



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávací materiál vytvořený v projektu OP VK

Název školy:	Gymnázium, Zábřeh, náměstí Osvobození 20
Číslo projektu:	CZ.1.07/1.5.00/34.0211
Název projektu:	Zlepšení podmínek pro výuku na gymnáziu
Číslo a název klíčové aktivity:	III/2 - Inovace a zkvalitnění výuky prostřednictvím ICT

Anotace

Název tematické oblasti:	Soubor návodů do laboratorních cvičení (PCh)
Název učebního materiálu:	Reakce aminokyselin a bílkovin
Číslo učebního materiálu:	VY_32_INOVACE_Ch0119
Vyučovací předmět:	Praktikum z chemie
Ročník:	3. ročník čtyřletého gymnázia septima osmiletého gymnázia
Autor:	Zbyněk Vlček
Datum vytvoření:	30.4.2013
Datum ověření ve výuce:	12.6.2013
Druh učebního materiálu:	Pracovní list
Očekávaný výstup:	Pracovní list slouží v první řadě jako návod pro činnost žáků v laboratorním cvičení. Dále žáci využijí pracovní list pro vypracování protokolu z laboratorního cvičení. V závěru protokolu žáci odpovědí na otázky, které jsou uvedené v pracovním listu. Protokol odevzdají učitelé v elektronické podobě (ve formátu pdf).
Metodické poznámky:	Důkaz tryptofanu není průkazný. Je vhodné provést důkaz demonstračně a použít anhydrid kyseliny octové a koncentrovanou kyselinu sírovou.

Laboratorní cvičení 19

Téma: Reakce aminokyselin a bílkovin

Princip úlohy:

K důkazu volných nebo vázaných aminokyselin (α -aminokyselin) se používají nejčastěji barevné reakce. Peptidovou vazbu v bílkovinách lze dokázat biuretovou reakcí. Přítomnost globulárních nebo fibrilárních bílkovin se může zjistit jejich vylučováním z roztoku, které je vratné (krátkodobé zvýšení obsahu chloridu sodného, síranu sodného) nebo nevratné (vliv solí těžkých kovů, silných kyselin, varu).

1. Biuretová reakce bílkovin a močoviny

Postup:

a) Do zkumavky nalijte roztok vaječného bílku (1 cm^3 , přidejte 50 cm^3 destilované vody k bílku z jednoho vejce, směs důkladně promíchejte, popř. zfiltrujte přes smotek vaty), přidejte roztok NaOH (1 cm^3 , $w = 10\%$) a roztok CuSO_4 ($0,2\text{ cm}^3$, $w = 5\%$). Směs ve zkumavce protřepte, případně mírně zahřejte, a pozorujte vznik modrofialového zbarvení.

b) Pokus lze provést s močovinou. Močovinu ($0,5\text{ g}$) zahřívejte v suché zkumavce mírným plamenem. Po chvíli začne unikat plyn, který identifikujte čichem nebo kapkou HCl na skleněné tyčince. Po vychladnutí reakční směsi přidejte NaOH (1 cm^3 , $w = 10\%$) a CuSO_4 ($0,2\text{ cm}^3$, $w = 5\%$). Po protřepání pozorujte vznik modrofialového zbarvení jako v předchozím pokusu.

Úkoly do závěru:

- 1) Zapište chemickou rovnicí vznik biuretu z močoviny.
(Při zápisu nepoužívejte souhrnné vzorce.)
- 2) Která skupina organických látek (kromě bílkovin) bude poskytovat biuretovou reakci?
- 3) Jaké soustavy vytvářejí s vodou bílkoviny rozpustné ve vodě?

Poznámka:

Reakce má název podle biuretu, který poskytuje v alkalickém prostředí s kationem měďnatým modrofialový komplex.

Reakci poskytují všechny látky s peptidovou vazbou v molekule.

2. Xantoproteinová reakce

Postup:

Ve zkumavce smíchejte roztok vaječného bílku (2 cm^3) s HNO_3 (1 cm^3 , $w = 45\%$). Směs opatrně zahřívejte a pozorujte vznik žluté sraženiny.

Do reakční směsi opatrně přidejte roztok amoniaku (2 cm^3 , $w = 15\%$), výsledná směs musí být alkalická. Pozorujte změnu zbarvení reakční směsi.

Při zahřívání si nasadte ochranný štít a dodržujte pravidla zahřívání kapalin ve zkumavce!

Úkoly do závěru:

- 1) Které aminokyseliny poskytují xantoproteinovou reakci a jaká je chemická podstata této reakce?

3. Důkaz tryptofanu

Postup:

Ve zkumavce protřepte roztok vaječného bílku (1 cm^3) s CH_3COOH (1 cm^3 , $w = 45\%$). Směs potom opatrně podvrstvěte H_2SO_4 (3 cm^3 , $w = 45\%$). Kyselinu sírovou si odměřte do zkumavky, zkumavku se vzorkem držte v ruce šikmo a kyselinu nechte stéct po stěně zkumavky od ústí ke dnu zkumavky.

Vytvoří-li se na rozhraní vrstev barevný prstenec, je ve vzorku přítomna aminokyselina tryptofan.

Při práci si nasadte ochranný štít! Reakci provádějte za dohledu vyučujícího!

Úkol do závěru:

1) Do kterých skupin α -aminokyselin patří tryptofan?

Poznámka:

Reakce při důkazu tryptofanu lépe s koncentrovanou H_2SO_4 . Tu ale nemůžete používat. Toto provedení důkazu vám předvede vyučující.

4. Důkaz sirných aminokyselin

Postup:

Do zkumavky nalijte roztok vaječného bílku (2 cm^3), přidejte NaOH (1 cm^3 , $w = 10\%$) a roztok $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$ (1 cm^3 , $w = 5\%$) a směs mírně zahřívajte.

Vznik černé sraženiny dokazuje přítomnost sirných aminokyselin.

Úkoly do závěru:

- 1) Napište racionální vzorec a název jedné sirné α -aminokyseliny, která je v bílkovinách.
- 2) Napište vzorec a název černé sraženiny, která vzniká při důkazu.

5. Srážecí reakce bílkovin

Postup:

Do každé ze tří zkumavek nalijte roztok vaječného bílku (2 cm^3) a po kapkách přidávejte

1. zkumavka – roztok $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$ ($0,5 \text{ cm}^3$, $w = 5\%$),

2. zkumavka – roztok CuSO_4 ($0,5 \text{ cm}^3$, $w = 5\%$),

3. zkumavka – roztok AgNO_3 ($0,5 \text{ cm}^3$, $w = 5\%$).

Pozorujte vznik sraženin. Pokud barvu vzniklé sraženiny ruší barva srážecího činidla, tak sraženinu přefiltrujte a na filtru promyjte destilovanou vodou.

Úkoly do závěru:

- 1) K jakému chemickému ději dochází u bílkovin při uvedených srážecích reakcích?
- 2) Doplněte následující tabulku:

činidlo	barva sraženiny bílkoviny
octan olovnatý	
síran měďnatý	
dusičnan stříbrný	

6. Určení počáteční teploty denaturace bílkovin

Postup:

Ke zkumavce s přefiltrovaným roztokem vaječného bílku (3 cm³) upevněte (gumičkou nebo izolepou) teploměr tak, aby dno zkumavky s roztokem bílku a rtuťová nádobka teploměru byly ve stejné výšce.

Zkumavku s teploměrem velmi pomalu (teplota roste velmi pomalu) zahřívejte na vodní lázni a roztok bílku míchejte skleněnou tyčinkou.

Odečtěte teplotu, při které se roztok bílku zakalí, tj. počáteční teplota denaturace bílkoviny.

Úkoly do závěru:

- 1) Vysvětlete pojem denaturace bílkoviny.
- 2) Jaké je praktické využití tepelné denaturace bílkovin?
- 3) Jakou počáteční teplotu denaturace bílkoviny jste experimentálně určili? Porovnejte ji s hodnotou uvedenou v některém informačním zdroji. Tento zdroj v odpovědi uveďte.

Citace:

ČÁRSKY, J.; KOPŘIVA, J.; KRIŠTOFOVÁ, V.; PECHÁŇ, I. *Chemie pro III. ročník gymnázií*. 2. vyd. Praha : SPN, 1990. ISBN 80-04-24922-1. s. 220 - 222