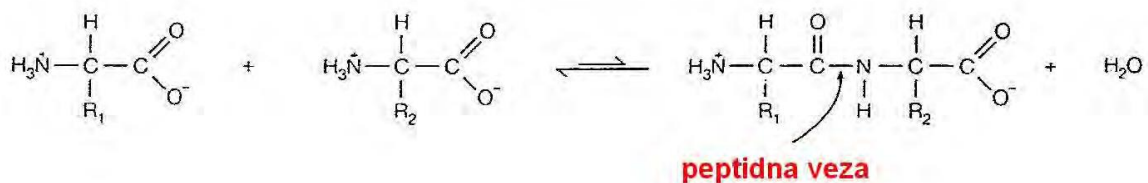


Vježba 2: Dokazivanje aminokiselina i proteina taložnim reakcijama

Broj nastavnih sati: 3

UVOD:

Proteini ili bjelančevine su makromolekule građene od aminokiselina koje se međusobno povezuju peptidnim vezama.



Postoji velik broj aminokiselina, no ne ulaze sve u onu skupinu koje grade proteine. Samo je 20 aminokiselina koje grade proteine, ostale nazivamo neproteinske aminokiseline, npr. ornitin i citrulin. Aminokiseline također možemo podijeliti na dvije grupe; na esencijalne i neesencijalne. Esencijalne aminokiseline su one koje treba unositi u organizam putem hrane jer ih ljudski organizam ne može sam sintetizirati, dok su neesencijalne one koje organizam sam može sintetizirati.

Taložne reakcije dokazivanja proteina temelje se na koloidnim svojstvima otopine proteina. U vodi se proteinske molekule otapaju stvarajući koloide. Pod utjecajem različitih čimbenika dolazi do razaranja native konformacije proteina, što dovodi do gubitka njegove biološke funkcije. Taj proces nazivamo denaturacija. Potpuno denaturirani protein poprima različite nasumične konformacije koje su biološki inaktivne. Do denaturacije proteina najčešće dolazi povišenjem temperature, promjenom pH (pri ekstremno niskim i visokim vrijednostima pH), dodatkom organskih otapala, pri povećanoj koncentraciji soli, dodatkom teških metala (Hg^{2+} , Pb^{2+} , Ag^+ , Cd^{2+}) te dodatkom različitih oksidansa i reducensa.

Praktični rad 1 : Taloženje pomoću kalijevog heksacijanoferata $K_4[Fe(CN)_6]$

ZADATAK: taložnom reakcijom dokazati prisutnost aminokiselina i proteina u uzorku

PRIBOR: stalak s epruvetama, kapaljke

KEMIKALIJE :- otopina kalijevog heksacijanoferata $K_4[Fe(CN)_6]$

- octena kiselina CH_3COOH (w=10%)

UZORAK: otopina bjelanjka

Priprema uzorka: bjelanjak se u čaši odvoji od žutanjka, te se doda trostruki volumen vode.

Nakon miješanja staklenim štapićem, otopina se profiltrira preko lijevka s filter papirom.

POSTUPAK:

1. U epruvetu staviti oko 2 cm^3 otopine bjelanjka , dodati otopinu $K_4[Fe(CN)_6]$ i CH_3COOH , promatrati stvaranje taloga te napisati zapažanje i zaključak.

Objašnjenje: veliki anioni poput $[Fe(CN)_6]^-$ neutraliziraju pozitivan naboj proteina, čime uzrokuju smanjenje odbojnosti među koloidnim česticama proteina i koagulaciju proteina.

CRTEŽ :

Praktični rad 2 : Koagulacija proteina

ZADATAK: taložnim reakcijama dokazati prisutnost aminokiselina i proteina u uzorku

PRIBOR: stalak s epruvetama, kapaljke, plamenik, drvena hvataljka

KEMIKALIJE : - otopine soli ($c=0,1 \text{ mol/dm}^3$), K^+ , Ag^+ , Ca^{2+} , Hg^{2+} , Al^{3+}

- konc. HNO_3
- etanol (w=96%)
- konc. HCl ili konc. H_2SO_4

UZORAK: otopina bjelanjka

Priprema uzorka: bjelanjak se u čaši odvoji od žutanjka, te se doda trostruki volumen vode. Nakon miješanja staklenim štapićem, otopina se profiltrira preko lijevka s filter papirom.

POSTUPAK:

1. U devet epruveta uliti po 2 cm^3 otopine bjelanjka te tretirati na slijedeći način:
 1. epruveta – kuhanjem otopine bjelanjaka u epruveti se izluči bijeli pahuljasti talog.
 2. epruveta – ako se u otopinu bjelanjka uz stjenku epruvete dodaje konc. HNO_3 , na graničnoj plohi nastaje bijelo-žuti prsten koaguliranih proteina.
 3. epruveta – talog nastaje i dodatkom HCl i H_2SO_4 .
 4. epruveta - dodati etanol i protresti, nastaje talog koaguliranih proteina.
 5. do 9 epruveta– u epruvete redom dodati nekoliko kapi otopine iona metala K^+ , Ag^+ , Ca^{2+} , Hg^{2+} , Al^{3+}

Objašnjenje: kuhanjem proteina izlučuje se bijeli pahuljasti talog. Uz dodatak konc. HNO_3 uz stjenku epruvete na graničnoj plohi nastaje bijelo-žuti prsten koaguliranih proteina. Proteine možemo istaložiti i dodatkom teških metala u lužnatoj otopini. Kationi metala neutraliziraju negativan naboj proteina uslijed čega dolazi do taloženja.

CRTEŽ :

REZULTATI RADA:

a) Tablica 1 : dokazivanje aminokiselina i proteina taložnim reakcijama

EPRUVETA BROJ	REAGENS	IZGLED TALOGA
1.	kuhanje	
2.	konc. HNO ₃	
3.	konc. HCl ili H ₂ SO ₄	
4.	etanol	
5.	otopina K ⁺	
6.	otopina Ag ⁺	
7.	otopina Ca ²⁺	
8.	otopina Hg ²⁺	
9.	otopina Al ³⁺	

ZAPAŽANJA I ZAKLJUČAK:

PONAVLJANJE I VREDNOVANJE:

1. Jednadžbom kemijske reakcije prikaži stvaranje peptidne veze!
2. Što je denaturacija proteina?
3. Navedi tvari koje dovode do denaturacije proteina!
4. Istraži: Što se podrazumijeva pod tercijskom strukturom proteina?

LITERATURA:

1. Burger, N. i sur., Materijali za vježbe iz biokemije za studente stomatologije, Interna skripta, Stomatološki fakultet Zagreb, Zagreb, 2014.
2. Kučak, A., Vježbe iz biokemije, Profil, Zagreb, 2003.
3. Trajković, J. , Analize životnih namirnica, Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd,1983.
4. Flogel,G.Lauc, Biokemijski praktikum za srednje škole, Školska knjiga, Zagreb, 1998.
5. Primorac, Lj., Kontrola kakvoće hrane, propisi za vježbe, Prehrambeno tehnološki fakultet Osijek, 2007.

