

---

Ivan Pavićević

## Ispitivanje katalitičkog dejstva vodenog ekstrakta različitih vrsta semena na razlaganje vodonik-peroksida

---

*Ispitivana je aktivnost katalaze dobijene iz vodenog ekstrakta semena sedam biljnih vrsta (pasulja, pšenice, ječma, kukuruza, raži, soje i prosa) na razlaganje vodonik-peroksida. Ispitivanje je rađeno modifikovanom metodom po Omarin-u prilagođenom za vodeni biljni ekstrakt. Nađeno je da je aktivnost katalaze najveća u semenu pasulja. Slede kukuruz, soja, raž, sočivo, pšenica, proso, a najmanja aktivnost katalaze zabeležena je u semenu ječma. Takode je nađeno i da se aktivnost katalaze smanjuje povećanjem starosti semena.*

---

### Uvod

U toku ćelijskog disanja dolazi do reakcije između kiseonika i vodonika pri čemu nastaje i vodonik-peroksid. Peroksidi su veoma toksični, jer izazivaju oksidativne promene u tkivima (Ziegler 1988), zbog čega postoji sistem enzima, katalaza i peroksidaza, koji katališu razlaganje stvorenog vodonik-peroksida. Katalaza je veoma rasprostranjena u biljnim i životinjskim tkivima. Istraživanja na životinjama su pokazala da je katalaza najaktivnija u mišićnim ćelijama i ćelijama jetre što je objašnjeno velikom aktivnošću ovih ćelija (Szczeklika 1974).

U ovom radu je ispitivana aktivnost katalaze na biljnom uzorku s namerom da se pokaže da je ona karakteristična za određenu vrstu. Aktivnost katalaze je testirana u semenima sedam različitih biljnih kultura, i pri tome u više različitih sorti iste vrste. Budući da spada u red za život neophodnih enzima, prisustvo katalaze je važno pri određivanju starosti biljnog semena, tj. sposobnosti za klijavost. Stoga je praćena i zavisnost aktivnosti katalaze od starosti semena.

### Katalaza

Katalaza je gvožđe-porfirin proteid (hemoprotein) koji u svom molekulu sadrži četiri hema. Molekulska masa katalaze je oko 225000 g/mol i sadrži

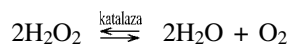
---

*Ivan Pavićević  
(1984), Varvarin, 14.  
oktobar 4, učenik 3.  
razreda Gimnazije u  
Varvarinu*

4 grama gvožđa po molu. U aktivnom centru katalaze nalazi se hem koji je preko vinilnih grupa vezan za tio grupe cisteina i tako i za proteinski deo enzima (Martin 1989). Iz ovoga se vidi da je hem katalaze veoma sličan hemu krvnog pigmenta hemoglobina koji je zadužen za transport kiseonika. Tačnije u katalazi se nalazi hem b koji se nalazi i u aktivnim centrima mnogih drugih enzima (citohroma tipa b, peroksidaza, oksigenaza).

Katalaza se nalazi u gotovo svim životinjskim (krv, koštana srž, jetra, mukozne membrane) i biljnim (pre svega u peroksizomima) tkivima. Katalaza iz peroksizoma aktivno učestvuje u ćelijskom disanju razarajući vodonik-peroksid koji pri tome nastaje. Time katalaza potpomaže proces fotosinteze, ali i obezbeđuje izvesnu količinu energije pošto je reakcija raspadanja vodonik-peroksida egzotermna (Zigler 1989).

U uslovima *in vivo* favorizovana je peroksidazna aktivnost katalaze:



Katalaza je u stanju da koristi jedan molekul vodonik-peroksida kao supstrat koji daje elektrone, a drugi molekul vodonik-peroksida kao oksidans ili akceptor elektrona.

## Materijal i metode

Za ispitivanje su korišćena semena sedam biljnih kultura: pasulja, pšenice, ječma, raži, kukuruza, soje i prosa. Za neke vrste je ispitivano seme više različitih sorti – upotrebljene su: četiri sorte pasulja (beli pasulj, crveni pasulj, zeleni i crni mungo pasulj), dve sorte pšenice (crvena i bela) i dve sorte soje (bela, crna).

Aktivnost katalaze je određivana pod sledećim uslovima: temperatura od 25°C do 28°C, pH ekstrakta od 6.3 do 7.0; vazdušni pritisak nije kontrolisan. Korišćena je metoda po Omarin-u, modifikovana tako da su količina supstrata i način ekstrakcije katalaze prilagođeni za vodeni biljni ekstrakt (Szczeplika 1974).

Ekstrakcija je izvedena destilovanom vodom iz fino usitnjenog brašna sveže samlevenog semena odgovarajuće vrste, u trajanju od 4 časa uz dodatak male količine toluena kao antiseptika (2 g brašna u 50 cm<sup>3</sup> vode i 2 kapi toluena). Ekstrakt je zatim ceđen, a filtrat podeljen na dva dela, pri čemu je jedan deo korišćen kao kontrolni uzorak. Kontrolni uzorak je kuvan radi uništavanja (denaturacije) katalaze. Nakon hlađenja u oba dela dodata su po 3 cm<sup>3</sup> vodonik-peroksida (1%). Aktivnost katalaze se nakon 30 minuta prekida dodavanjem 5 cm<sup>3</sup> sumporne kiseline (10%), a preostali vodonik-peroksid se određuje permanganometrijski. Količina razorenog vodonik-peroksida je određivana iz razlike rezultata za uzorak i kontrolnu

probu, pri čemu je moguća aktivnost peroksidaze prema vodonik-peroksidu zanemarena budući da peroksidaza katalizuje reakciju redukovanja vodonik-peroksida koristeći kao akceptore elektrona askorbat, hinone, cithrom c (Martin 1989).

## Rezultati i diskusija

Rezultati aktivnosti katalaze su prikazani u tabeli 1. Ispitivane vrste semena bile su roda 1999. godine. Aktivnost je prikazana u internacionalnim jedinicama koje su u upotrebi od 1960 (Karlson 1989).

Tabela 1. Aktivnost katalaze vodenog ekstrakta različitih vrsta semena

Seme	Aktivnost katalaze [mol/min]
pasulj	30.24 ± 0.04
kukuruz	22.24 ± 0.02
soja	21.39 ± 0.02
raž	17.83 ± 0.01
sočivo	14.29 ± 0.02
pšenica	7.64 ± 0.01
proso	4.36 ± 0.01
ječam	1.15 ± 0.01

Dobijeni rezultati ukazuju da je aktivnost katalaze veoma izražena kod pasulja. Kod ostalih semena, koja su monokotiledona, aktivnost katalaze je znatno manja.

Uočljivo je i značajno opadanje aktivnosti katalaze (tabela 2) povećanjem starosti monokotiledonih semena, što je u skladu sa time da su monokotiledone biljke uglavnom jednogodišnje.

Tabela 2. Aktivnost katalaze u semenu različite starosti

Seme	Aktivnost katalaze [mol/min]
pasulj 1999.	30.24±0.04
pasulj 1998.	29.48±0.03
pasulj 1997.	17.48±0.03
pšenica 2000.	15.92±0.01
pšenica 1999.	7.64±0.01
ječam 2000.	5.96±0.01
ječam 1999.	1.15±0.01

Rezultati za četiri ispitivane sorte pasulja (beli pasulj sorta galeb, crveni pasulj, zeleni i crni mungo pasulj) se gotovo nisu razlikovali (tabela 3); isti slučaj je i za ispitivane sorte pšenice (crvena, bela) i soje (bela, crna), što govori da su genetske predispozicije za određeni enzim kod iste vrste za sve sorte veoma slične (Ziegler 1988).

Tabela 3. Aktivnost katalaze u različitim sortama iste vrste

Seme	Aktivnost katalaze [mol/min]
beli pasulj	30.23±0.04
crveni pasulj	30.23±0.04
zeleni mungo pasulj	30.23±0.04
crni mungo pasulj	30.23±0.04
bela pšenica	7.64±0.01
crvena pšenica	7.66±0.01
bela soja	21.39±0.02
crna soja	21.40±0.02

## Zaključak

Aktivnost katalaze je među ispitivanim vrstama semena najveća kod pasulja što je i očekivano (pasulj je dikotiledona biljka). Iznenadujuća aktivnost katalaze se javila kod raži i znatno je veća od aktivnosti katalaze iz pšenice. Takođe je i aktivnost katalaze iz pšenice znatno veća od aktivnosti katalaze iz ječma što je u suprotnosti sa teorijski predviđenim aktivnostima (Szczeklika 1974). Povećanjem starosti semena aktivnost katalaze se znatno smanjuje (sem kod pasulja od jedne i dve godine starosti, što se objašnjava dikotiledonim karakterom njegovog semena) što je u skladu sa polaznom hipotezom.

## Literatura

- Martin D., Mayes P., Rodwell V., Granner D. 1989. *Harperov pregled Biohemije*. Beograd: Savremena administracija
- Karlson P. 1989. *Biokemija*. Zagreb: školska knjiga
- Voet D., Voet J.G. 1990. *Biochemistry*. New York: John Willey & Sons
- Ziegler D. 1988. *Botanika*. Zagreb: školska knjiga
- Niketić V. 1995. *Principi strukture i aktivnosti proteina*. Beograd: Hemijski fakultet
- Savić J., Savić M. 1990. *Osnovi analitičke hemije*. Sarajevo: Svjetlost
- Szczeklika E. 1974. *Enzimologija klinična*. Warszawa

## Catalase Activity in Plant Seeds

The cell' breathing processes produce hydrogen peroxide. Peroxides, in general, are very toxic; they cause oxidative changes in tissues, so they need to be immediately removed from the cells (Ziegler 1988). The enzymes, peroxidase and catalase remove hydrogen peroxide from the cells in two different ways. Catalase is often found in plant and animal tissues. The research on animals showed the highest activity of catalase in the muscle and liver cells (Szczeklika 1974). The result was explained by higher activity of these cells.

In this project the activity of catalase was analyzed in plant samples. Research was based on how the activity depended on plant species. Seven different plant species, including different sorts of the same species, were tested for catalase activity.

Catalase is used in cell processes and the rate of its activity is an important factor in seed age predicting. Furthermore, the catalase activity was analyzed in seeds depending on age.

Among the analyzed seed samples, the highest level of catalase activity was found in seeds of beans. This was an expected result, because beans are dicotyledonous. The activity in rye was higher than the activity in wheat, and the activity in wheat was higher than the activity in barley. This was in contrast with theoretical values examined approximately (Szczeklika 1974). Ageing of seeds decreases catalase activity. This confirms the hypothesis. The only exception was catalase activity in beans that were one or two years old.

