

I saggi di riconoscimento delle proteine: il metodo del biureto

Per evidenziare la presenza negli alimenti di alcune sostanze (come grassi, zuccheri, proteine, sali minerali e vitamine) è possibile effettuare dei saggi colorimetrici.

I saggi consistono nell'aggiunta di soluzioni ai campioni da analizzare; se il campione contiene la sostanza ricercata si formano dei nuovi composti che fanno cambiare colore alle soluzioni impiegate per il test.

Il biureto (ottenuto dalla condensazione di due molecole di urea) è una sostanza che può formare con il rame un complesso di colore violetto.

Il biureto si ottiene dall'urea per riscaldamento al di sopra del suo punto di fusione (132°C):



da cui si nota che la struttura del prodotto contiene un legame peptidico. I doppietti liberi dell'azoto possono coordinare ioni metallici come il rame (II) dando una caratteristica colorazione viola porpora. Questa reazione non è specifica del biureto, ma avviene anche con i polipeptidi: possiamo quindi sfruttarla per l'individuazione delle proteine.

Questo esperimento comprende un saggio per il riconoscimento di proteine dove verranno utilizzate due provette: una provetta conterrà un alimento in cui è presente la molecola da evidenziare e l'altra conterrà acqua. In questo modo è possibile confrontare la differenza di colore tra un test positivo e uno negativo. L'idrossido di sodio dà luogo alla reazione di idrolisi delle proteine: si liberano amminoacidi. I gruppi carbossilici liberi degli amminoacidi formano dei complessi con lo ione rame di colore viola.

Materiali

- provette;
- portaprovette;
- alimenti (latte, succo di frutta, farina)
- soluzione di CuSO_4 1% (biureto A)
- soluzione di NaOH 10% (biureto B)
- pipette pasteur
- tettarelle.

Procedimento

Saggio di riconoscimento delle proteine

1. Preparazione della soluzione di CuSO_4 1%: pesare 1g di solfato di rame, sciogliere con poca acqua distillata in un becher, trasportare quantitativamente in un matraccio da 100 ml e portare a volume

2. Preparazione della soluzione di NaOH al 10%: pesare 10 g di NaOH sciogliere con poca acqua distillata in un becher, trasportare quantitativamente in un matraccio da 100 ml e portare a volume
3. Si introduce del latte in una provetta e dell'acqua in un'altra.
4. Tramite delle pipette pasteur si aggiungono, in entrambe le provette, una soluzione di NaOH 10% e una soluzione di CuSO_4 1%.
5. Si osserva che nella provetta contenente acqua permane la colorazione azzurra del solfato di rame, mentre in quella contenente latte si nota la comparsa del colore violetto. Il colore violetto è dovuto alla formazione del seguente complesso di Cu^{2+} con le proteine.
6. Si ripete il test sul succo di frutta, sul glucosio e sulla farina mescolata ad acqua.