

Badanie obecności wiązań peptydowych w białkach (reakcja biuretowa)

- [Wprowadzenie](#)
- [Przeczytaj](#)
- [Wirtualne laboratorium – S](#)
- [Sprawdź się](#)
- [Dla nauczyciela](#)



Badanie obecności wiązań peptydowych w białkach (reakcja biuretowa)

Glutation to przykład tripeptydu, który daje pozytywny wynik testu biuretowego.
Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Białka to główne składniki żywności. Są one niezbędnymi elementami dla prawidłowego funkcjonowania całego organizmu. Zawartość białka w produktach spożywczych jest jednym z czynników określających ich wartość odżywczą. Wskazane dzienne spożycie danego składnika stanowi warunek zachowania dobrego stanu zdrowia. Informacje o ilości białek w danym produkcie można znaleźć na etykiecie produktu. Określenie zawartości składników odżywczych w żywności wykonuje się poprzez proste testy chemiczne w laboratorium. Czy wiesz jak?

Twoje cele

- Scharakteryzujesz reakcje charakterystyczne dla białek.
- Opiszysz sposób zachodzenia reakcji biuretowej i ksantoproteinowej.
- Zaprojektujesz doświadczenie na wykrycie wiązania peptydowego w próbkach pożywienia.

Przeczytaj

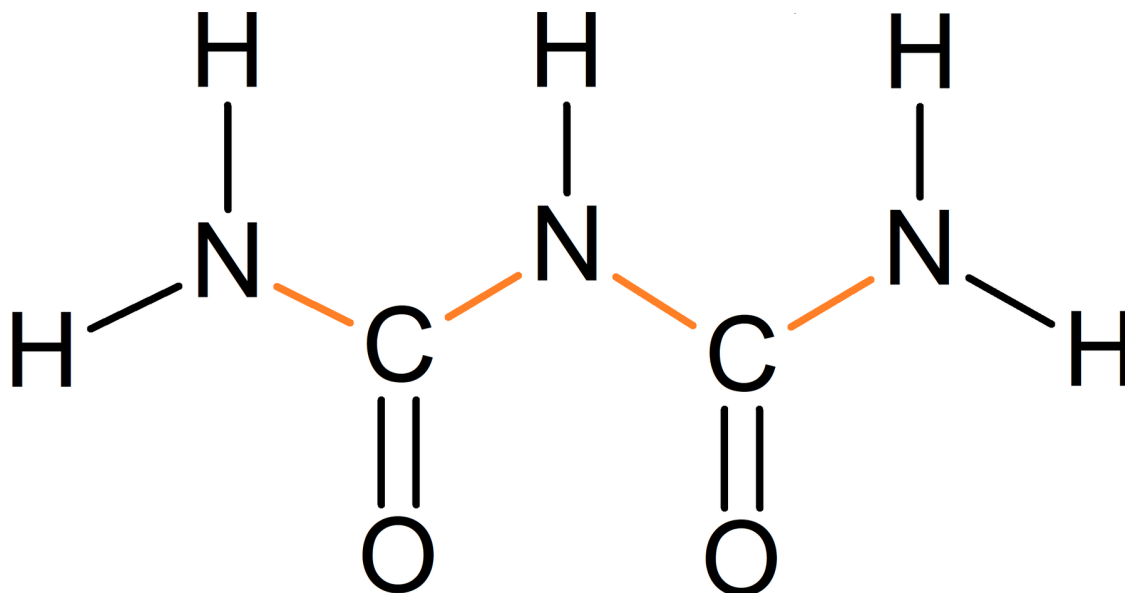
Istnieje wiele testów chemicznych pozwalających na wykrycie obecności białka w pożywieniu. Można je podzielić na dwa rodzaje: [testy jakościowe](#) i [ilościowe](#). Testy ilościowe określają ilość białka w badanej próbce – odpowiadają na pytanie „ile?”. Natomiast testy jakościowe określają występowanie lub brak białek w żywności. Omówimy teraz jedną z podstawowych metod wykrywania [wiązań peptydowych](#).

Metoda biuretowa

Ta metoda pozwala na wykrycie wiązania amidowego (peptydowego) w białkach. Warunkiem koniecznym do zajścia reakcji jest występowanie co najmniej dwóch wiązań peptydowych, czyli w reakcji tej nie możemy wykryć:

- aminokwasów (które nie zawierają wiązania peptydowego),
- dipeptydów (które zawierają jedno wiązanie peptydowe).

Metoda wzięła swoją nazwę od biuretu – dimeru mocznika, który jest najprostszym związkiem dającym pozytywny wynik.

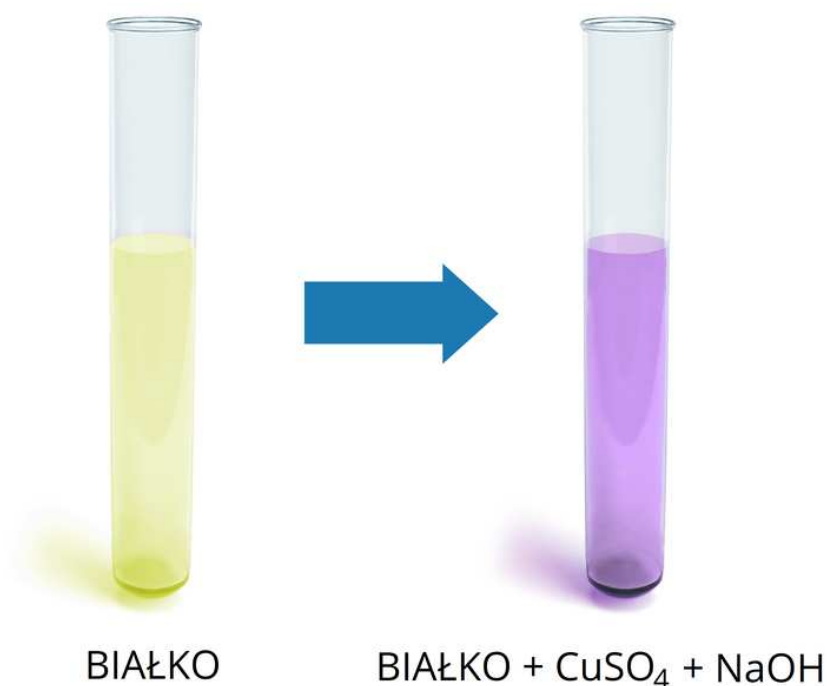


wiązania amidowe (peptydowe)

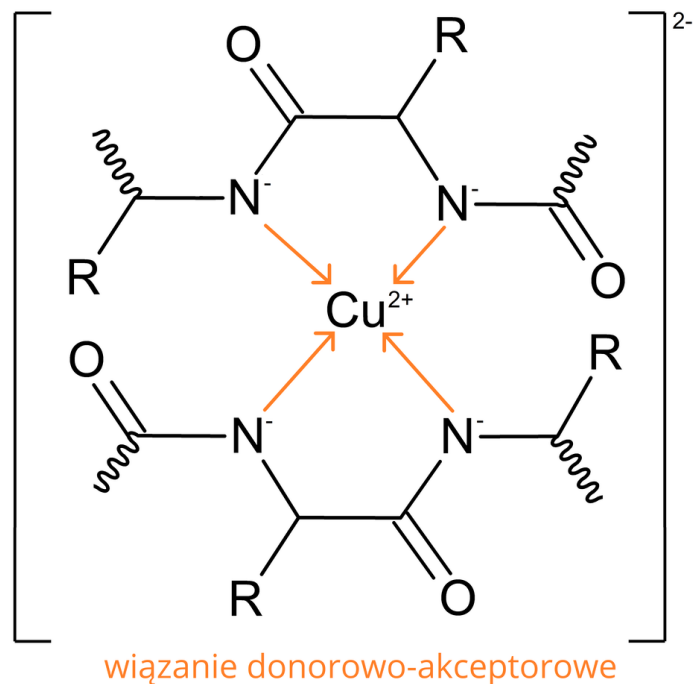
Wzór strukturalny biuretu - dimeru mocznika z zaznaczonymi na pomarańczowo wiązaniami amidowymi (peptydowymi).

Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Wiązania peptydowe reagują z jonami miedzi(II) w roztworze o odczynie zasadowym. W tym celu do roztworu białka można dodać siarczan(VI) miedzi(II) (CuSO_4) z wodorotlenkiem sodu (NaOH) lub wodorotlenkiem potasu (KOH).



Schemat reakcji biuretowej. Po dodaniu odczynników powstaje związek kompleksowy z jonami miedzi(II) i grupami amidowymi (peptydowymi).



Wzór strukturalny kompleksu peptydu z jonem miedzi(II) z zaznaczonymi na pomarańczowo wiązaniami donorowo-akceptorowymi

Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Wiązanie donorowo-akceptorowe to rodzaj wiązania chemicznego, w którym wiążąca para elektronowa pochodzi tylko od jednego atomu (w tym przypadku azotu —N).

Wyróżnia się:

- donora – dawcę wolnej pary elektronowej – w tym przypadku jest to atom azotu z grupy —NH;
- akceptora – jon metalu będący biorcą pary elektronowej – jon miedzi (Cu^{2+}).



Reakcja biuretowa. Im większa intensywność fioletowej barwy roztworu, tym większa ilość wiązań peptydowych w badanej próbce

Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Powstający [związek kompleksowy](#) ma fioletową barwę, a jego intensywność jest wprost proporcjonalna do ilości wiązań peptydowych w badanej próbce. Jest to reakcja kolorymetryczna. To znaczy, że jeżeli w roztworze obecne są związki zawierające bliskie wiązania amidowe (peptydowe), to roztwór zmienia barwę z niebieskiej na fioletową. Jest to spowodowane powstawaniem anionowych związków kompleksowych, w których jon Cu^{2+} jest kompleksowany przez minimum dwie grupy peptydowe. W przypadku występowania dimerów aminokwasów, w których jest tylko jedno wiązanie peptydowe, układ zabarwia się na różowo. Wolne aminokwasy nie zmieniają barwy roztworu. Test może być stosowany zarówno w analizie jakościowej, jak i ilościowej. W tym drugim przypadku wykorzystuje się liniową zależność zmiany barwy od stężenia protein, a w rzeczywistości od liczby podwójnych wiązań peptydowych. W oznaczeniu przeszkadzają: sole amonowe (dają barwne kompleksy z jonami miedzi) oraz siarczan(VI) magnezu (przechodzi w nierozpuszczalny wodorotlenek magnezu, który maskuje właściwą barwę).

W ten sposób można obliczyć stężenie białka w badanym roztworze. Zmianę zabarwienia określa się za pomocą spektrofotometru, który mierzy ilość



światła pobieranego przez próbkę. Na ilustracji po lewej stronie jest przedstawiony spektrofotometr do pomiaru barwy.

Zdjęcie spektrofotometru

Źródło: Dr. Reiner Düren, licencja: CC BY-SA 3.0.

Ciekawostka

Reakcję biuretową opisał w 1857 roku Gustaw Piotrowski, polski fizjolog i rektor Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Od jego nazwiska nazywana była odczynem Piotrowskiego.

Reakcja biuretowa jest powszechnie wykorzystywana w laboratoriach diagnostycznych. Za jej pomocą określa się obecność białek w płynach ustrojowych, np. krwi. Ponadto można również zbadać występowanie protein w moczu, dzięki czemu można się dowiedzieć o nieprawidłowym działaniu nerek.

Istnieją różne metody, które umożliwiają wykrycie konkretnych aminokwasów w danej próbce. Przykładowo: te, które w swojej budowie posiadają siarkę – dają pozytywny wynik reakcji cystynowej. Nie są to jednak reakcje charakterystyczne jedynie dla białek. Liczne testy chemiczne wykonywane w laboratoriach określają rodzaj oraz ilość białek w pożywieniu. Wykorzystuje się je przy produkcji żywności. Takie informacje między innymi ułatwiają planowanie zróżnicowanych posiłków.

Słownik

testy jakościowe

metody badawcze, które nie określają parametrów liczbowych, tylko sposób zachodzenia zjawisk, ich przyczyny lub skutki

testy ilościowe

metody badawcze określające parametry liczbowe badanych zjawisk

związek kompleksowy

związek chemiczny, który składa się z atomu lub jonu centralnego oraz otaczających go ligandów, związanych ze sobą za pomocą wiązania koordynacyjnego

pierścień aromatyczny

cykliczny węglowodór aromatyczny

wiązania amidowe (peptydowe)

wiązania występujące pomiędzy grupą aminową —NH_2 a grupą karbonylową —COOH w białkach

wiązanie donorowo-akceptorowe

wiązanie chemiczne, w którym wolna para elektronowa pochodzi tylko od jednego atomu. Wyróżnia się dawcę pary elektronowej i jej biorcę

Bibliografia

Doonan S., Zawadzki Z., *Białka i peptydy*, Warszawa 2008.

Kłyszewko–Stefanowicz L., *Ćwiczenia z biochemii*, 2003.

Stryer L., Berg J. M., Tymoczko J. L., *Molekularny wzór życia. Część 1. Biochemia*, Warszawa 2009, wyd. 4.

Wirtualne laboratorium – S

Laboratorium 1

Jak sprawdzić, czy w białku jajka kurzego znajdują się wiązania amidowe (peptydowe)? Przeprowadź eksperyment w laboratorium chemicznym. W formularzu zapisz problem badawczy, zweryfikuj hipotezę, uzupełnij obserwacje i wyniki, a następnie sformułuj wnioski.

Reakcja otrzymywania wodorotlenku miedzi(II)

Reakcja białka jajka kurzego ze świeżo strąconym wodorotlenkiem miedzi(II)

Reakcja białka jajka kurzego z 20% roztworem wodorotlenku potasu

Reakcja białka jajka kurzego z 20% roztworem siarczynu(VI) miedzi(II)

Szafa laboratoryjna

Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Problem badawczy:

Uzupełnij

Hipoteza:

Sprzęt laboratoryjny i odczynniki chemiczne:

Uzupełnij

Instrukcja wykonania:

Uzupełnij

Obserwacje:

Uzupełnij

Wyniki i wnioski:

Uzupełnij

Sprawdź się

Pokaż ćwiczenia:   

Ćwiczenie 1



Wybierz i zaznacz reakcję, dzięki której wykrywa się obecność wiązań amidowych (peptydowych) białka.

Reakcja cystynowa.

Metoda biuretowa.

Próba ksantoproteinowa.

Ćwiczenie 2



Zaznacz odczynniki wykorzystywane w metodzie biuretowej.

HNO_3

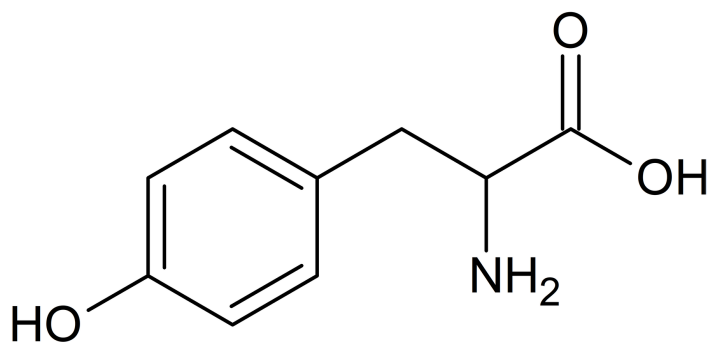
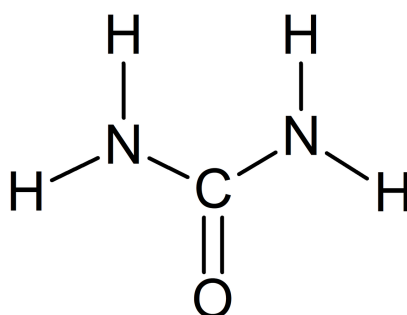
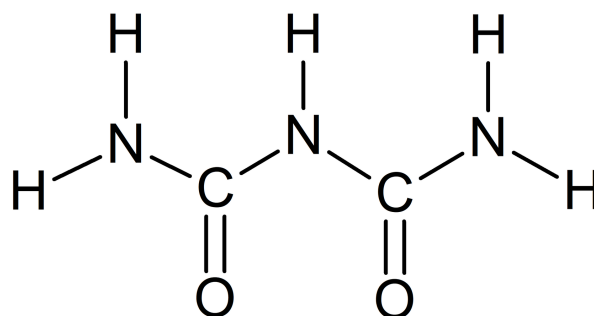
CuSO_4

NaOH

Ćwiczenie 3



Zaznacz wzór strukturalny biuretu:

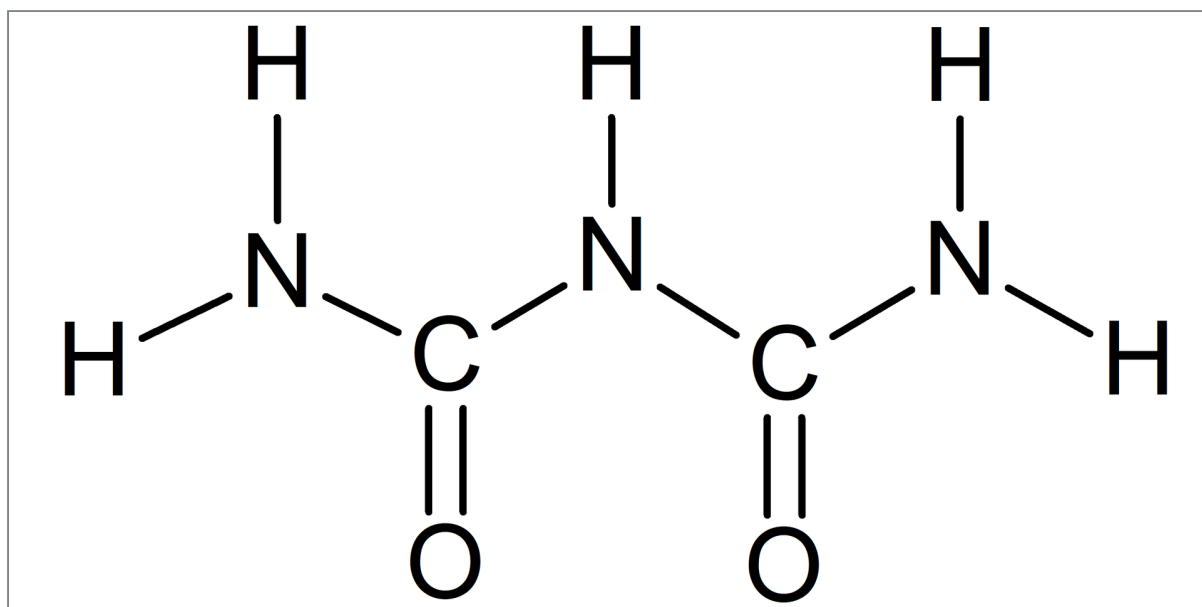


Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Ćwiczenie 4



Zaznacz wiązania peptydowe.



Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Ćwiczenie 5



Zdecyduj, czy zdania są prawdziwe, czy fałszywe.

	Prawda	Fałsz
Związek kompleksowy w metodzie biuretowej powstaje z jonami miedzi(III).	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Biuret to trimer mocznika.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
W metodzie biuretowej białka barwią się na fioletowo.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Intensywność zabarwienia jest odwrotnie proporcjonalna do ilości białka w próbce.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Ćwiczenie 6



Wymień odczynniki, które będą Ci potrzebne do przeprowadzenia reakcji biuretowej (podaj nazwę oraz wzór sumaryczny związków chemicznych).

Odpowiedź zapisz w zeszycie, zrób zdjęcie, a następnie umieść je w wyznaczonym miejscu.

Zaloguj się, aby dodać ilustrację.

Ćwiczenie 7



Narysuj schemat reakcji biuretowej. Podpisz, co znajduje się w probówkach i zanotuj barwę ich zawartości.

Odpowiedź zapisz w zeszytcie do lekcji chemii, zrób zdjęcie, a następnie umieść je w wyznaczonym polu.

Zaloguj się, aby dodać ilustrację.

Ćwiczenie 8



Zaprojektuj doświadczenie na wykrycie białka w pożywieniu. W tym celu masz do wyboru następujące odczynniki: NaOH, CuSO_4 , roztwór białka, wodę, zmielone mięso z kurczaka, roztwór jajka kurzego, mleko sojowe. Pamiętaj o próbie badawczej i próbie kontrolnej.

Analiza doświadczenia: Badanie obecności wiązań amidowych (peptydowych) w roztworze białka, zmielonym mięsie z kurczaka, roztworze jajka kurzego, mleku sojowym.

Problem badawczy:

Hipoteza:

Sprzęt laboratoryjny i odczynniki chemiczne:

Instrukcja wykonania:

Obserwacje:

Wyniki i wnioski:

Dla nauczyciela

Scenariusz zajęć

Autor: Justyna Mikołajczyk

Przedmiot: chemia

Temat: Badanie obecności wiązań peptydowych w białkach (reakcja biuretowa)

Grupa docelowa: III etap edukacyjny, liceum, technikum, zakres podstawowy i rozszerzony; uczniowie III etapu edukacyjnego – kształcenie w zakresie podstawowym i rozszerzonym

Podstawa programowa:

Zakres podstawowy

XIX. Białka. Uczeń:

4) projektuje i przeprowadza doświadczenie pozwalające na identyfikację białek (reakcja biuretowa i reakcja ksantoproteinowa).

Zakres rozszerzony

XIX. Białka. Uczeń:

4) projektuje i przeprowadza doświadczenie pozwalające na identyfikację białek (reakcja biuretowa i reakcja ksantoproteinowa).

Kształtowane kompetencje kluczowe:

- kompetencje w zakresie rozumienia i tworzenia informacji;
- kompetencje matematyczne oraz kompetencje w zakresie nauk przyrodniczych, technologii i inżynierii;
- kompetencje cyfrowe;
- kompetencje osobiste, społeczne i w zakresie umiejętności uczenia się.

Cele operacyjne:

Uczeń:

- charakteryzuje reakcje wykrywające białka;
- projektuje i przeprowadza doświadczenie na wykrywanie wiązań peptydowych;
- opisuje mechanizm reakcji biuretowej.

Strategie nauczania:

- asocjacyjna;
- problemowa.

Metody i techniki nauczania:

- eksperyment uczniowski;
- dyskusja;
- burza mózgów;
- analiza tekstu źródłowego;
- ćwiczenia laboratoryjne;
- technika zdań podsumowujących.

Formy pracy:

- praca indywidualna;
- praca w parach;
- praca w grupach;
- praca zbiorowa.

Środki dydaktyczne:

- komputery z głośnikami i dostępem do Internetu;
- słuchawki;
- rzutnik multimedialny;
- zasoby multimedialne zawarte w e-materiale;
- tablica interaktywna/tablica;
- pisak/kreda;
- aparat fotograficzny/telefon komórkowy.

Przebieg zajęć

Faza wstępna:

1. Zaciekawienie i dyskusja. Nauczyciel zadaje uczniom pytania, np.: czy możemy wykryć wiązanie peptydowe w aminokwasach białkowych i dipeptydach? Dlaczego? O czym świadczy intensywność zabarwienia badanej próbki?
2. Rozpoznawanie wiedzy wyjściowej uczniów. Burza mózgów wokół pojęcia –wiązanie peptydowe.
3. Ustalenie celów lekcji. Nauczyciel podaje temat zajęć i wspólnie z uczniami ustala cele.
4. Zasady BHP. Nauczyciel zapoznaje uczniów z kartami charakterystyk substancji, jakie zostaną użyte w czasie lekcji.

Faza realizacyjna:

1. Uczniowie analizują tekst w e-materiale – metody wykrywania wiązań peptydowych w żywności. Po samodzielnej pracy chętny lub wskazany uczeń omawia metodę biuretową, a inni uczniowie wyjaśniają pojęcia: wiązanie donorowo-akceptorowe, związek kompleksowy.
2. Prowadzący odsyła uczniów do medium bazowego w e-materiale (wirtualne laboratorium). Uczniowie w parach przeprowadzają reakcje biuretowe.
3. Eksperyment uczniowski. Nauczyciel dzieli uczniów np. na czteroosobowe grupy naukowców, w zależności od możliwości sali i jej wyposażenia. Grupy mają za zadanie zaprojektowanie i wykonanie doświadczenia mającego na celu wykrycie wiązań peptydowych w produktach spożywczych. Projekt doświadczenia uczniowie szkicują w kartach pracy, po czym liderzy grup omawiają na forum propozycję grupy. Nauczyciel analizuje propozycje uczniów, ewentualnie koryguje błędy i na koniec akceptuje. Podczas wykonywanych eksperymentów prowadzący zajęcia nadzoruje przebieg pracy uczniów.
4. Uczniowie w kartach pracy formułują pytanie badawcze, hipotezę i wnioski po zakończeniu eksperymentu. Po zakończeniu pracy chętni uczniowie prezentują efekty pracy grup na forum. Nauczyciel kontroluje wypowiedzi uczniów.
5. Nauczyciel zadaje pytanie do dyskusji: „Jakie zastosowanie ma metoda biuretowa”?

Faza podsumowująca:

1. Nauczyciel sprawdza wiedzę uczniów, wykorzystując pytania z e-materiału, np. polecenia do multimediu. Pyta:
 - Co to jest reakcja charakterystyczna?
 - Na czym polega próba biuretowa?
 - O czym świadczy pozytywny wynik próby biuretowej w badanej próbce?
3. Jako podsumowanie nauczyciel zadaje uczniom pytania, które gromadzą w swoim portfolio:
 - Przypomniałem/łam sobie, że...
 - Co było dla mnie łatwe...
 - Czego się nauczyłam/łem...
 - Co sprawiało mi trudności ...

Praca domowa:

Uczniowie wykonują ćwiczenia interaktywne w e-materiale – „Sprawdź się”.

Wskazówki metodyczne opisujące różne zastosowania multimediu:

Wirtualne laboratorium może być wykorzystane przez uczniów podczas przygotowywania się do lekcji, czy lekcji powtórzeniowej.

Materiały pomocnicze:

1. Polecenia podsumowujące (nauczyciel przed lekcją zapisuje je na niewielkich kartkach):

- Co to jest reakcja charakterystyczna?
- Na czym polega próba biuretowa?
- O czym świadczy pozytywny wynik próby biuretowej w badanej próbce?

2. Karta pracy ucznia:

Plik o rozmiarze 166.55 KB w języku polskim