

Właściwości fizykochemiczne białek

Zadanie 1. Oznaczanie punktu izoelektrycznego białka

Celem zadania jest oznaczenie punktu izoelektrycznego kazeiny na podstawie jej zachowania w roztworach o różnym pH.

Wykonanie. Do 6 probówek odmierzyć podane w tabeli objętości mianowanych roztworów CH_3COOH i wody destylowanej, tworząc tym samym różne środowiska reakcji. Następnie do każdej probówki dodawać kroplami po 1 cm^3 0,5% roztwór kazeiny. Po dodaniu każdej kropli wstrząsnąć probówką. Odstawić zawartość probówek na 30 min i po tym czasie zaobserwować zmiany zmętnienia roztworów. Wyniki zanotować w tabeli: brak zmętnienia (-) lub różne stopnie zmętnienia (+, ++, +++). Obliczyć pH w każdej probówce, posługując się równaniem Hendersona - Hasselbalcha.

W jakim pH zmętnienie jest największe? Ile wynosi wartość punktu izoelektrycznego dla kazeiny?

Składnik, cm^3	Nr probówki					
	1	2	3	4	5	6
0,01M CH_3COOH	0,6	1,3	-	-	-	-
0,1M CH_3COOH	-	-	0,3	1	8	-
1M CH_3COOH	-	-	-	-	-	1,6
H_2O	8,4	7,7	8,7	8	1	7,4
0,5% kazeina	1	1	1	1	1	1
Zmętnienie						
pH						

Zadanie 2. Wysalanie albumin i globulin

Celem zadania jest rozdzielenie mieszaniny białek surowicy poprzez proces wysalania, który wykorzystuje właściwości chemiczne poszczególnych białek.

Wykonanie. Do 3 cm^3 osocza dodać równą objętość nasyconego roztworu $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Po wytrąceniu kłaczkowatego osadu globulin roztwór przesączyć. Do supernatantu dodawać $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ *in substantia* porcjami i mieszać aż do momentu, w którym na dnie probówki pozostaną kryształki nierozpuszczonego $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.



Wytrąca się wówczas osad albumin. Po odsączeniu zbadać rozpuszczalność osadu w H₂O. Przesącz skontrolować na obecność białka dodając do roztworu 5% kwas trichlorooctowy (TCA) lub 10% kwas sulfosalicylowy.

Zadanie 3. Strącanie białek kwasami nieorganicznymi i organicznymi

Celem zadania jest obserwacja działania stężonych kwasów nieorganicznych oraz niektórych organicznych na białko. W reakcjach tych może dochodzić do denaturacji białka.

Wykonanie. Do 3 probówek odmierzyć po 1 cm³ 1% roztworu białka jaja. Następnie wprowadzić po 0,5 cm³ stężonego HCl (probówka 1), 0,5 cm³ stężonego HNO₃ (probówka 2), i 0,5 cm³ stężonego H₂SO₄ (probówka 3). Zawartość każdej probówki wstrząsnąć. W probówce z HCl i H₂SO₄ osad zdenaturowanego białka rozpuszcza się (sole białek z tymi kwasami silnie dysocjują). Natomiast w probówce z HNO₃ osad nie znika po wstrząśnięciu.

Do 2 innych probówek odmierzyć po 2 cm³ 1% roztworu białka jaja. Następnie do 1 probówki wprowadzić kroplami 5% roztwór kwasu TCA, a do 2 probówki - 10% roztwór kwasu sulfosalicylowego. Wytrąca się biały osad. Kwas sulfosalicylowy i TCA tworzą z białkami sole nierozpuszczalne i dlatego są stosowane do odbiałczania płynów biologicznych. Związki te w większych stężeniach wywołują denaturację białka.

Składnik, cm ³	Nr probówki				
	1	2	3	4	5
1% roztworu białka	1	1	1	1	1
HCl	0,5	-	-	-	-
HNO ₃	-	0,5	-	-	-
H ₂ SO ₄	-	-	0,5	-	-
5% TCA	-	-	-	kroplami	-
10% kwas sulfosalicylowy	-	-	-	-	kroplami
Osad					
Osad po wytrząsaniu					



Zadanie 4. Straćanie białek kationami metali ciężkich

Celem zadania jest obserwacja działania soli metali ciężkich (Cu, Hg, Pb) na białko w zależności od pH.

Do 3 probówek odmierzyć po 2 cm³ białka o pH = 3. Następnie do każdej z probówek dodawać kroplami (unikać nadmiaru odczynnika!) wymienione w tabeli odczynniki (CuSO₄, HgCl₂, (CH₃COO)₂Pb).

Do kolejnych 3 probówek odmierzyć po 2 cm³ białka o pH = 8. Następnie do każdej z probówek dodawać kroplami (Unikać nadmiaru odczynnika!) wymienione w tabeli odczynniki (CuSO₄, HgCl₂, (CH₃COO)₂Pb)

Zanotować powstanie (+) lub brak (-) osadu. Wyjaśnić wyniki reakcji w poszczególnych probówkach, uwzględniając środowisko reakcji oraz zjonizowanie odpowiednich grup.

Odczynnik	Białko jaja	
	pH 3	pH 8
10% CuSO ₄		
5% HgCl ₂		
5% (CH ₃ COO) ₂ Pb		

Lublin, 24.02.2025.

