύψος εκείνης της χαραγής, η οποία συμπίπτει με την εφαπτομένη στο κάτω μέρος του μηνίσκου του υγρού.



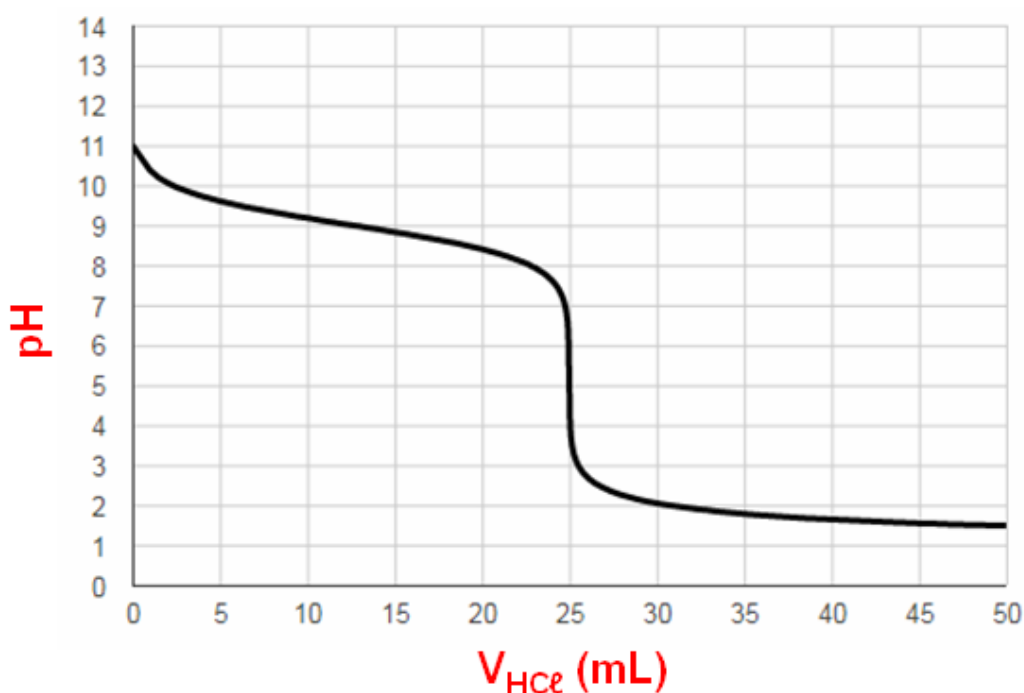
Σε περίπτωση που το διάλυμα του HCl στο εργαστήριο του σχολείου σας είναι πυκνότερο από 0,1M θα χρειαστεί να το αραιώσετε, να θυμάστε:



ΠΡΟΣΟΧΗ: Κατά την αραιώση πυκνών οξέων, προσθέτεις, υπό ελαφρά ανάδευση, το οξύ στο νερό. Ποτέ το αντίστροφο.

Σχεδιασμός φύλλου εργασίας: Καμβΐσιος Ευάγγελος
Απόφοιτος ΑΠΘ τμήματος Χημείας

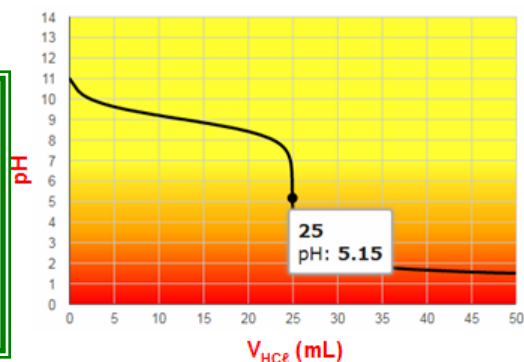
Η καμπύλη της ογκομέτρησης είναι η εξής:



Αν στο **ισοδύναμο** σημείο το $pH = 5,15$

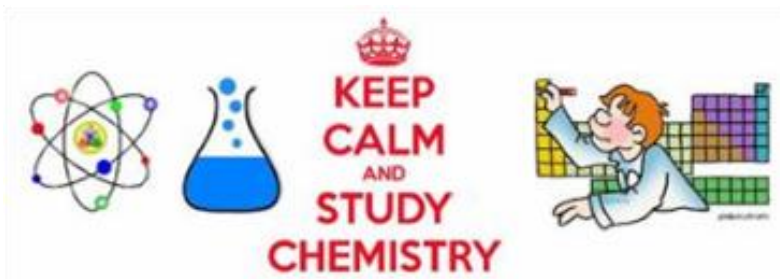
Για τη σχεδίαση της καμπύλης ογκομέτρησης επισκεφτείτε το σύνδεσμο:

<https://iwant2study.org/lookangejss/chemistry/WBSA.html>



B1) Να βρεθεί η K_b της **αμμωνίας** αν ισχύουν όλες οι γνωστές προσεγγίσεις.

B2) Να βρεθεί το pH του διαλύματος όταν θα έχει προστεθεί ο **μισός** όγκος του υδροχλωρικού οξέος που απαιτείται για το ισοδύναμο σημείο.



B3) Απαντήστε στις παρακάτω ερωτήσεις:

- 1) Η ογκομέτρηση αυτή είναι οξυμετρία ή αλκαλιμετρία;
- 2) Ποιο το pH του **αρχικού** διαλύματος της αμμωνίας;
- 3) Όταν προστεθεί ο μισός ο όγκος του υδροχλωρικού οξέος από τον απαιτούμενο για το ισοδύναμο σημείο, τι διάλυμα έχουμε στην κωνική φιάλη;

Σχεδιασμός φύλλου εργασίας: Καμβίσιος Ευάγγελος
Απόφοιτος ΑΠΘ τμήματος Χημείας