

Skład aminokwasowy białek

Zadania 1-5 wykonać, stosując:

- 1% roztwór białka jaja kurzego,
- 1% roztwór żelatyny,
- 1% roztwór peptonu (produkt częściowego trawienia białka przez pepsynę, zawierający polipeptydy o masie 600-3000 Da).

Zapisać wszystkie wyniki w tabeli poniżej, oznaczając wynik dodatni (+) i ujemny (-).

Próba	Białko		
	jaja kurzego	żelatyna	pepton
Biuretowa (wiązania peptydowe)			
Ksantoproteinowa (Phe, Tyr, Trp)			
Millona (Tyr)			
Adamkiewicza-Hopkinsa (Trp)			
Cysteinowa (Cys)			

Zadanie 1. Próba biuretowa.

Celem zadania jest wykazanie obecności białka w roztworze na podstawie reakcji barwnej powstającej na skutek połączenia jonów miedzi z wiązaniem peptydowym.

Wykonanie. Do 0.5 cm³ 1% roztworu białka dodać 2 cm³ odczynnika miedziowego. Pojawienie się fioletowego zabarwienia świadczy o obecności białka.

Zadanie 2. Próba ksantoproteinowa.

Celem zadania jest wykazanie obecności aminokwasów aromatycznych w badanym roztworze na podstawie reakcji barwnej, której produktami są nitrowe pochodne pierścieni benzenowych zawartych w aminokwasach aromatycznych.

Wykonanie. Do 1 cm³ 1% roztworu białka dodać ok. 1 cm³ stęż. HNO₃ i ogrzewać mieszaninę przez 30 sekund. Osad strącającego się białka barwi się na żółto.



Zadanie 3. Próba Millona.

Celem zadania jest wykazanie obecności tyrozyny w badanym roztworze na podstawie reakcji barwnej, której produktami są rtęciowe pochodne nitrowanej tyrozyny.

Wykonanie. Do 1 cm³ 1% roztworu białka dodać kilka kropli odczynnika Millona i otrzymaną mieszaninę ostrożnie ogrzać nad palnikiem. Białka z kwasem azotowym tworzą nierozpuszczalny osad, który w czasie ogrzewania czerwienieje. Jeśli nie powstaje czerwona barwa, dodać jeszcze kilka kropli odczynnika i ponownie podgrzać.

Uwaga! Przy nadmiarze odczynnika barwa znika podczas ogrzewania.

Zadanie 4. Próba Adamkiewicza-Hopkinsa.

Celem zadania jest wykazanie obecności tryptofanu w badanym roztworze na podstawie barwy produktów kondensacji pierścienia indolowego tryptofanu z kwasem glioksalowym.

Wykonanie. Do 1 cm³ 1% roztworu białka dodać 1 cm³ stężonego CH₃COOH. Roztwór zmieszać i dodać po ścianie 1cm³ stężonego H₂SO₄. Na pograniczu obu warstw powstaje fioletowy krążek.

Zadanie 5. Próba cysteinowa.

Celem zadania jest wykazanie obecności cysteiny w badanym roztworze na podstawie powstającego siarkowodoru i siarczku ołowiu.

Wykonanie. Do 1 cm³ 1% roztworu białka dodać 1 cm³ 20% NaOH i parę kropli 2M octanu ołowiu (II), podgrzać. Płyn ciemnieje. Mieszaninę oziębic i dodać do niej ostrożnie kroplami stężony HCl. Wydziela się siarkowodór.

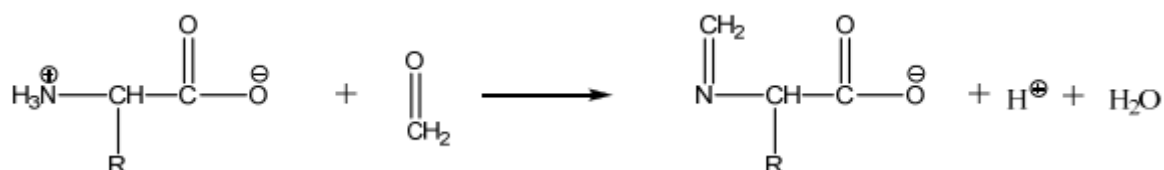
Z metioniny w warunkach reakcji nie powstaje siarkowodór i wynik próby jest ujemny.



Zadanie 6. Oznaczanie aminokwasów metodą Sörensena (miareczkowanie formolowe).

Celem zadania jest oznaczenie zawartości azotu (aminokwasów) w otrzymanej próbce.

Aldehyd mrówkowy (formalina) reaguje z grupami aminowymi lub jonem amonowym dając pochodne metylenowe. Na każdą grupę aminową lub jon amonowy, zwalnia się jon wodoru, który można odmiareczkować zasadą sodową wobec fenoloftaleiny jako wskaźnika. Reakcja z aldehydem mrówkowym przebiega wg równania:



Wykonanie. Do zlewki odmierzyć 5 cm³ roztworu aminokwasów, dodać 3 krople fenoloftaleiny i ostrożnie kroplami dodawać 0.1M NaOH, aż pojawi się blad różowe zabarwienie. Następnie dodać 5 cm³ zobojętnionego na fenoloftaleinę roztworu formaliny. Zmieszać. Roztwór odbarwia się. Miareczkować 0.1M NaOH aż do ponownego wystąpienia barwy różowej.

Obliczenia. Podać zawartość azotu w próbce i stężenie procentowe otrzymanego roztworu aminokwasu wiedząc, że tym aminokwasem jest glicyna o masie M=75 g/mol. 1cm³ 0.1M NaOH odpowiada 1.4 mg azotu.

