**Πείραμα 1ο: ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΣΤΙΣ ΤΡΟΦΕΣ**

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Οι πρωτεΐνες είναι μεγάλες και πολύπλοκες οργανικές ενώσεις (μακρομόρια - πολυμερή) και αποτελούν από τα πλέον διαδεδομένα και πολυδιάστατα στη μορφή και στη λειτουργία βιομόρια. Οι δομικοί λίθοι (**μονομερή** των πρωτεϊνών) είναι τα **αμινοξέα**. Έχουν προσδιοριστεί πάνω από 170 αμινοξέα, από τα οποία μόνο 20 αποτελούν το συστατικό των πρωτεϊνών. Τα διαδοχικά αμινοξέα συνδέονται μεταξύ τους με **πεπτιδικό** **δεσμό** και σχηματίζουν **πολυπεπτιδικές αλυσίδες.**

Διακρίνουμε 3 ή 4 επίπεδα διαμόρφωσης της δομής μιας πρωτεΐνης.

Με κριτήριο την λειτουργία τους τις ταξινομούμε σε **δομικές** και **λειτουργικές**.

Συγκεκριμένα συμμετέχουν:

* στη δομή των κυττάρων (π.χ. κολλαγόνο, ελαστίνη) - **ΔΟΜΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ**
* στον μηχανισμό της άμυνας του οργανισμού (αντισώματα) - **ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ**
* στον μηχανισμό της καταλυτικής δράσης (ένζυμα) - **ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ**
* στον μηχ/σμό της μεταφοράς ουσιών (π.χ. αιμοσφαιρίνη, μυοσφαιρίνη) - **ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ**
* στον μηχανισμό της ρύθμισης πολλών λειτουργιών (ορμόνες) - **ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ**
* στην αποθήκευση ουσιών (π.χ. φεριτίνη) - **ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ**
* στη λειτουργία της κίνησης (π.χ. μυοσίνη, ακτίνη) - **ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ**.
* Τέλος, μπορεί να χρησιμεύσουν και ως πηγή ενέργειας. (Ένα γραμμάριο πρωτεΐνης ισοδυναμεί με 4 θερμίδες.)

α) η πρωτοταγής δομή των πρωτεϊνών αναφέρεται στον αριθμό και τη σειρά (αλληλουχία) των αμινοξέων στην πεπτιδική αλυσίδα. Καθορίζεται από τον πεπτιδικό δεσμό.

β) η δευτεροταγής δομή αναφέρεται στην δομή της α- έλικας (ελικοειδής μορφή), ή της β-φυλλοειδούς διαμόρφωσης, β-έλασμα (πτυχωτή μορφή), της πεπτιδικής αλυσίδας. Καθορίζεται από μεταξύ των πλευρικών ομάδων των αμινοξέων.

γ) η τριτοταγής δομή έχει σχέση με την αναδίπλωση της πεπτιδικής αλυσίδας στον χώρο. Καθορίζεται από δεσμούς υδρογόνου, υδρόφοβες και ιοντικές αλληλεπιδράσεις, δεσμούς S-S (δισουλφιδικοί ή γέφυρες θείου), δυνάμεις Wan Der Waals, που αναπτύσσονται μεταξύ των πλευρικών ομάδων των αμινοξέων της αλυσίδας.

δ) η τεταρτοταγής δομή έχει σχέση με τον τρόπο που δύο ή περισσότερες πεπτιδικές αλυσίδες, διατάσσονται στον χώρο, ή συνδέονται η μία με την άλλη, για να αποτελέσουν ένα ενιαίο πρωτεϊνικό μόριο με κάποια λειτουργική ιδιότητα. Καθορίζεται από δεσμούς υδρογόνου, υδρόφοβες και ιοντικές αλληλεπιδράσεις, δεσμούς S-S (δισουλφιδικοί ή γέφυρες θείου), που αναπτύσσονται μεταξύ των πολυπεπτιδικών αλυσίδων.

Οι διάφορες τροφές αποτελούν προϊόντα φυτικής ή ζωικής παραγωγής. Μέσα σε αυτές υπάρχει ποικιλία χημικών μορίων όπως **πρωτεΐνες**, **υδατάνθρακες** (σάκχαρα), **λίπη**, **βιταμίνες**, ορισμένα άλατα **μετάλλων** και νερό, τα οποία αποτελούν τα βασικά **θρεπτικά συστατικά.**

Οι πρωτεΐνες αποτελούν ένα από τα κύρια θρεπτικά συστατικά της διατροφής.

Διακρίνουμε 2 κατηγορίες πρωτεϊνών: **φυτικές** και **ζωικές**. Τροφές πλούσιες σε ζωικές πρωτεΐνες είναι: το κρέας, το συκώτι, το γάλα, τα αβγά. Τροφές πλούσιες σε φυτικές πρωτεΐνες είναι: τα δημητριακά, τα όσπρια, οι ξηροί καρποί.

**ΣΤΟΧΟΙ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ**

1. Η κατανόηση των τρόπων με τους οποίους μπορούμε να ανιχνεύσουμε τις πρωτεΐνες στις τροφές (αντίδραση διουρίας, αντίδραση ξανθοπρωτεΐνης, αντίδραση θειούχου μολύβδου).
2. Η διαπίστωση της ύπαρξης πρωτεϊνών σε διάφορα τρόφιμα.

#### Απαιτούμενα

|  |  |
| --- | --- |
| **ΟΡΓΑΝΑ** | **ΥΛΙΚΑ** |
| * Στήριγμα δοκιμαστικών σωλήνων | * Διάλυμα θειικού χαλκού (CuSO4)0,1Μ |
| * Δοκιμαστικοί σωλήνες | * Πυκνό Διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου (ΝαΟΗ) 1Μ |
| * Ποτήρια ζέσεως | * Πυκνό Διάλυμα (ΗΝΟ3) 1Μ |
| * Υαλοαναδευτήρας (Γυάλινη ράβδος) | * Αποσταγμένο νερό |
| * γουδί | * Διάλυμα οξικού μόλυβδου (CH3COO)2Pb |
| * Λύχνος Bunsen, τρίποδας, πλέγμα | * Διάφορες τροφές: Αυγό, Συκώτι, Γάλα, |
| * σταγονόμετρο | * Αλεύρι, Χυμός, Πατατάκια, Φρούτα |
| * Αυτοκόλλητες ετικέτες |  |

**Α. ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΔΙΟΥΡΙΑΣ (Biuret reaction)**

Την αντίδραση αυτήν την δίδουν πρωτεΐνες, πολυπεπτίδια και γενικά ενώσεις με δύο τουλάχιστον πεπτιδικούς δεσμούς. Οι ενώσεις αυτές σχηματίζουν με Cu2+  διαλυτά σύμπλοκα με ιώδες ή μενεξελί χρώμα. Τα σύμπλοκα σχηματίζονται λόγω τις σύνδεσης μεταξύ του ιόντος χαλκού και των πεπτιδικών δεσμών δύο γειτονικών πρωτεϊνικών αλυσίδων.

#### Διαδικασία πειράματος - Βήματα

1. Μέσα σε ποτήρι ζέσεως ρίχνουμε μικρή ποσότητα λευκώματος αυγού (ασπράδι) και προσθέτουμε **πενταπλάσια** ποσότητα νερού βρύσης. Ανακατεύουμε καλά με μία γυάλινη ράβδο ώστε να **ομογενοποιηθεί**.
2. Αφήνουμε για 5΄ να καθίσουν τα αδιάλυτα μέρη και να μείνει διαυγές το υπεράνω διάλυμα.
3. Παίρνουμε λίγο υγρό (2 -3 mL) από το διαυγές αυτό διάλυμα και το τοποθετούμε σε δοκιμαστικό σωλήνα.
4. Σε  2ο δοκιμαστικό σωλήνα τοποθετούμε ξεχωριστά νερό (μάρτυρας),
5. Επίσης σε άλλους δοκιμαστικούς σωλήνες τοποθετούμε ξεχωριστά γάλα (3ος σωλήνας) & αλεύρι διαλυμένο σε νερό (4ος σωλήνας).

(*Κολλάμε αυτοκόλλητη ετικέτα πάνω στον καθένα που αναγράφει το περιεχόμενό του.)*

1. Προσθέτουμε λίγες σταγόνες από το διάλυμα CuSO4  και ανακατεύουμε.
2. Ανακινούμε κάθε σωλήνα ώστε να γίνει καλή ανάμιξη και στη συνέχεια προσθέτουμε λίγες σταγόνες του διαλύματος NαOH (σταγόνα – σταγόνα).
3. Οι σωλήνες στους οποίους εμφανίζεται το **μενεξελί** χρώμα περιέχουν πρωτεϊνικά μόρια.

#### Παρατηρήσεις

Τροφές πλούσιες σε πρωτεΐνες (αυγό, γιαούρτι, σόγια) εμφανίζουν έντονο ιώδες χρώμα. Τροφές με μέτρια περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (φυστίκι, γάλα) εμφανίζουν ανοιχτό ιώδες χρώμα. Σε τροφές φτωχές σε πρωτεΐνες (ελαιόλαδο, χυμός) δεν παρατηρείται ιώδες χρώμα.

**B. ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΞΑΝΘΟΠΡΩΤΕΪΝΗΣ**

Με την προσθήκη πυκνού νιτρικού οξέος σε πρωτεΐνες παράγεται χαρακτηριστικό κίτρινο χρώμα που γίνεται πιο έντονο μετά από θέρμανση (αντίδραση ξανθοπρωτεΐνης). Ο χρωματισμός οφείλεται στα αμινοξέα τρυπτοφάνη και τυροσίνη, που πάντοτε βρίσκονται στις πρωτεΐνες, που αντιδρούν με το νιτρικό οξύ και παράγουν κίτρινα αρωματικά νιτροσώματα (π.χ. 3-νιτροτυροσίνη}.

#### Διαδικασία πειράματος - Βήματα

1. Τοποθετούμε περίπου 1 mL εναιωρήματος τροφής σε δοκιμαστικό σωλήνα (μεταχειριζόμαστε τις τροφές όπως στην περίπτωση της αντίδρασης διουρίας.

***Σχόλιο*:** Σ΄ αυτό το πείραμα το διάλυμα **Ασπράδι αυγού : Νερό** να είναι σε αναλογία **1:1**).

1. Προσθέτουμε 1 mL πυκνού νιτρικού οξέος σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα.
2. Τοποθετούμε το δοκιμαστικό σωλήνα σε ποτήρι ζέσης που περιέχει νερό βρύσης, το οποίο θερμαίνεται με τη βοήθεια λύχνου Bunsen.
3. Παρατηρούμε την εμφάνιση χαρακτηριστικού κίτρινου χρώματος στους δοκιμαστικούς σωλήνες που περιέχουν τροφή πλούσια σε πρωτεΐνες.

**Γ. Αντίδραση θειούχου μολύβδου**

Με το βρασμό πρωτεΐνης με διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου, παρουσία άλατος του μολύβδου παράγεται **μέλαν (μαύρο) ή καστανό ίζημα** (αντίδραση θειούχου μολύβδου). Το χαρακτηριστικό χρώμα οφείλεται στο θειούχο μόλυβδο (ο οποίος καθιζάνει), που παράγεται όταν ο οξικός μόλυβδος αντιδράσει με το θείο των αμινοξέων κυστεΐνης και μεθειονίνης των πρωτεϊνών.

#### Διαδικασία πειράματος - Βήματα

1. Τοποθετούμε περίπου 1 mL εναιωρήματος τροφής σε δοκιμαστικό σωλήνα (μεταχειριζόμαστε τις τροφές όπως στην περίπτωση της αντίδρασης διουρίας.

***Σχόλιο*:** Σ΄ αυτό το πείραμα το διάλυμα **Ασπράδι αυγού : Νερό** να είναι σε αναλογία **1:1**).

1. Προσθέτουμε 4 – 5 σταγόνες διαλύματος NaOH σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα και **αναδεύουμε καλά.**
2. Προσθέτουμε 1 ml διαλύματος οξικού μολύβδου σε κάθε δοκιμαστικό σωλήνα και αναδεύουμε καλά.
3. Τοποθετούμε τους δοκιμαστικούς σωλήνες σε ποτήρι ζέσης με νερό βρύσης που θερμαίνεται (υδατόλουτρο).
4. Παρατηρούμε την εμφάνιση χαρακτηριστικού καστανού ή μαύρου ιζήματος στους δοκιμαστικούς σωλήνες με τροφή που περιέχει πρωτεΐνη.

**ΦΥΛΛΟ ΕΡΓΑΣΙΑΣ – πείραμα 1ο**

1. Συμπληρώστε τους παρακάτω πίνακες με τις παρατηρήσεις σας.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Δοκιμαστικός σωλήνας** | **1** | **2** | **3** | **4** |
| Προϊόν | **Ασπράδι αυγού** | **Νερό** | **Γάλα** | **Δ/μα αλευριού** |
| Αρχικό χρώμα διαλύματος |  |  |  |  |
| Τελικό χρώμα διαλύματος |  |  |  |  |
| Αντίδραση **διουρίας**  (θετικό ή αρνητικό) |  |  |  |  |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Δοκιμαστικός σωλήνας** | **1** | **2** | **3** | **4** |
| Προϊόν | **Ασπράδι αυγού** | **Νερό** | **Γάλα** | **Δ/μα αλευριού** |
| Αρχικό χρώμα διαλύματος |  |  |  |  |
| Τελικό χρώμα διαλύματος |  |  |  |  |
| Αντίδραση **ξανθοπρωτεΐνης**  (θετικό ή αρνητικό) |  |  |  |  |

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Δοκιμαστικός σωλήνας** | **1** | **2** | **3** | **4** |
| Προϊόν | **Ασπράδι αυγού** | **Νερό** | **Γάλα** | **Δ/μα αλευριού** |
| Αρχικό χρώμα διαλύματος |  |  |  |  |
| Τελικό χρώμα διαλύματος |  |  |  |  |
| Αν/ση **θειούχου μολύβδου**  (θετικό ή αρνητικό) |  |  |  |  |

1. Τι συμπεραίνετε σχετικά με την ύπαρξη ή όχι πρωτεϊνών στους 4 δοκιμαστικούς σωλήνες;

………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………

1. Γιατί πιστεύετε ότι χρησιμοποιούμε νερό (σωλήνας 2ος) στο συγκεκριμένο πείραμα;

…………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………

1. Τι αποτέλεσμα πιστεύετε ότι θα είχαμε αν αντί για ασπράδι αυγού είχαμε διάλυμα αλανίνης (αμινοξύ);

………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………………

**ΜΕΤΟΥΣΙΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ**

Μετουσίωση είναι η καταστροφή ή η αλλαγή της τριτοταγούς δομής των πρωτεϊνών και συνεπάγεται την απώλεια της λειτουργικότητά της. Η μετουσίωση γίνεται με έκθεση της πρωτεΐνης σε ακραίες τιμές θερμοκρασίας και pH, (μερικές φορές αρκούν και μικρές αλλαγές της θερμοκρασίας ή του pH), με αποτέλεσμα να σπάζουν οι δεσμοί που έχουν αναπτυχθεί μεταξύ των πλευρικών ομάδων των αμινοξέων που είναι αυτοί που διαμορφώνουν την τριτοταγή δομή της και τότε η πρωτεΐνη εγκαταλείπει το σφαιρικό της σχήμα και αποκτά σχήμα αλυσίδας.

***Σχόλιο*:** Οι πρωτεΐνες μπορούν να μετουσιωθούν και με μηχανικό τρόπο, (για παράδειγμα, το χτύπημα των αυγών και το χτύπημα του κρέατος, για να γίνει πιο μαλακό, έχουν αυτό το αποτέλεσμα).

Κατά τη μετουσίωση **δεν** **επηρεάζονται οι ομοιοπολικοί δεσμοί**, άρα η πρωτοταγής δομή του πολυπεπτιδίου παραμένει ανέπαφη. Η μετουσίωση επηρεάζει τις φυσικές και βιολογικές ιδιότητες της πρωτεΐνης.

**Πείραμα 2ο & 3ο:**

**Η ΜΕΤΟΥΣΙΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΛΟΓΩ ΜΕΤΑΒΟΛΗΣ ΤΗΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΣ**

**ΜΕΤΟΥΣΙΩΣΗ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΛΟΓΩ ΜΕΤΑΒΟΛΗΣ ΤΟΥ pH**

#### Απαιτούμενα

|  |  |
| --- | --- |
| **ΟΡΓΑΝΑ** | **ΥΛΙΚΑ** |
| * Στήριγμα δοκιμαστικών σωλήνων | * Διάλυμα ωαλβουμίνης   (ασπράδι αυγού σε νερό σε αναλογία 1:1) |
| * Δοκιμαστικοί σωλήνες | * Γάλα |
| * Ποτήρια ζέσεως | * Διάλυμα υδροχλωρικού οξέος 10% |
| * Γυάλινη ράβδος ανάδευσης |  |
| * Λύχνος Bunsen, τρίποδας, πλέγμα |  |

#### Διαδικασία 2ου πειράματος - Βήματα

1. Χωρίζουμε προσεκτικά το ασπράδι του αβγού από τον κρόκο. Τοποθετούμε το ασπράδι σε ένα ποτήρι και προσθέτουμε νερό βρύσης σε αναλογία 1:1 περίπου. (Το μίγμα αυτό το ονομάζουμε διάλυμα ωοαλβουμίνης).
2. Προσθέτουμε 300 mL νερού της βρύσης σε ποτήρι των 500 mL και αφού τοποθετήσουμε το ποτήρι σε τρίποδα που φέρει πλέγμα, το θερμαίνουμε με λύχνο μέχρι να βράσει το νερό. Στη συνέχεια σβήνουμε το λύχνο.
3. Προσθέτουμε από 2 - 3 mL του διαλύματος του ωαλβουμίνης σε ένα μικρό δοκιμαστικό σωλήνα.
4. Τοποθετούμε το σωλήνα στο δοχείο με το θερμό νερό, το αφήνουμε για λίγη ώρα ώστε να θερμανθεί.
5. Παρατηρούμε τη μεταβολή.

#### Διαδικασία 3ου πειράματος - Βήματα

1. Τοποθετούμε στο ένα ποτήρι λίγο από το διάλυμα της ωοαλβουμίνης και στο άλλο λίγο γάλα.
2. Προσθέτουμε στα δύο ποτήρια, σταγόνα, σταγόνα, το οξύ και αναδεύουμε με την γυάλινη ράβδο.
3. Παρατηρούμε τις μεταβολές.

**ΦΥΛΛΟ ΕΡΓΑΣΙΑΣ – πείραμα 2ο & 3ο**

1. Πως αντιλαμβανόμαστε τη μετουσίωση της πρωτεΐνης στα παραπάνω πειράματα;

....................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................

1. Πως εξηγείται η μετουσίωση της πρωτεΐνης στα παραπάνω πειράματα;

....................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................

1. Τι παθαίνει το ασπράδι του αβγού, όταν το τηγανίζουμε ή το βράζουμε; Που νομίζεται ότι οφείλεται αυτό;

...............................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................

1. Γνωρίζεται κάποιο φαγητό που κατά την παρασκευή του παρατηρούμε μετουσίωση πρωτεϊνών;

.............................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................

1. Όταν προσθέτουμε το υδροχλωρικό οξύ στο διάλυμα της ωοαλβουμίνης, στα σημεία επαφής της σταγόνας του οξέως με το διάλυμα παρατηρούμε να δημιουργείται μια λευκή ζώνη. Τι είναι αυτή η ζώνη κατά την άποψή σας;;

............................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................................