

Versuche zur Katalase

H_2O_2 ist ein starkes Zellgift, das in den **Peroxisomen** der Leber- und Nierenzellen gebildet wird, um giftige Alkohole und Aldehyde durch Oxidation unschädlich zu machen. Überschüssiges H_2O_2 wird durch das Enzym **Katalase** schnell wieder zu Wasser und Sauerstoff abgebaut. Katalase ist in allen Organen von **Tieren** und **Pflanzen** und den meisten **Mikroorganismen** vorhanden. Nur **Pilze** und bestimmte Bakterien können es nicht bilden.

Im Haushalt verwendet man Katalase, um mit H_2O_2 gereinigte **Kontaktlinsen** vor dem erneuten Gebrauch von H_2O_2 zu befreien.

Zu dem gleichen Zweck setzt man in der Technik das Salz **Braunstein** (Mangandioxid MnO_2) ein. Es ist preiswert und unempfindlich aber weniger spezifisch und weniger wirksam als Katalase.

Chemikalien:

rohe Kartoffeln, Banane, Hefe oder Blut, Braunstein Mangandioxid MnO_2 , Kupfersulfat $CuSO_4$, 30 % iges Wasserstoffperoxid H_2O_2 (Vorsicht: giftig und ätzend, **Schutzbrille!**), dest. Wasser, Ethanol, konz. Natronlauge, konz. Salzsäure

Geräte:

8 kleine und **saubere** (!) Reagenzgläser mit Reagenzglasständer, Thermometer 0 – 100°C, Reibeisen mit Schüssel oder Petrischale, 3 Bechergläser 100 ml, Spatel, Brenner mit Dreifuß und Drahtnetz, Glimmspan

Durchführung:

6 bzw. 8 Reagenzgläser werden gemäß den untenstehenden Angaben eingerichtet. Nachdem sich die gewünschte Temperatur eingestellt hat, wird 1 ml H_2O_2 -Lösung mit der Pipette hinzugefügt. Das entstehende Gas wird beim ersten Reagenzglas mit der Glimmspanprobe nachgewiesen. Die Reaktionsgeschwindigkeit wird in der rechten Spalte wie folgt notiert:

0: sehr langsame Reaktion, +: langsame Reaktion, ++: schnelle Reaktion, +++: sehr schnelle Reaktion

Abhängigkeit von der Temperatur

RG	Lösung	Temperatur	Reaktionsgeschwindigkeit
1	5 ml dest. Wasser + 1 Kristall Braunstein	0°C	
2	5 ml dest. Wasser + 1 Kristall Braunstein	40°C	
3	5 ml dest. Wasser + 1 Kristall Braunstein	90°C	
4	5 ml dest. Wasser + 1 Tropfen Katalase-Lösung	0°C	
5	5 ml dest. Wasser + 1 Tropfen Katalase-Lösung	40°C	
6	5 ml dest. Wasser + 1 Tropfen Katalase-Lösung	90°C	

Empfindlichkeit gegenüber Enzym- und Katalysatorgiften

RG	Lösung	Zusatz	Reaktionsgeschwindigkeit
1	5 ml dest. Wasser + 1 Kristall Braunstein	5 ml Ethanol	
2	5 ml dest. Wasser + 1 Kristall Braunstein	1 ml konz HCl	
3	5 ml dest. Wasser + 1 Kristall Braunstein	1 ml konz NaOH	
4	5 ml dest. Wasser + 1 Kristall Braunstein	1 Spatelspitze $CuSO_4$	
5	5 ml dest. Wasser + 1 Tropfen Katalase-Lösung	5 ml Ethanol	
6	5 ml dest. Wasser + 1 Tropfen Katalase-Lösung	1 ml konz HCl	
7	5 ml dest. Wasser + 1 Tropfen Katalase-Lösung	1 ml konz NaOH	
8	5 ml dest. Wasser + 1 Tropfen Katalase-Lösung	1 Spatelspitze $CuSO_4$	

Fragen:

1. Formulieren Sie die Reaktionsgleichung für den Zerfall von H_2O_2 .
2. Wodurch ist die bei einigen Ansätzen zu beobachtende Schaumentwicklung zu erklären?
3. Beschreiben und erklären Sie die Temperaturabhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit bei Braunstein und Katalase.
4. Beschreiben und erklären Sie die Wirkung der sogenannten Enzym- und Katalysatorgifte mit Hilfe der zwischenmolekularen Kräfte.
5. Erklären Sie die Begriff Substratspezifität (Welcher Stoff ist das Substrat?) und Wirkungsspezifität (Worin besteht die Wirkung?) an dieser Reaktion.

Die Rolle der Katalase beim Alkoholabbau

Ca. 75 % des getrunkenen **Ethanol**s werden im **Cytosol** der Leberzellen zu dem noch giftigeren **Ethanal** oxidiert, wobei aber immerhin 1 Molekül NADH gewonnen wird, welches in der **Atmungskette** zu 3 Molekülen ATP verwertet wird:



Das Ethanal wird in den **Mitochondrien** zu **Ethansäure** weiteroxidiert, welche im **Citratzyklus** abgebaut wird:



Die restlichen 25 % des getrunkenen **Ethanol**s werden in den **Peroxisomen** der Leber- und Nierzellen mit Hilfe von **Wasserstoffperoxid** H_2O_2 oxidiert, welches durch eine spezielle Variante der **β -Oxidation** von **Fettsäuren** freigesetzt wird:

1. Schritt. Oxidation einer aktivierten Fettsäure: (Acyl-CoA-Oxidase)
 $\text{FAD} + \text{R}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{SCoA} \rightarrow \text{FADH}_2 + \text{R}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}-\text{SCoA}$.

2. Schritt: Bildung von H_2O_2 :
 $\text{FADH}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{FAD} + \text{H}_2\text{O}_2$

3. Schritt: Oxidation von Ethanol zu Ethanal: (Katalase)
 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{CHO} + 2 \text{H}_2\text{O}$

oder Oxidation eines 2. Moleküls H_2O_2 : (Katalase)
 $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$

Im Gegensatz zum Standardabbau im Cytosol wird hier nicht Energie gewonnen, sondern sogar 1 Molekül FAD (entspricht 2 Molekülen ATP) verbraucht!

Mechanismus:

Wie bei der Cytochromoxidase oder beim Myoglobin befindet sich im aktiven Zentrum der Katalase sich ein Fe^{2+} -Ion, welches ein O_2 -Molekül koordinativ binden kann und dabei die Oxidationszahl +III annimmt. Cyanid-Ionen besetzen das aktive Zentrum und blockieren die Katalase ebenso wirksam wie die Cytochromoxidase oder das Myoglobin.

Die katalytische Wirkung von MnO_2 beruht vermutlich ebenfalls auf der Fähigkeit des Mn^{4+} -Ions, O_2 koordinativ zu binden und dabei höhere Oxidationsstufen anzunehmen.