

Téma: Vlastnosti a reakce bílkovin

Úkol: Proved'te důkazy a některé reakce bílkovin

Pomůcky: zkumavky, pipety, kádinka, skleněná tyčinka, vodní lázeň, kahan, síťka s azbestem, pH papírek, váhy

Chemikálie: roztok vaječného bílku (v 50 cm³ vody), mléko, krystalická močovina, 5% roztok CuSO₄, 10% roztok NaOH, 5% roztok Pb(NO₃)₂, AgNO₃, konc. NH₃, konc. HNO₃

1. Biuretová reakce

- do zkumavky nalijte asi 2 cm³ roztoku vaječného bílku, protřepejte a přidejte stejný objem roztoku NaOH
- po důkladném promíchání přidávejte po kapkách roztok CuSO₄ až do vzniku modrofialového zbarvení (možno mírně zahřát).

Stejný pokus proved'te i s mlékem (popř. kaseinem v tvarohu) a s močovinou.

- asi 0,5 g močoviny zahřívejte opatrně v suché zkumavce malým plamenem. Po chvíli uniká amoniak, který poznáte čichem nebo podle pH papírku
- po vychladnutí směsi přidejte 1 cm³ roztoku NaOH a nakonec pár kapek CuSO₄.

Reakce má název podle biuretu (peptidová vazba CO-NH), který vzniká reakcí 2 molekul močoviny za odštěpení amoniaku a ten dává s Cu²⁺ solí fialový komplex.

2. Xanthoproteinová reakce

- ke 2 cm³ roztoku bílku ve zkumavce opatrně přidejte asi 0,5 až 1 cm³ koncentrované HNO₃ a povařte ve vodní lázni
- pozorujete vznik žluté sraženiny
- do reakční směsi po vychladnutí opatrně přidávejte koncentrovaný roztok NH₃ (asi 2 cm³). Místo NH₃ můžete přidat NaOH. Po dosažení alkalické reakce bude výsledné zbarvení oranžové.

3. Důkaz síry a dusíku v bílkovinách

- k 2 ml roztoku bílku ve zkumavce přilejte opatrně stejný objem 10% NaOH a směs rozdělte do dvou zkumavek.
- směs v 1. zkumavce opatrně zahřejte k varu. Do ústí zkumavky vložte vlhký fíl papírek. Červenofialová barva indikátoru dokazuje, že rozkladem bílkoviny vzniká plynný amoniak, bílkovina tedy obsahuje vázaný dusík
- do 2. zkumavky přidejte 2 cm³ roztoku Pb(NO₃)₂ nebo octanu olovnatého a směs opatrně zahřívejte. Vznikající černá sraženina PbS je důkazem síry, vázané v bílkovině.

4. Srážecí reakce bílkovin

a) vliv hydroxidů, kyselin a solí

- k roztokům vaječného bílku ve zkumavkách přidávejte po kapkách:

do 1. zkumavky stejný objem 10% NaOH, do 2. zkumavky koncentrovaná HCl, do dalších roztoky solí: do 3. zkumavky roztok CuSO_4 , do 4. zkumavky roztok AgNO_3 , do 5. zkumavky roztok octanu olovnatého (nebo dusičnan olovnatý).

Vznikající sraženiny jsou důkazem škodlivého vlivu chemických látek na bílkoviny.

b) vliv teploty

Ke stejným nevratným změnám bílkovin dochází i vlivem tepla, popř. jiných faktorů. Zkumavku s roztokem vaječného bílku naředěného 1 : 1 vodou zahřejeme k varu. Sledujte srážení bílkoviny zahřátím.

Rozbor mléka

- se vzorkem mléka ve zkumavce proveďte zkoušky, kterými dokážete přítomnost bílkovin (Biuretová)
- asi 100 ml mléka zaahřejete opatrně v kádince k varu, po vychladnutí pozorujete na povrchu škráloup (důkaz bílkoviny - albumin)
- do vychladlého mléka přidejte trochu octa, zamíchejte. Pozorujete sraženinu, která se může oddělit filtrací (kasein).
- 5 ml filtrátu nalijete do zkumavky a přidáte zhruba 5 ml Fehlingova činidla, opatrně zahřát. Je-li zkouška pozitivní, dokázali jste, že mléko obsahuje cukry.
- trochu sražené bílkoviny (albuminu nebo kaseinu) ve zkumavce zahřívejte nad plamenem. Po odpaření vody dojde k pyrolýze bílkoviny a objeví se černý uhlík.

Důkazy rostlinných bílkovin

- libovolnou luštěninu (hrách, čočku, fazole) necháme přes noc namočenou nabobtnat ve vodě.
- V třecí misce luštěninu rozmělníme s trochou vody, kterou zalkalizujeme zředěným hydroxidem sodným.
- Směs vylisujeme přes plátno do kádinky. Na dně se usadí škrob (dokážeme ho jodem) a ve filtrátu dokážeme biuretovou nebo xantoproteinovou reakcí bílkovinu.