

Naziv projekta: Digitalizacija hemijskih eksperimenata u cilju unapređenja kvaliteta i podrške nastavi hemije u srednjim školama
Akronim: ChemIQSoc
Broj projekta: 2021-1-SK01-KA220-WET-000027995



Naziv: **Određivanje proteina biuretskom metodom**

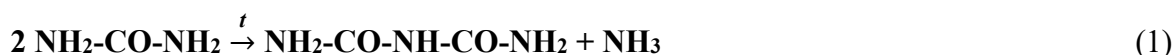
Uputstvo za rad

Zadatak: Odrediti koncentraciju BSA u dostavljenom uzorku u g/L.

Teorijski deo

Proteini reaguju sa jonima bakra u alkalnoj sredini pri čemu nastaje kompleks ljubičaste boje. Kompleksno jedinjenje se formira koordinacionom vezom između centralnog jona – kationa bakra i slobodnih elektronskih parova na azotu u peptidnim vezama.

Reakciju obično obezbeđuju supstance koje sadrže dve grupe u molekulu $-\text{CO}-\text{NH}_2$ ili $-\text{CO}-\text{NH}-$. Dakle, ne samo proteini, već i peptidi daju reakciju. Naziv reakcije potiče od najjednostavnijeg jedinjenja koje daje ovu reakciju, biure. Biure se formira zagrevanjem uree, kada dođe do dezminacije.



Pribor: čaše, odmerno staklo, epruvete, postolje za epruvete, automatske pipete, spektrometar, kivete, vaga, mešalica, pribor za pisanje, kalkulator, milimetarska hartija

Hemikalije: BSA (goveđi serumski albumin), bakar-sulfat pentahidrat, natrijum-kalijum-tartarat, kalijum-jodid, natrijum-hidroksid

Postupak

1. Pročitajte obaveštenje o riziku i bezbednosna upozorenja za rad sa hemikalijama. Nosite zaštitne naočare i rukavice!
2. Prvo, pročitajte celu proceduru. Vizualizujte proces: skicirajte svaki uređaj i zapišite količine supstanci, zapisujući korake razdvajajući ih strelicama, na primer.

Priprema rastvora

1. Pripremite 100 ml standardnog rastvora albumina sa masenom koncentracijom od 10g/l.
2. Pripremite kalibracione rastvore iz početnog rastvora albumina; 2; 4; 6 i 8 g / l u odmernim tikvicama od 25 ml.
3. Pripremite Biure reagens rastvaranjem 0,75 g bakar sulfata pentahidrata i 3 g natrijum-kalijum-tartarata u 250 ml destilovane vode. Zatim dodajte 150 ml 10% rastvora kalijum-hidroksida i dopunite zapreminu do 500 ml. Na kraju dodajte 0,5 g kalijum-jodida.

Naziv projekta: Digitalizacija hemijskih eksperimenata u cilju unapređenja kvaliteta i podrške nastavi hemije u srednjim školama

Akronim: ChemIQSoc

Broj projekta: 2021-1-SK01-KA220-WET-000027995



Priprema kalibracionih rastvora i uzoraka za merenje

1. Pripremite i označite sedam epruveta:
 - pipetirajte 2 ml deionizovane vode (slepa proba) u prvu epruvetu,
 - pipetirajte 2 ml pripremljenih kalibracionih rastvora u epruvete 2-6.
 - pipetirajte 2 ml nepoznatog uzorka albumina u epruvetu 7.
2. Dodajte 4 ml Biure reagensa u sve epruvete. Mešajte epruvete na mešalici i ostavite da reaguju 30 minuta.
3. Izmerite apsorpciju svih pripremljenih kalibracionih rastvora i uzorka pića u odnosu na slepu probu na 520 nm. Izmerite svaki uzorak najmanje tri puta.

Obrada mernih podataka

1. Konstruišite kalibracionu krivu $A = f(c_m)$ na osnovu eksperimentalno dobijenih vrednosti apsorpcije, iscrtajte jednačinu regresijske linije i vrednost koeficijenta pouzdanosti R^2 .
2. Iz kalibracione krive ili regresijske jednačine, izračunati koncentraciju mase BSA u nepoznatom uzorku, izraziti ga u g / L.

Upravljanje hemijskim supstancama

Hemikalije	Oblik supstanci	H-oznake	P-oznake
CuSO ₄ ·5H ₂ O	Čvrst	H302, H319, H315, H410	P273, P302 + P352, P305 + P351 + P338
Natrijum-kalijum-tartarat	Čvrst	---	---
KI	Čvrst	H372	P270
KOH	Čvrst	H314, H290	P280, P310, P305 + P351 + P338
BSA	Čvrst	H290, H315, H319, H335	---

Izvori procene rizika i ozbiljnosti rizika

Nema rizika ako se pridržavate svih principa za rad sa hemikalijama i koristite ličnu zaštitnu opremu (rukavice, naočare, mantil).

Metoda upravljanja otpadom

Hemikalije odlažemo u određene posude za sakupljanje.

Naziv projekta: Digitalizacija hemijskih eksperimenata u cilju unapređenja kvaliteta i podrške nastavi hemije u srednjim školama
Akronim: ChemIQSoc
Broj projekta: 2021-1-SK01-KA220-WET-000027995



Mere za ublažavanje rizika

Korišćenje lične zaštitne opreme (naočare, rukavice, mantil).

Literatura

1. Sedlák, E. et al.: *Praktične vežbe iz biohemije*. 1. izdanje. Košice, 2020. 154 str. ISBN 978-80-8152-902-3.

Naziv projekta: Digitalizacija hemijskih eksperimenata u cilju unapređenja kvaliteta i podrške nastavi hemije u srednjim školama
Akronim: ChemIQSoc
Broj projekta: 2021-1-SK01-KA220-WET-000027995



Radni list

Proračuni za pripremu rastvora

1. Izračunajte masu albumina potrebnu za pripremu 100 ml standardnog rastvora sa masenom koncentracijom od 10 g/l.
2. Izračunajte masu NaOH koja je potrebna za pripremu 150 ml 10% rastvora.
3. Izračunajte zapreminu rastvora albumina koja se uzima da se pripremi po 25 ml kalibracionih rastvora sa masenom koncentracijom od 1; 2; 4; 6 i 8 g/l.

Eksperimentalni podaci

1. Zabeležite apsorpciju kalibracionih rastvora.

c_m [g/l]	A	A (Prosečno)
0		
1		
2		
4		
6		
8		

Naziv projekta: Digitalizacija hemijskih eksperimenata u cilju unapređenja kvaliteta i podrške nastavi hemije u srednjim školama
Akronim: ChemIQSoc
Broj projekta: 2021-1-SK01-KA220-WET-000027995



2. Snimite apsorpciju nepoznatog uzorka albumina.

Uzorak	A	A (Prosek)
Uzorak albumina		

Izračunavanja

1. Konstruišite kalibracijsku krivu $A = f(c_m)$ iz eksperimentalnih podataka apsorpcije, iscrtajte jednačinu regresijske linije i vrednost koeficijenta pouzdanosti R^2 .

Regresijska linija Jednačina:

$$y = \dots\dots\dots x + \dots\dots\dots$$

Vrednost koeficijenta pouzdanosti:

$$R^2 = \dots\dots\dots$$

2. Izračunajte koncentraciju mase BSA iz kalibracione krive ili regresijske jednačine.
 $c(\text{BSA}) = \dots\dots\dots \text{g/l}$

Pitanja

1. Objasnite princip određivanja proteina biuretskom reakcijom.
2. Okarakterišite spektrometriju kao analitičku metodu.
3. Napišite Lambert-Ber-ov zakon, objasnite simbole u matematičkom zapisu i navedite jedinice za date veličine.
4. Okarakterišite albumin, opisati njegove osnovne osobine i upotrebu.

Naziv projekta: Digitalizacija hemijskih eksperimenata u cilju unapređenja kvaliteta i podrške nastavi hemije u srednjim školama
Akronim: ChemIQSoc
Broj projekta: 2021-1-SK01-KA220-WET-000027995



5. Objasnite zašto kationi bakra u alkalnom okruženju formiraju ljubičasti kompleks sa proteinima i peptidima, a ne sa drugim supstancama?
6. Uporedite biuretsku metodu sa drugim metodama za određivanje proteina (npr. Lovrijeva metoda, Bradfordova metoda). Koje su prednosti i mane svake metode?
7. Naznačite zašto je neophodna alkalna sredina za izvođenje biuretske reakcije? Kako bi se rezultat eksperimenta promenio da je sredina bila neutralna ili kisela? Objasnite svoj odgovor hemijski.
8. Pronađite koje supstance mogu ometati biuretsku reakciju i uticati na rezultat određivanja proteina? Kako biste eliminisali ili minimalizovali ove smetnje?

Naziv projekta: Digitalizacija hemijskih eksperimenata u cilju unapređenja kvaliteta i podrške nastavi hemije u srednjim školama
Akronim: ChemIQSoc
Broj projekta: 2021-1-SK01-KA220-WET-000027995



Zaključak

Ukratko sumirajte cilj rada i eksperimentalne rezultate. Procenite tačnost merenja, identifikujte moguće greške i predložite načine da ih eliminišete.

Izjava o odricanju od odgovornosti

Finansira Evropska unija. Izraženi stavovi su stavovi autora i ne izražavaju nužno stavove i mišljenja Evropske unije ili Slovačke akademske asocijacije za međunarodnu saradnju, Nacionalne agencije za obrazovanje i obuku Erasmus+ programa. Ni Evropska unija ni organizacija koja dodeljuje grantove ne preuzimaju nikakvu odgovornost za njih.