



有机化学实验

从牛奶中分离酪蛋白

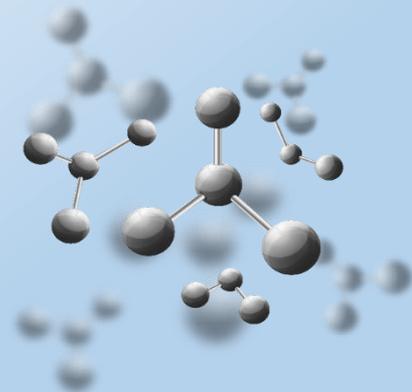
复旦大学化学教学实验中心





实验目的

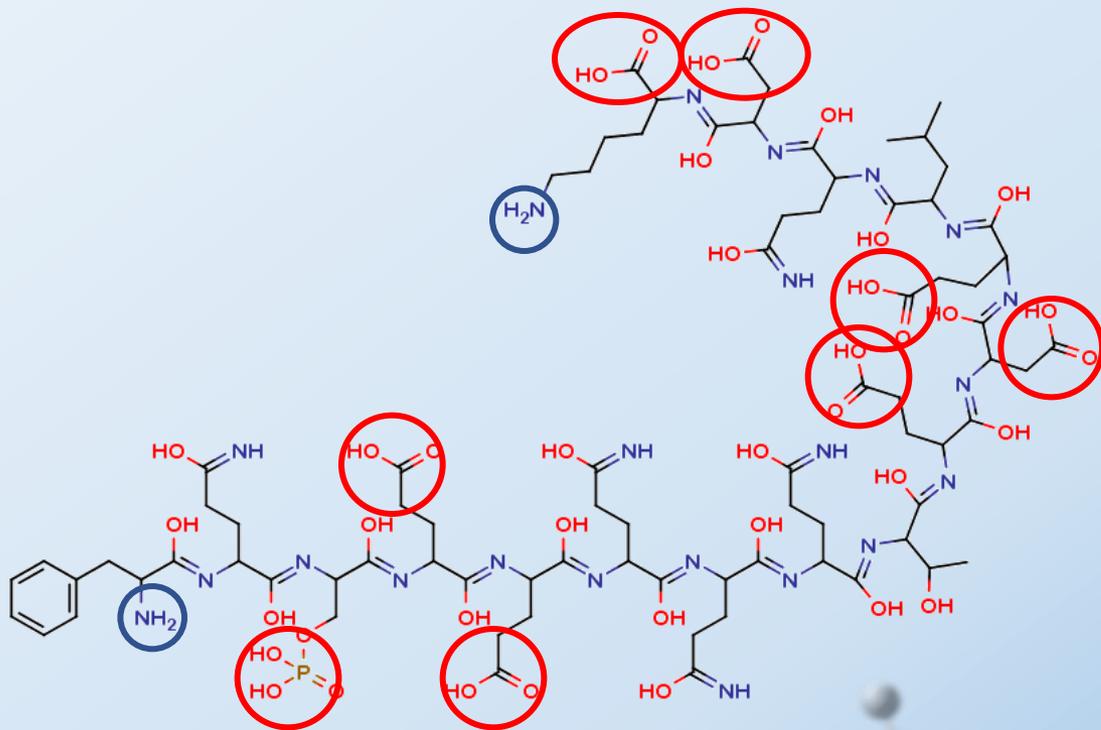
1. 了解等电点概念
2. 掌握通过调节pH值实现蛋白质分离的方法
3. 了解缩二脲反应鉴定蛋白质（多肽）





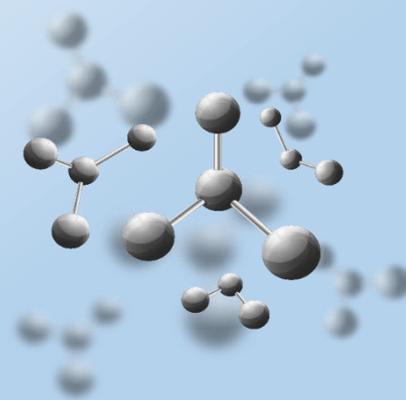
实验背景

酪蛋白



等电点是一个分子或者表面不带电荷时的pH值

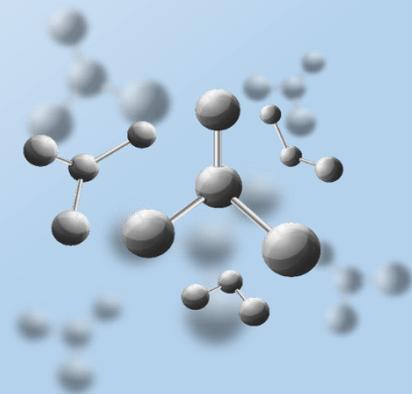
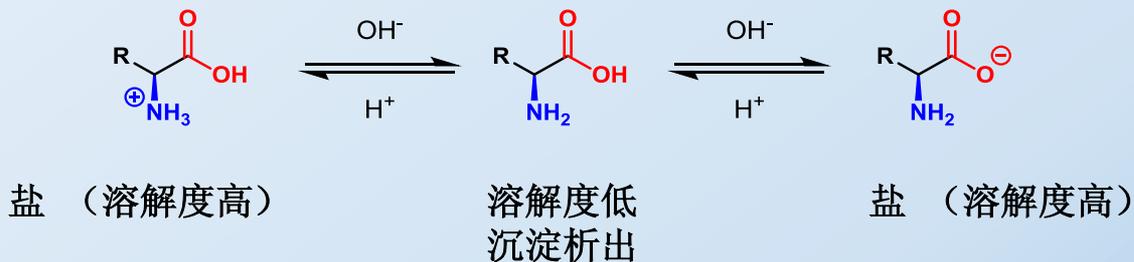
$$\text{pI}=4.8$$





实验原理

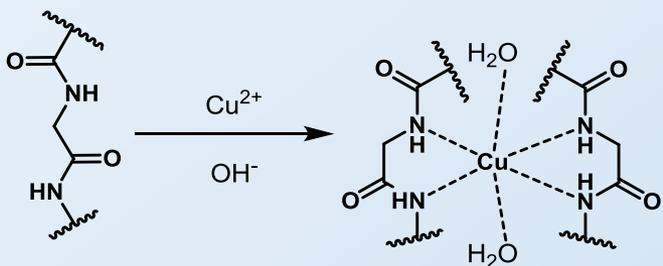
1.酪蛋白是含磷蛋白质的复杂混合物，为两性化合物，溶液的酸碱性直接影响蛋白质分子所带的电荷。当调节牛奶的pH值达到酪蛋白的等电点（pI）4.8左右时，蛋白质所带正负电荷相等，呈电中性，此时酪蛋白的溶解度最小，以沉淀形式从牛奶中析出。通过离心的方法将酪蛋白和乳糖分离。





实验原理

2. 缩二脲反应原理：具有两个或两个以上肽键的化合物在碱性条件下与 Cu^{2+} 反应,生成红紫色的络合物。



蛋白质或多肽

紫红色络合物





实验药品

去脂牛奶

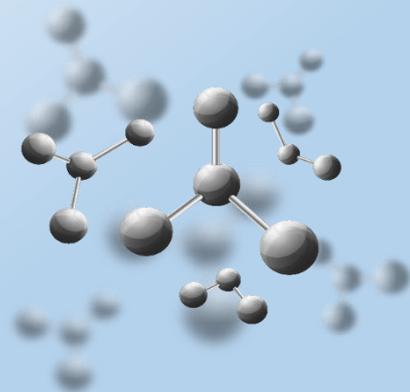
稀醋酸 (1:9) 溶液

乙醇

乙醚

1%硫酸铜溶液

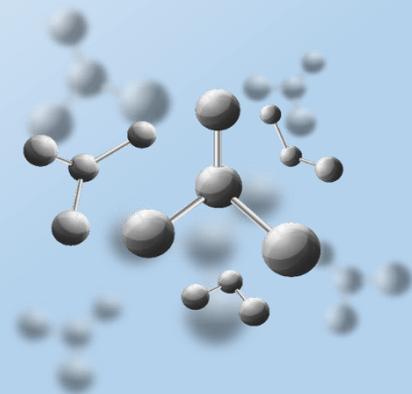
0.4 M 氢氧化钠生理盐水溶液





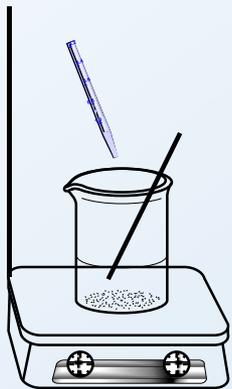
实验药品

	M.w.	m.p.	b.p.	d.
乙醚	74.12	-116	35	0.713
乙醇	46.07	-114	78	0.789





实验内容



1. 50 mL去脂牛奶 100 mL烧杯 40 °C
稀醋酸 (1:9) 2 mL

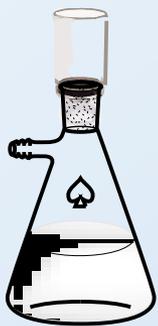
2. 冷却10 min, 3000 r/min离心15 min

3. 倾析取沉淀, 95%乙醇 20 mL 搅匀, 布氏漏斗抽滤

4. 10 mL 乙醇: 乙醚 = 1:1 洗涤两次, 5 mL乙醚洗涤, 抽滤

5. 烘干, 称重

6. 去0.5 g产物于5 mL 0.4 M NaOH溶液, 颜色反应





注意事项

1. 牛奶在实验前不能放置很久，时间过长会使其中的乳糖变为乳酸影响分离。
2. 加入的醋酸不可过量，过量酸会促使牛奶中的乳糖水解为半乳糖和葡萄糖。

