



## Лабораторна робота №2 ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ

**Мета роботи:** провести реакції зворотного та незворотного осадження білка (висолювання та денатурацію відповідно); визначити ізоелектричну точку білка (желатину).

**Практичне значення роботи.** Осадження білків методом висолювання використовують для розділення білкових фракцій при одержанні очищених білків, для розділення альбумінів і глобулінів, визначення їх співвідношення у сироватці крові. Осадження білків методом денатурації білків використовується для осадження білків у біологічному матеріалі з подальшим визначенням у ньому небілкових і низькомолекулярних речовин. За допомогою ізоелектричної точки індивідуальних білків можна підібрати умови для осадження їх з біологічних рідин, що містять суміш різних білків.

**Матеріали та реактиви:** штатив для пробірок, пробірки, пробіркотримач, скляні палички, піпетки, сухе пальне, сірники; дистильована вода, 1%-й розчин яєчного білка або концентрований розчин яєчного білка, розчин сульфату амонію, хлоридна кислота; 1%-й розчин желатину; 0,1 моль/л, 1 моль/л розчини оцтової кислоти, 0,1 моль/л розчин натрій ацетату, 96%-й етиловий спирт або 95 %-й ацетон.

**Дослід 1.** Зворотне осадження білків – висолювання

**Принцип реакції.** Реакція висолювання зумовлена дегідратацією макромолекул білка з одночасною нейтралізацією його електричного заряду.

При додаванні солей лужних і лужноземельних металів  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{MgSO}_4$  до розчину білка відбувається дегідратація білкових часток, і білки випадають в осад. *При додаванні води до цього розчину гідратаційна оболонка білкових часток відновлюється, осад розчиняється.*

**Хід роботи.** До 1 мл нерозведеного яєчного білка або концентрованого розчину яєчного білка додають 1 мл розчину сульфату амонію. Рідину збовтують і спостерігають незначне помутніння. Доливають 1 мл води – *помутніння зникає*. Висолювання – зворотний процес осадження білків.

**Дослід 2.** Незворотне осадження білків – денатурація

**Принцип реакції.** Осаджуються білки з розчинів солями важких металів (купрум сульфат, плюмбум ацетат), мінеральними й органічними кислотами, кип'ятінням. При незворотному осадженні порушується гідратаційна оболонка й заряд білка. *При додаванні води до розчину гідратаційна оболонка білкових часток не відновлюється, осад не розчиняється.*

### Хід роботи.

**а) осадження білків солями важких металів.** У дві пробірки наливають по 1 мл концентрованого розчину яєчного білка, в 1-у пробірку додають декілька крапель розчину купрум сульфату, в 2-у пробірку – розчин плюмбум ацетату;

**б) осадження білків неорганічними кислотами.** У дві пробірки наливають по 1 мл кислот: у 1-у пробірку – нітратну кислоту, в 2-у пробірку – хлоридну кислоту. Потім у кожен обережно по стінці доливають рівний об'єм концентрованого розчину яєчного білка;

**в) осадження білків при нагріванні.** У пробірку наливають 1 мл концентрованого розчину яєчного білка та кип'ятять.

**!!!** Доливають 1 мл води в усі пробірки – *осад не зникає*. Денатурація – незворотний процес осадження білків.

Результати дослідів 1-2 запишіть у таблицю 4 за аналогією:

Таблиця 4

#### Властивості білків

№ п/п	Назва досліду	Реактиви, які використовуються	Зміни, що відбуваються під час реакції	Зміни після додавання води	Висновок
1	2	3	4	5	6
1	Зворотне осадження білків – висолювання	1) 1 мл нерозведеного яєчного білка; 2) 1 мл розчину амоній сульфату; збовтують	Слабке помутніння	Помутніння зникає	Висолювання – зворотний процес осадження білків

### Дослід 3. Визначення ізоелектричної точки білка (желатину)

**Принцип реакції.** Визначення ізоелектричної точки білків ґрунтується на здатності білків легко осаджуватися під дією осаджувачів, що викликають дегідратацію білків, при значенні рН середовища, яке відповідає їх ізоелектричній точці.

*Ізоелектрична точка (ІЕТ)* – значення рН, при якому білок має сумарний нульовий заряд, тобто є електронейтральним.

**Хід роботи.** У 6 пробірок поміщають відповідну кількість (мл) дистильованої води, розчинів оцтової кислоти (0,1 моль/л або 1 моль/л), натрій ацетату (0,1 моль/л) та желатину (таблиця 5).

Схема визначення ізоелектричної точки білка (желатину)

№ пробірки	Вода (мл)	CH <sub>3</sub> COOH (0,1 моль/л) (мл)	CH <sub>3</sub> COOH (1 моль/л) (мл)	CH <sub>3</sub> COONa (0,1 моль/л) (мл)	Розчин желатину (1%-й)	Спирт або ацетон (мл)	pH середовища	Зміни, що спостерігаю- ться*
1	3,8	0,2	–	2,0	2,0	2,0	5,6	
2	3,5	0,5	–	2,0	2,0	2,0	5,3	
3	3,2	–	0,8	2,0	2,0	2,0	5,0	
4	3,0	1,0	–	2,0	2,0	2,0	4,7	
5	2,0	2,0	–	2,0	2,0	2,0	4,4	
6	–	4,0	–	2,0	2,0	2,0	4,1	

*Примітка.* \* – «–» – відсутність помутніння; «+» – слабе помутніння; «++» – середнє помутніння; «+++» – значне помутніння

Вміст кожної пробірки перемішують. Потім у всі пробірки повільно по стінці доливають по 2 мл спирту (або ацетону).

Через 30 хв визначають ізоелектричну точку. Вона буде відповідати значенню pH у пробірці з максимальним ступенем помутніння.

**За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.**