

PRÀCTICA 5.

RECONeixEMENT DE PROTEÏNES

- Objectius:** Observació del fenomen de desnaturalització de les proteïnes
Identificació de proteïnes mitjançant reaccions cromàtiques
- Material:** Tubs d'assaig
Bany Maria
Pinces de fusta
- Reactius:** Solució d'albumina o clara d'ou
Àcid clorhídric concentrat
Solució saturada de sulfat amònic
Aigua destil·lada
Solució de sulfat de coure al 4%
Solució d'hidroxid sòdic al 40%
Àcid nítric concentrat

FONAMENT QUÍMIC DE LES PROVES :

▪ **DESNATURALITZACIÓ:**

La desnaturalització de les proteïnes es defineix com el procés pel qual canvia la disposició en l'espai de les cadenes polipeptídiques, es a dir s'altera algun dels seus nivells conformacionals (quaternari, terciari i secundari). Aquesta alteració es produeix a causa de la destrucció dels enllaços que mantenen estable la geometria globular de les proteïnes. En conseqüència adopten una estructura fibrosa, perden llur solubilitat i precipiten en forma de coàguls. Podem dir, doncs, que les proteïnes desnaturalitzades tenen diferent estructura molecular i diferents propietats físico-químiques que les proteïnes nadiues.

Els agents desnaturalitzants poden ser: la temperatura, metalls pesants, sals, àcids i bases fortes, etc. i els canvis que produeixen poden ser reversibles o irreversibles segons la intensitat de l'agent aplicat.

▪ **PROVA DEL BIURET :**

Es fonamenta en el fet que, en posar en contacte una substància que presenti més d'un enllaç peptídic amb el sulfat de coure, en un medi alcalí, es forma un complex entre el coure del reactiu i les restes -NH- dels enllaços peptídics que és de color rosa-violaci, segons la concentració.

▪ **PROVA XANTOPROTÈICA :**

Les proteïnes portadores d'aminoàcids amb grups benzènics són identificades per aquesta prova que es basa en la formació de compostos aromàtic-nitrats de color groc.

PROCEDIMENT :

A. Desnaturalització:

- Posa 2 cm³ de solució d'albumina en tres tubs d'assaig.
- TUB 1. Escalfa'l al bany Maria. Observa el resultat.
- TUB 2. Afegeix gota a gota àcid clorhídric concentrat fins que observis algun canvi en l'albumina.
- TUB 3. Afegeix gota a gota sulfat amònic en dissolució saturada agitant continuament el tub fins que observis algun canvi.
Posa-hi ara 4 cm³ d'aigua destil·lada i sacseja. Observa el resultat.

B. Prova del Biuret:

- Posa en un tub d'assaig 2 cm³ de solució proteica i la mateixa quantitat de NaOH al 40%. Barreja-ho bé.
- Afegeix al tub, gota a gota, una solució de sulfat de coure al 4%. Ves remenant durant l'addició.
- Observa els resultats.

C. Prova Xantoprotèica:

- Posa en un tub d'assaig o en un vidre de rellotge 2 cm³ de solució proteica i afegeix-hi la mateixa quantitat d'àcid nítric concentrat.
- Observa la coloració.
- Escalfa-ho al bany Maria i torna a anotar el resultat.

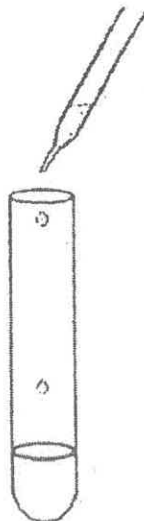
RESULTATS :

1. Desnaturalització. Dibuixa el resultat de l'experiència.

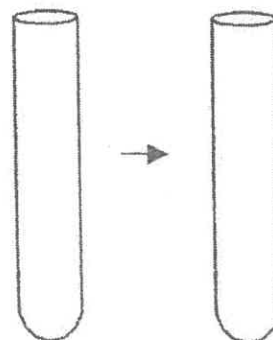
TUB 1. (↑ t)



TUB 2. (↓ pH)



TUB 3
(sal conc.) (+ H₂O dest.)



2. Que ha passat en posar la solució d'albumina en contacte amb àcids forts o en pujar la t.?

3. Quin significat físico-químic i biològic té la desnaturalització de les proteïnes?.

4. Què ha passat en afegir aigua destil·lada al tub on teníem albumina i sulfat amònic?.

5. Quina és la raó fonamental per la qual els aliments canvien quan es couen?

Quins ingredients i procediment seguiries per a fer un flam?

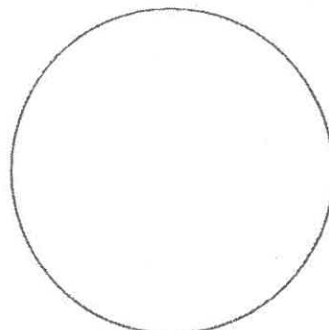
La merenga es fa batent enèrgicament les clares d'ou. Explica per què canvien d'aspecte.

6. Dibuixa el resultat de les proves:

BIURET



XANTOPROTÈICA



7. En què consisteix la reacció de Biuret?

Una proteïna desnaturalitzada també donaria positiu?. Raona la resposta.

8. En què es basa la prova Xantoprotèica?

9. Cita i formula els aminoàcids que reaccionen positivament a la prova Xantoprotèica.

10. Si després de manipular l'àcid nítric observes una coloració groga a la pell o a les ungles, què pots deduir?

MARXA DE LA PRÀCTICA

1. DESNATURALITZACIÓ (3 tubs d'assaig)

2 cm³ de solució d'albúmina. Introduir un termòmetre i prendre la temperatura. Escalfar al bany Maria o a la flama. Prendre novament la temperatura quan comença a desnaturalitzar-se la proteïna.

2 cm³ de solució d'albúmina + HCl conc. gota a gota.

2 cm³ de solució d'albúmina + (NH₄)₂ SO₄ conc.
quan es vegi algun canvi (petits coàguls) afegir H₂O destil·lada

2. BIURET (1 tub d'assaig)

2 cm³ de solució d'albúmina + 2 cm³ de Na OH al 40%
Afegir gota a gota Cu SO₄ al 4%

3. XANTOPROTÈICA (vidre de rellotge)

2 cm³ de solució d'albúmina + H NO₃ conc. gota a gota.
Escalfar al bany Maria.

