

# Oznaczanie białka metodą biuretową



Wspierają nas:

## Trochę teorii

Reakcja biuretowa została opisana po raz pierwszy w roku 1833 roku przez Ferdinanda Rosego. Opisał ją też niezależnie polski fizjolog Gustaw Piotrowski w 1857 roku i to od jego nazwiska pochodzą zamienne nazwy na określenie tego testu. Możecie czasem zetknąć się z określeniami: reakcja Piotrowskiego lub odczyn Piotrowskiego. To właśnie ta metoda, którą przybliżyliśmy dla Was na filmie.

Test biuretowy polega na dodaniu do analizowanej mieszaniny roztworu silnej zasady NaOH oraz siarczanu miedzi. Jeżeli w roztworze obecne są związki zawierające wiązania peptydowe, to roztwór zmienia barwę z niebieskiej na fioletową. Spowodowane jest to kompleksowaniem jonów  $\text{Cu}^{2+}$  z minimum dwiema grupami peptydowymi.

Jeżeli w roztworze będą znajdować się tylko wolne aminokwasy – nie zabarwi się on, bo brakuje wiązań peptydowych. A co jeśli w roztworze będą dimery aminokwasów (czyli mające tylko jedno wiązanie peptydowe)? Roztwór zabarwi się, ale na różowo.



*Gustaw Piotrowski, Archiwum UJ*

Test może być stosowany zarówno do wykrycia białka, jak i określenia ilości białka. W tym drugim przypadku wykorzystuje się liniową zależność między stężeniem białka w roztworze a intensywnością zabarwienia roztworu.

Test ten jest powszechnie stosowany do sprawdzania obecności wolnego białka w płynach ustrojowych. Występowanie dużych ilości takiego białka wskazuje zwykle na uszkodzenia organów wewnętrznych.

## Jak przeprowadzić test?

### Potrzebne będą:

- Siarczan miedzi
- Próbówki
- Wodorotlenek sodu
- Różne produkty spożywcze (najlepiej płynne)
- Woda



*Test Piotrowskiego, ©Weird Science*

1. Około  $\frac{1}{4}$  łyżeczki siarczanu miedzi rozpuszczamy w około 50 ml wody
2. Około  $\frac{1}{4}$  łyżeczki wodorotlenku sodu rozpuszczamy w około 50 ml wody
3. Do próbek dodajemy produkty spożywcze
4. Następnie do produktów spożywczych dodajemy po jednej porcji wodorotlenku sodu i dwie porcje siarczanu miedzi
5. Wszystko mieszamy
6. Po około 2 minutach w próbkach w których znajdowało się białko roztwór zmienia barwę na fioletową

**Do dzieła!**

### Źródła:

Charles William Hale *Domestic Science*. Cambridge: Cambridge University Press, 1915

©Aleksandra Owczarek, BioCEN