

Лабораторная работа

Изучение свойств белков

Цель работы

Экспериментальное знакомство с важнейшими химическими свойствами белков: растворимость в воде, необратимая денатурация, качественные реакции; отработка навыков экспериментальной работы, соблюдая правила техники безопасности.

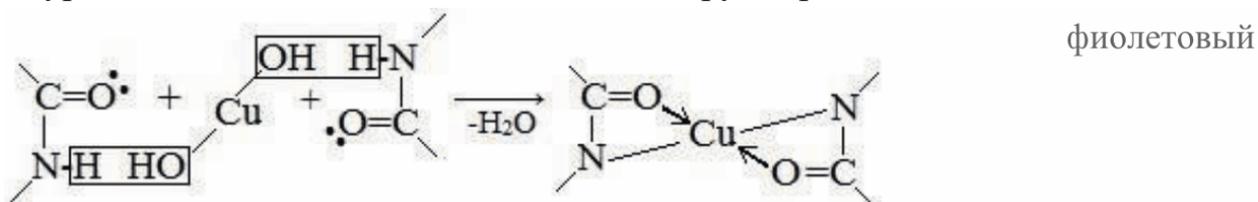
Теоретические положения

Разрушение вторичной и третичной структуры белка, сопровождающееся разрушением связей, обуславливающих эти структуры, и изменением его природных свойств, называют денатурацией. Денатурация бывает обратимой и необратимой. Обратимая денатурация (ренатурация) называется высаливанием и может быть вызвана растворами нейтральных солей (Na_2SO_4 , NaCl). При этом денатурированный белок после удаления денатурирующих веществ вновь самоорганизуется в исходную структуру с восстановлением биологической активности.

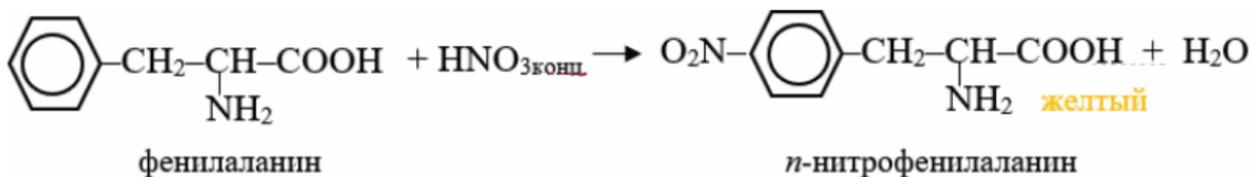
При необратимой денатурации биологическая активность белка после удаления денатурирующих агентов не восстанавливается. Она может быть вызвана концентрированными кислотами, щелочами, спиртами, высокой температурой, радиацией, при отравлении организма солями тяжелых металлов (Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+}).

Наиболее характерными качественными реакциями на белки являются:

а) биуретовая реакция - появление фиолетового окрашивания при обработке солями меди в щелочной среде вследствие образования биуретового комплекса меди с пептидной группировкой белка:



б) ксантопротеиновая реакция - появление желтого окрашивания при действии концентрированной азотной кислоты. Эта реакция на присутствие в белке ароматических и гетероциклических α -аминокислот: триптофана, фенилаланина, тирозина, гистидина:



в) цистеиновая реакция на остатки аминокислот, содержащих серу:



Оборудование и реактивы

Штатив с пробирками, держатель для пробирок, спиртовка, спички, мерный цилиндр, раствор гидроксида натрия (10-12 %), раствор сульфата меди (II) (0,5 моль/л), водный раствор яичного белка (готовится из расчета 1 мл белка на 5 мл насыщенного раствора поваренной соли), насыщенный раствор ацетата свинца, насыщенный раствор сульфата меди (II), концентрированная азотная кислота, концентрированная соляная кислота, концентрированная серная кислота, насыщенный раствор сульфата аммония, этиловый спирт, концентрированный раствор гидроксида натрия, концентрированный раствор аммиака, раствор ацетата свинца (0,5 моль/л).

Методика и порядок выполнения работы

Опыт №1. Свертывание белков при нагревании

Налейте в пробирку 2-3 мл раствора белка и нагрейте в пламени спиртовки до кипения. Что при этом наблюдается? Чем можно объяснить это явление? Содержимое пробирки разбавьте водой. Растворяется ли осадок, если нет, то почему?

Опыт 2. Осаждение белков солями тяжелых металлов

В две пробирки налейте по 1 -2 мл раствора белка и медленно, по каплям, при встряхивании прилейте в одну из них насыщенный раствор сульфата меди (II), а в другую - насыщенный раствор ацетата свинца. Что наблюдается? Затем содержимое пробирок разбавьте большим количеством воды. Что наблюдается при этом? Сделайте вывод о действии солей тяжелых металлов на белок.

Опыт 3. Осаждение белков минеральными кислотами

Налейте в одну пробирку 1 мл концентрированной азотной кислоты, в другую - 1 мл концентрированной соляной кислоты, в третью - 1 мл концентрированной серной кислоты. Каждую пробирку наклоните и осторожно влейте в нее по стенке 1-1,5 мл раствора белка так, чтобы он не смешивался с более тяжелым слоем кислоты, затем пробирку поставьте в штатив. Что наблюдается на границе раздела двух жидкостей? Встряхните пробирки. Какие изменения происходят при этом в пробирках? Запишите соответствующие наблюдения. Сделайте вывод об отношении белка к концентрированным кислотам.

Опыт 4. Высаливание белков сульфатом аммония

В пробирку налейте 1-1,5 мл раствора белка, прилейте такой же объем насыщенного раствора сульфата аммония. Смесь слегка встряхните. Что наблюдается? Что происходит с белком? Смесь разбавьте большим количеством воды. Что происходит с осадком? Какой вид свертывания белка наблюдается?

Опыт 5. Осаждение белков этиловым спиртом

В пробирку налейте 1-1,5 мл раствора белка, прилейте 2-3 мл этанола. Что наблюдается? Проверьте, растворяется ли осадок в воде. Какой вид свертывания белка наблюдается? Запишите соответствующие наблюдения.

Опыт 6. Цветные реакции на белки

а) Ксантопротеиновая реакция

К 1 мл раствора белка добавьте 5-6 капель концентрированной азотной кислоты до появления белого осадка или мути от свертывания белка. Реакционную смесь нагрейте до окрашивания осадка в желтый цвет. В процессе гидролиза, происходящем при этом, осадок может частично растворяться. Смесь охладите и добавьте к ней осторожно, по каплям, избыток концентрированного раствора аммиака. Окраска при этом переходит в оранжевую. Данная реакция является качественной на белки. Запишите соответствующие наблюдения. Ответьте на вопрос: какие группы атомов, остатки молекул каких органических веществ позволяют обнаружить эту реакцию?

б) Биуретовая реакция

В пробирку налейте 1 -2 мл раствора белка, равный объем концентрированного раствора щелочи и 2-3 капли разбавленного раствора

сульфата меди (II). Содержимое пробирки тщательно перемешайте. В какой цвет окрасилась жидкость? Запишите соответствующие наблюдения. Ответьте на вопрос: какие группы атомов, остатки молекул каких органических веществ позволяют обнаружить эта реакция?

в) Цистеиновая реакция

В пробирку налейте 0,5 мл раствора ацетата свинца и 2 мл раствора гидроксида натрия до растворения образовавшегося осадка гидроксида свинца (II). В результате получается плюмбит натрия MazPbOz . В другую пробирку налейте 2 мл белка и прилейте из первой пробирки столько же плюмбита натрия. Смесь нагрейте до кипения. При нагревании белок гидролизуеться, и образуется сероводород, который вступает во взаимодействие с раствором плюмбита натрия с образованием черного или черно-коричневого осадка сульфида свинца PbS . Запишите все соответствующие наблюдения. Напишите уравнения реакций образования гидроксида свинца (II) и плюмбита натрия. Сделайте вывод по проделанной работе.

Указания по оформлению отчета

Отчет о работе должен включать:

- а) название выполняемой работы, цель;
- б) перечисление оборудования и реактивов;
- в) краткие сведения по теме «Изучение свойств белков»;
- г) порядок выполнения работы;
- д) уравнения химических реакций и объяснение полученных результатов;
- е) выводы.

Вопросы к защите:

1. Что такое денатурация? Укажите условия денатурации белковых молекул.
2. Какие группы атомов и типы связей наиболее характерны для большинства белковых молекул?
3. Какие вещества образуются при гидролизе белков в организме?
4. Каковы биологические функции белков?
5. В чем сущность первичной и вторичной структуры белка?
6. Почему белковая пища является важным звеном в питании человека?
7. Какие сельскохозяйственные культуры, богатые белками вы знаете?
8. Что такое заменимые и незаменимые аминокислоты? Полноценные и неполноценные белки?