

Reakce ovalbuminu

Před příchodem žáků do laboratoře je třeba připravit tyto chemikálie v odpovídající koncentraci:

Roztok **vaječného bílku**, roztok **Pb(NO₃)₂** 1%, **(NH₄)₂SO₄** práškový, **NaCl** práškový, **ethanol**, **HNO₃** 50%, roztok **NaOH** 5%, demineralizovaná **H₂O**.

Je vhodné ověřit, že se žáci obecně seznámili s tématem, k němuž se práce v laboratoři vztahuje. Lze použít následující otázky:

- ? Co jsou to bílkoviny a z čeho jsou tvořeny?
- ? Jakou funkci mají bílkoviny v lidském organismu?

Instruktaž k bezpečnosti práce:

! Dusičnan olovnatý je látka zdraví škodlivá, kyselina dusičná a hydroxid sodný jsou látky žíravé. Je třeba žáky upozornit na bezpečnou manipulaci s těmito látkami.

! Ethanol je látka hořlavá. Je třeba dbát zvýšené opatrnosti při práci s ním v blízkosti ohně nebo zdrojů tepla.

*Pracovní postup s **poznámkami** k bezpečnosti práce a k výsledkům reakcí:*

1. Dodržujte bezpečnost práce, nezapomínejte na použití ochranných pomůcek (brýle, plášť, rukavice).
2. Do stojanu na zkumavky připravte 5 zkumavek a označte je A – E.
3. Do každé zkumavky převed'te pomocí pipety 1 ml roztoku vaječného bílku.
4. Do zkumavky A přidejte 0,5 ml roztoku olovnaté soli. Olovnatá sůl je jedovatá, pracujte s ní podle pokynů vyučujícího!
 - **Dochází ke vzniku bílé sraženiny.**
5. Do zkumavky B přidávejte po malých dílech práškový síran amonný. Pokaždé před dalším přidáním počkejte, až se předchozí dávka rozpustí. Přidávejte, dokud se nezačne tvořit sraženina.
 - **Dochází ke vzniku bílé sraženiny.**
6. Do zkumavky C přidejte malé množství chloridu sodného, zkumavku uzavřete a protřep'te. Následně ji otevřete a po kapkách přidávejte 2 ml vychlazeného ethanolu.
 - **Po přidání ethanolu dochází ke vzniku bílé sraženiny.**
7. Požádejte vyučujícího, aby do zkumavky D přidal 1 ml kyseliny dusičné. Uzavřete ji a protřep'te.
 - **Dochází ke vzniku žluté sraženiny. Tento pokus se označuje jako tzv. Xanthoproteinová reakce.**
8. Zkumavku E umístěte do držáku na zkumavky a pomocí kahanu ji zahřívejte k varu.
 - **Vlivem zvýšené teploty dochází k zakalení roztoku a následnému vzniku sraženiny.**
9. Pozorujte změny v reakcích a zapisujte je do přehledné tabulky.
10. Všechny vzniklé sraženiny se pokuste rozpustit přidáním 4 ml demineralizované vody a důkladným protřepáním v uzavřené zkumavce.
 - **K rozpuštění sraženiny dojde pouze v případě síranu amonného. Při srážení bílkovin pomocí solí, tzv. vysolování, nedochází k porušení terciální struktury bílkovin, na rozdíl od ostatních použitých reakcí. Jedná se tedy o denaturaci vratnou.**
11. Umyjte použité laboratorní nádoby, uklid'te pracovní stůl a předejte jej vyučujícímu.

Obsah protokolu:

- Je třeba zdůraznit požadavky na obsah protokolu, formu a datum odevzdání protokolu.
- Jméno a příjmení, třída, datum.
- Název a cíl práce.
- Stručný pracovní postup včetně pozorovaných změn.
- Přehlednou tabulku pozorování změn po reakci a po rozpouštění s vodou.
- Vypracujte úkoly nebo odpovězte na následující otázky:
 - o Vlastními slovy popište, co je denaturace bílkovin.
 - o Vlivem kterých faktorů probíhá vratná denaturace?
 - o Vlivem kterých faktorů probíhá denaturace nevratná?
- Denaturace bílkovin je změna jejich struktury způsobená nějakým faktorem. Takovým faktorem může být teplota, změna pH nebo další fyzikálně-chemické jevy.
- Vratná denaturace probíhá působením síranu amonného, jelikož dochází pouze k solvataci řetězců bílkovin, která je vratná.
- Z prověřovaných faktorů probíhá nevratná denaturace působením olovnatých iontů, ethanolu a kyseliny dusičné a teploty.
- Závěr.

Likvidace chemikálií:

Roztoky obsahující olovnaté ionty je třeba separovat do označené odpadní nádoby. Ostatní roztoky lze likvidovat vylitím do výlevky po dostatečném zředění.

Klasifikace použitých chemikálií:

Roztok vaječného bílku – není klasifikován jako nebezpečná látka.

Dusičnan olovnatý roztok 1%:

- H272 Může zesílit požár; oxidant.
- H360Df Může poškodit plod v těle matky. Podezření na poškození reprodukční schopnosti.
- H332 Zdraví škodlivý při vdechování.
- H302 Zdraví škodlivý při požití.
- H373 Může způsobit poškození orgánů při prodloužené nebo opakované expozici.
- H410 Vysoce toxický pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky



- P201 Před použitím si obzarejte speciální instrukce.
- P220 Uchovávejte/skladujte odděleně od hořlavých materiálů.
- P273 Zabraňte uvolnění do životního prostředí.
- P280 Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.
- P308+P313 Při expozici nebo podezření na ni: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

Chlorid sodný práškový – není klasifikován jako nebezpečná látka.

Síran amonný práškový:

- H319 Způsobuje vážné podráždění očí.
- H335 Může způsobit podráždění dýchacích cest.
- H315 Dráždí kůži.

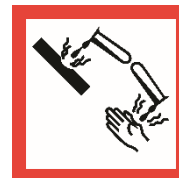


- P280 Používejte ochranné rukavice/ ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.
- P305+P351+P338 Při zasažení očí: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny, a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.

Ethanol:

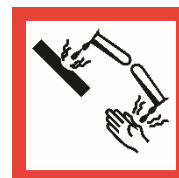
Kyselina dusičná 50%:

- H290 Může být korozivní pro kovy.
- H314 Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.
- P261 Zamezte vdechování par/aerosolů.
- P280 Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.
- P305+P351+P338 Při zasažení očí: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny, a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.
- P301+P330+P331 Při požití: Vypláchněte ústa. Nevyvolávejte zvracení.



Hydroxid sodný roztok 5%:

- H314 Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.
- H290 Může být korozivní pro kovy.
- P280 Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.
- P310 Okamžitě volejte toxikologické informační středisko nebo lékaře.
- P305 + P351 + P338 Při zasažení očí: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny, a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.



Demineralizovaná voda – není klasifikována jako nebezpečná látka.

Návrh práce pro žáky, kteří budou dříve hotovi:

- Lze zařadit další pokusy se sloučeninami, které způsobují denaturaci bílkovin, např. síran měďnatý. Rovněž lze bílkový roztok mechanicky namáhat, šlehat, v tomto případě rovněž dochází k denaturaci.
- V bílkovinách lze rovněž dokázat peptidovou vazbu tzv. biuretovou reakcí (bílek + roztok síranu měďnatého + roztok hydroxidu sodného).