

## IDENTIFICACIÓN DE PROTEÍNAS

---

Las proteínas son las biomoléculas más versátiles y más diversas, desempeñando papeles fundamentales en la célula viva. El objetivo de la práctica es aplicar técnicas básicas de análisis bioquímico para la identificación de proteínas (reacción del Biuret y xantoproteica) y experimentar la desnaturalización de proteínas.

El reactivo de Biuret lleva sulfato de cobre (II) y el Cu da color azul. En un medio fuertemente alcalino (sosa o potasa) se coordina con los enlaces peptídicos formando un complejo de color violeta en presencia de proteínas, y da rosa cuando se combina con polipéptidos de cadena corta. La reacción de Biuret es colorimétrica, es decir, a mayor concentración de proteínas, mayor intensidad de color violeta.

En la reacción xantoproteica, el  $\text{HNO}_3$  reacciona con el radical fenilo de los aminoácidos que lo contienen y se transforma en un hidroxibenceno que da el color amarillo característico de esta reacción, de ahí su nombre. Si una vez realizada la prueba se neutraliza con una base vira a un color anaranjado oscuro.

### **Material**

- Vasos de precipitados
- Gradilla con tubos de ensayo
- Pipetas
- Mechero bunsen
- Agua destilada
- Varilla de vidrio
- Papel indicador de pH
- HCl al 1%
- $\text{HNO}_3$  al 20%
- NaOH al 20%.
- $\text{CuSO}_4$  al 1%
- $\text{NH}_3$  al 25%.
- Diversas muestras de alimentos (clara de huevo, leche, jamón, )
- Disolución de albúmina comercial al 2%

\* En lugar de albúmina comercial puede utilizarse clara de huevo:

1º. Se bate suavemente la clara de un huevo durante 2 ó 3 minutos.

2º. Se le añade 5 veces su volumen de agua.

3º. Se filtra la mezcla y se recoge el líquido resultante (disolución de albúmina)

### **Método**

#### **1ª parte. Detección de proteínas en los alimentos (Biuret)**

- \* Preparar la disolución de albumina machacando en el almirez una cucharada de albumina hasta conseguir un polvo fino y añadiéndole luego 5 ml de agua. Revolver enérgicamente hasta que se disuelva la mayor parte de la albumina.
- \* Coge varios tubos de ensayo y añade en uno de ellos 3 ml de solución de albumina y en los restantes muestras de los distintos alimentos

- \* A continuación añade 3ml (20 gotas) de solución de NaOH al 20%.
- \* Añade 2-4 gotas de solución de  $\text{CuSO}_4$  al 1% a cada uno.
- \* Agita con cuidado para que se mezcle bien.
- \* Anota en una tabla tus resultados, marcando un signo (+) si se detecto la presencia de proteína y (-) si no la hay.

### **Cuestiones**

1. *Comenta los resultados ¿Cómo podríamos saber que una sustancia desconocida es una proteína?*
2. *¿Qué muestra tiene mayor contenido en proteínas?*
3. *¿Qué color adquiere el líquido al añadir las 4 gotas de  $\text{CuSO}_4$ ?*
4. *¿Una proteína coagulada podría dar la reacción del Biuret?*
5. *Si se realiza la reacción del Biuret sobre un aminoácido como la glicina ¿daría positiva o negativa? ¿Por qué?*
6. *¿Cómo podrías comprobar que el cambio de color se debe a la presencia de albúmina y no a las propiedades de las disoluciones utilizadas? Diseña el experimento*

### **2ª parte. Reacción Xantoproteica**

- \* Vierte 1 ml de disolución de albúmina en un tubo de ensayo. Utiliza una pipeta graduada.
- \* Añade al tubo de ensayo 1 ml de  $\text{HNO}_3$  al 20%, que crea un medio ácido.

#### **Cuestiones**

1. *Dibuja el tubo de ensayo e indica cuál es su contenido.*
  2. *¿Qué color adquiere la disolución al verter el  $\text{HNO}_3$ ?*
  3. *Compara los cambios que se producen en la consistencia de la disolución desde que viertes el  $\text{HNO}_3$  hasta pasados 2 minutos y anótalos. ¿A qué es debido? Explica lo que le ha ocurrido a la albúmina.*
- \* Calienta suavemente el tubo de ensayo al baño María durante 3 minutos, sin que hierva la disolución, agitándolo con una varilla de vidrio.
    4. *¿Qué color adquiere la disolución al calentarla suavemente?*
    5. *¿Se produce algún cambio en la consistencia de la disolución al calentarla? Si se produce alguno, indícalo. ¿A qué crees que se debe?*
  - \* Deja enfriar el tubo de ensayo. Cuando esté frío, deja resbalar por sus paredes 10 gotas de  $\text{NH}_3$ , que crea un medio básico.
  - \* Agita el tubo de ensayo hasta que se mezclen ambos líquidos.
    6. *¿Qué color adquiere ahora la disolución?*

### **3ª parte. Desnaturalización de una proteína**

- \* Coloca en tres tubos de ensayo 2 ml de albumina o de leche, al tubo 1 agregarle 2 ml de agua, al tubo 2 agregarle 2 ml de solución de HCl al 1% y al tubo 3 agregarle 2 ml de solución de Na(OH) al 20%
- \* Observar los cambios en los tubos de ensayo
- \* Mide el pH en las tres muestras por medio del papel pH

### **Cuestiones**

*Explica tus resultados en términos de la desnaturalización de una proteína*

- \* Nota. Si las muestras están frías, prepara un baño maría en el vaso de precipitado y sumerge los tubos por un minuto para verificar la reacción.

*¿Cuál de los tres agentes utilizados tiene mayor poder de desnaturalización?*