



# KOĽKO BIELKOVÍN OBSAHUJE MLIEKO (časť 1)

## Úvod

Jedným z dôležitých zdrojov bielkovín je mlieko. Kvalita mlieka a obsah bielkovín je však ovplyvnená niekoľkými faktormi. Kontrola kvality mlieka a mliečnych výrobkov patrí v mliekarňach k dôležitým súčastiam výroby. Veľkú úlohu v nich hrá práve chémia.

Jedným z parametrov, ktorý hovorí o kvalite mlieka, je obsah bielkovín spĺňajúci predpísané normy.

Zistite obsah bielkovín vo vzorke mlieka a overte tak jeho požadovanú kvalitu.

## Čo sa vám bude hodiť vedieť

Denné svetlo, ktoré "vidíme" je zložené zo žiarenia s rôznymi vlnovými dĺžkami. Každá z týchto vlnových dĺžok súvisí s určitou farbou. V nasledujúcej tabuľke môžeme vidieť, akému intervalu vlnových dĺžok zodpovedajú jednotlivé farby (vrátane odtieňov):

Vlnová dĺžka žiarenia (nm)	Farba svetla
380 - 435	fialová
436 – 490	modrá
491 – 560	zelená
561 - 610	žltá
611 - 640	oranžová
641 - 760	červená

Keď biele svetlo dopadne na určitý predmet, žiarenia s niektorými vlnovými dĺžkami môže byť predmetom pohltené, zatiaľ čo ostatné vlnové dĺžky prechádzajú predmetom ďalej alebo sa od neho odrážajú. Farby, ktoré neboli pohltené sa potom spoločne prejavia na farbe daného predmetu, ktorý reálne vidíme.





V chémii sa skúmaním pohlteného a prepusteného žiarenia o určitých vlnových dĺžkach zaoberá metóda nazvaná *spektrometria* (v prípade viditeľného žiarenia *spektrofotometria*). V spektrofotometrii je na farebnú látku vysielané žiarenie s určitou vlnovou dĺžkou, pričom jeho časť je pohltená. Spektrofotometer teda poskytuje informáciu o tom, ktorá časť žiarenia (s ktorými vlnovými dĺžkami) bola pohltená a ktorá nie. Zobrazuje ju ako tzv. *spektrum*. Spektrum je teda závislosť veličiny opisujúcej množstvo pohlteného žiarenia (*absorbancia, A*) na vlnovej dĺžke žiarenia ( $\lambda$ ), prípadne frekvencii žiarenia.

Na nasledujúcom obrázku je zachytené spektrum potravinárskeho farbiva. Spektrum zobrazuje, koľko akého žiarenia (s akou vlnovou dĺžkou) bolo roztokom pohltené. Žiarenie s nízkou hodnotou absorbancie roztokom prechádza.



Graf závislosti absorbancie na vlnovej dĺžke svetla (zmerané pomocou systému Vernier)

1. Preštudujte spektrum na predchádzajúcom obrázku a určte, aká je farba analyzovaného potravinárskeho farbiva.





2. Na základe predchádzajúcej úlohy a spektra, nakreslite spektrum, aké by mal roztok modrého potravinárskeho farbiva.



3. Teraz premerajte spektrum modrého potravinárskeho farbiva a porovnajte výsledok s vašim odhadom

Na konci pracovného listu nájdete inštrukcie na nastavenie spektrofotometra. Prístroj je najprv potrebné nakalibrovať. Potom odmerajte spektrum modrého roztoku: naplňte kyvetu do ¾ roztokom farbiva a vložte ju do spektrofotometra (pozor na správny smer). Meranie začnite tlačidlom ZBER (COLLECT) a počkajte, kým sa objaví spektrum. Potom môžete meranie zastaviť.

Nakreslite namerané spektrum:







#### Na čo sa je dobrá spektrometria v chemickej analýze?

Koncentráciu farebných zlúčenín môžeme stanoviť spektrofotometricky. Využíva sa pri tom lineárna závislosť vzťahu medzi koncentráciou (intenzitou sfarbenia) a absorbanciou pri určitej vlnovej dĺžke. Túto závislosť vyjadruje Lambertov-Beerov zákon:

 $A = \mathcal{E} \cdot I \cdot c$ 

kde *E* je mólový absorpčný koeficient, ktorý závisí na vlnovej dĺžke a danej látke, *I* je dĺžka optického prostredia (šírka kyvety) a *c* je látková koncentrácia.

Ak chceme spektrofotometricky stanoviť obsah bielkovín v mlieku, bude potrebné zmerať absorbanciu farebnej zlúčeniny. Bielkoviny je možné zafarbiť pomocou tzv. biuretovej reakcie, ktorá sa používa na jednoduchý kvalitatívny dôkaz bielkovín (presnejšie peptidových väzieb). Činidlo, ktoré sa na tento účel používa (tzv. biuretové činidlo) obsahuje ióny Cu<sup>2+</sup>, ktoré v alkalickom prostredí reagujú s peptidovou väzbou bielkovín za vzniku červeno-fialovej komplexnej zlúčeniny.



### NAMERAJTE POTREBNÉ DÁTA V LABORATÓRIU

Reakciou mlieka s biuretovým činidlom získame farebnú zlúčeninu, ktorú je možné stanovi spektrofotometricky.

#### Ako pripraviť roztok kovu

Do odmernej banky (200 ml) odmerajte 25 ml roztoku biuretového činidla. Do banky odpipetujte 5 ml vzorky mlieka, zmes premiešajte a doplňte destilovanou vodou po rysku. Takto ste získali roztok, ktorého farebná intenzita lineárne závisí od koncentrácie bielkovín. Ako ale zistiť presný obsah bielkovín v mlieku?





#### Navrhnite svoj experiment

V pracovnej skupine porozmýšľajte, akým spôsobom by ste zistili množstvo bielkovín (koncentráciu) v skúmanom roztoku mlieka.

### Kalibrácia spektrofotometra

Postup platí len pre merací systém firmy Vernier, ostatné systémy však budú používať podobný postup (zdroj: <u>http://www.vernier.com/files/manuals/svis-pl.pdf</u>)

- 1. Na kalibráciu spektrometra SpectroVis Plus vyberte v programovom menu *Experiment, Calibrate Spectrometer*.
- 2. Naplňte kyvetu do ¾ destilovanou vodou a vložte ju do spektrofotometra.
- 3. V dialógovom okne nasledujte uvedené inštrukcie a po skončení kliknite na **OK**.