

**LP Důkaz bílkovin.**

**a) xantoproteinovou reakcí.**

**Úkoly a cíle**:

1. Dokažte přítomnost bílkovin v extraktu z rostlinné hmoty účinkem kyseliny dusičné.

2. Dokažte přítomnost bílkovin ve vaječném bílku účinkem kyseliny dusičné.

**Pomůcky a chemikálie**: hrachová moučka nebo rozetřená bramborová hlíza, vaječný bílek, nasycený roztok síranu amonného, koncentrovaná kyselina dusičná, roztok amoniaku ve vodě (čpavek), zkumavka, 2 kádinky 50 ml, skleněná nálevka, 2 pipety, skleněná tyčinka, chemická lžička, držák na zkumavku, kahan, filtrační papír, zápalky.

**Postup**: Nejprve si připravte bílkovinný extrakt, a to tak, že rostlinnou hmotu převrstvíte nasyceným roztokem síranu amonného a za občasného míchání necháte několik hodin stát. Potom suspenzi přefiltrujte a pro další práci použijte získaný filtrát. Poté si připravte roztok vaječného bílku. Poté odpipetujte několik ml filtrátu bílkovinného extraktu a několik ml roztoku vaječného bílku do zkumavky a k oběma zkumavkám přidejte několik kapek koncentrované kyseliny dusičné. Roztok zahřejte téměř do varu a sledujte barevné probíhající změny při reakci.

**Výsledek**: Po zahřátí se v obou zkumavkách objeví žluté zabarvení. Proběhla tzv. xantoproteinová reakce. Po přidání několika kapek vodného roztoku amoniaku se změní barva na oranžovou.

**Poznámka**: Při neopatrném zacházení s kyselinou dusičnou zjistíte xantoproteinovou reakci i na pokožce rukou - žluté skvrny, které později hnědnou.

**Otázky k vypracování**:

1. Vysvětlete a vyhledejte v odborné literatuře, jak se podílí na této reakci kyselina dusičná? Vyhledejte příslušné aminokyseliny, které s kyselinou dusičnou reagují?

2. Napište chemickou reakci principu této reakce?

**b) biuretovou reakcí.**

**Úkoly a cíle**:

1. Dokažte přítomnost bílkovin v extraktu rostlinné hmoty biuretovou reakcí.

2. Dokažte přítomnost bílkovin ve vaječném bílku pomocí biuretové reakce.

**Pomůcky chemikálie**: hrachová moučka nebo rozetřená bramborová hlíza, vaječný bílek, 10% roztok hydroxidu draselného, 0,1 M roztok síranu měďnatého, zkumavka, 2 kádinky 50 ml, skleněná nálevka, 2 pipety, skleněná tyčinka, chemická lžička, držák na zkumavku, kahan, filtrační papír, zápalky.

Postup: K několika ml připraveného rostlinného extraktu bílkovin a roztoku vaječného bílku přilejte několik ml 10% hydroxidu draselného a poté přidejte několik kapek 0,1 m roztoku síranu měďnatého.

Výsledek: Ve zkumavkách se objeví červenofialové zbarvení., které je způsobeno peptidovou vazbou v bílkovinách, mezi jednotlivými aminokyselinami.

Otázky k řešení:

1. Nakresli peptidovou vazbu při vzniku dipeptidu glycinylglycinu.

2. V odborné literatuře nebo v učebnici vyhledej biuretovou reakci.

3. Napište jakou fyziologickou úlohu plní bílkoviny?

**c) reakcí s Millonovým činidlem**

**Úkol a cíl**: Dokažte přítomnost bílkovin v extraktu z rostlinné hmoty a v roztoku vaječného bílku.

**Pomůcky a příprava zkoumadel**: hrachová moučka nebo rozetřené bramborové hlízy, nasycený roztok síranu amonného, Millonovo činidlo ( k 1 dílu rtuti přidejte 2 díly koncentrované kyseliny dusičné, po rozpuštění rtuti chvíli povařte, přidejte 2 díly destilované vody a přefiltrujte - provádějte v digestoři nebo na dobře větraném místě, protože unikají oxidy dusíku), zkumavka, 2 kádinky 50 ml, skleněná nálevka, pipeta, skleněná tyčinka, chemická lžička, držák na zkumavky, filtrační papír, kahan, zápalky.

**Postup**: Nejprve si připravte bílkovinný extrakt, a to tak, že rostlinnou hmotu převrstvíte nasyceným roztokem síranu amonného a za občasného míchání necháte několik hodin stát. Potom suspenzi přefiltrujte a pro další práci použijte získaný filtrát. Poté si připravte roztok vaječného bílku. Poté odpipetujte několik ml filtrátu bílkovinného extraktu a několik ml roztoku vaječného bílku do zkumavky a k oběma zkumavkám přidejte Millonovo činidlo. Zahřívejte do mírného varu, obsah zkumavky udržujte ve varu asi minutu a sledujte barevné změny ve zkoumaných roztocích.

**Výsledek**: V roztoku se vysráží jemné cihlově červené šupinky a také celý obsah se červeně zabarví.

**Závěr**: Teplem došlo ke koagulaci bílkovin, které se vysrážely v podobě drobných šupinek. Červené zbarvení je důkazem přítomnosti bílkovin, neboť některé aminokyseliny (tyrosin) vytvářejí se rtutí charakteristicky cihlově zbarvené sloučeniny.

Otázky a úkoly k řešení:

1. Nakreslete vzorec tyrosinu.

2. Vysvětlete pojem koagulace za pomocí odborné literatury?