

PŘÍRODNÍ POLYMERY

Kasein, syrovátka, vaječné proteiny

**RNDr. Ladislav Pospíšil, CSc.
POLYMER INSTITUTE BRNO
spol. s r.o.**

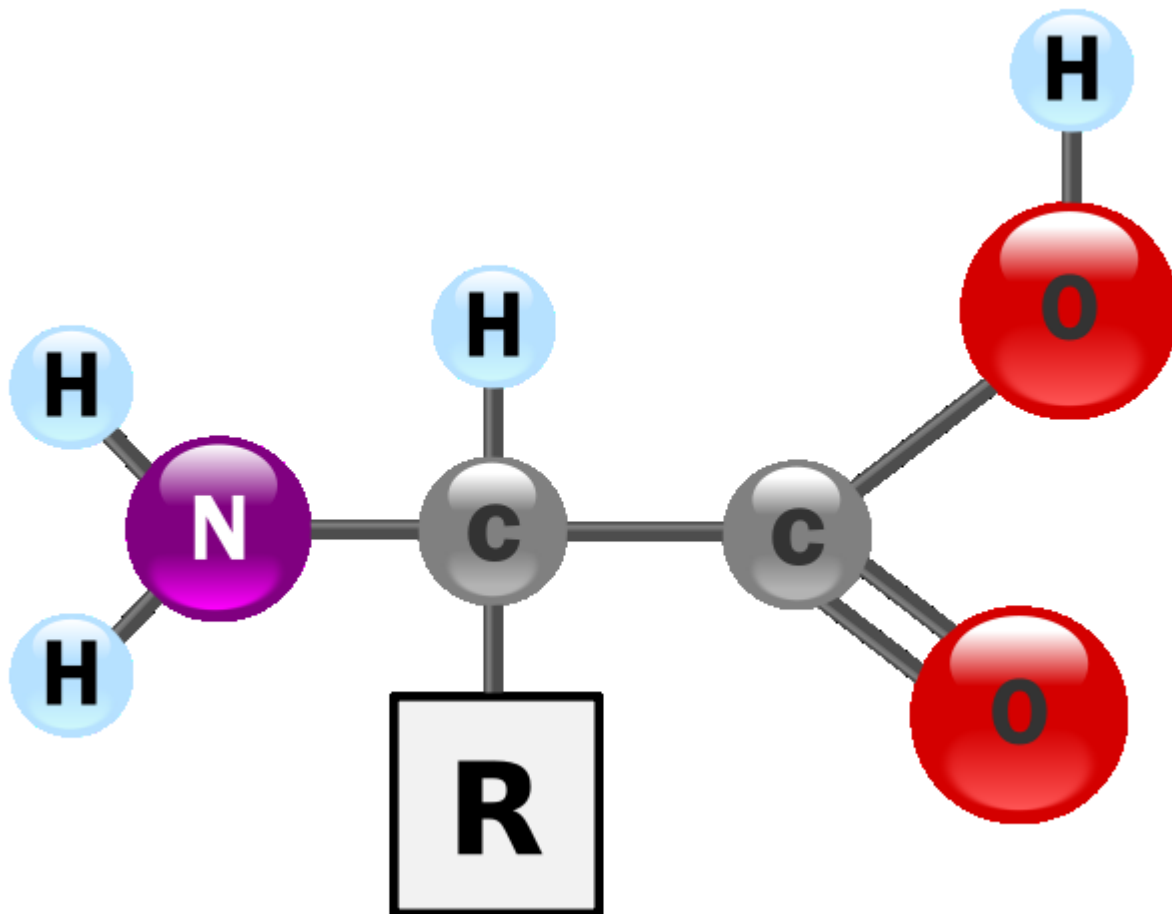
LEKCE	datum	téma
1	19.IX.	Úvod do předmětu - Struktura a názvosloví přírodních polymerů, literatura
2	26. IX.	Deriváty kyselin, - přírodní pryskyřice, vysýchavé oleje, šelak
3	3. X.	Vosky
4	10. X.	Přírodní gummy.
5	10. X.	Polyterpeny – přírodní kaučuk, získávání, zpracování a modifikace
6	17. X.	Polyfenoly – lignin, huminové kyseliny, třísloviny
7	24. X.	Polysacharidy I – škrob
8	31. X.	Polysacharidy II – celulóza
9	7. XI.	Kasein, syrovátka, vaječné proteiny
10	14. XI.	Identifikace přírodních látek
11	21. XI.	Bílkovinná vlákna I
12	28. XI.	Bílkovinná vlákna II
13	5. XII.	Laboratorní metody hodnocení přírodních polymerů
14	29. XI.	EXKURZE – KLIHÁRNA
15	12. XII. ????	EXKURZE –ŠKROBÁRNA, VÝROBA A ZPRACOVÁNÍ ŠKROBŮ

LITERATURA

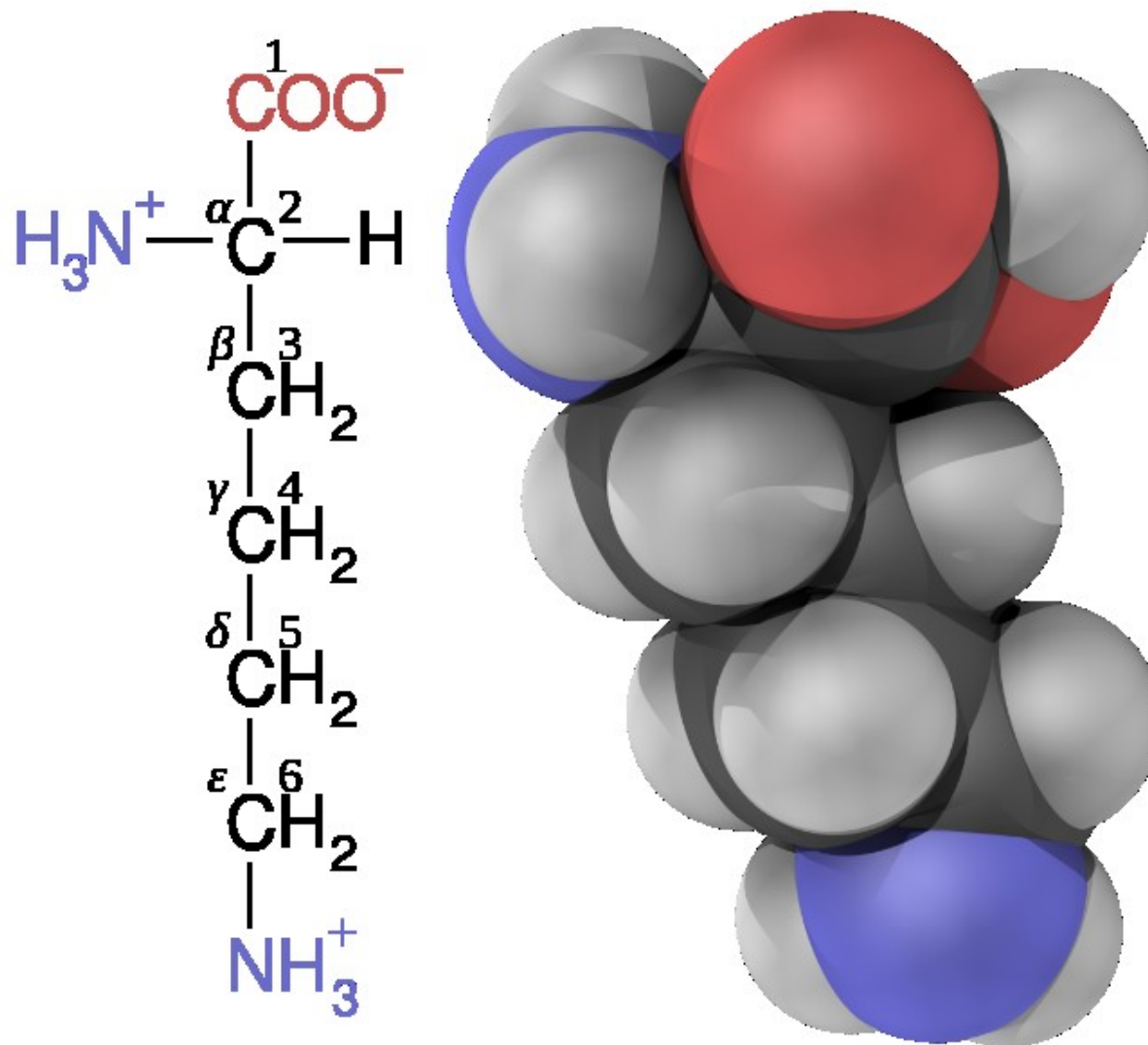
- Ing. J. Dvořáková: **PŘÍRODNÍ POLYMERY**, VŠCHT Praha, Katedra polymerů, skripta 1990
- J. Mleziva, J. Kálal: **Základy makromolekulární chemie**, SNTL Praha, 1986
- J. Zelinger, V. Heidingsfeld, P. Kotlík, E. Šimůnková: **Chemie v práci konzervátora a restaurátora**, ACADEMIA Praha 1987,
- A. Blažej, V. Szilvová: **Prírodné a syntetické polymery**, SVŠT Bratislava, skripta 1985

- 1. Chemie peptidů a proteinů
(bílkovin)**
- 2. Nadmolekulární stuktura
peptidů a proteinů (bílkovin)**

Chemie peptidů a proteinů(bílkovin)

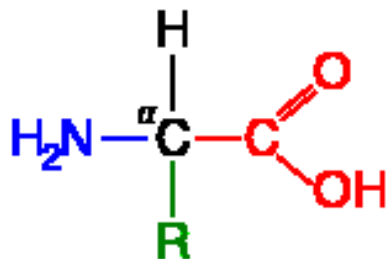


Chemie peptidů a proteinů(bílkovin)

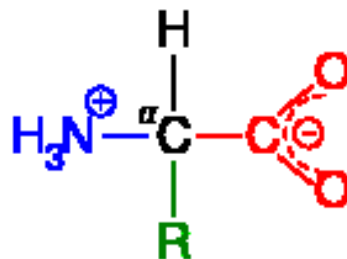


Chemie peptidů a proteinů(bílkovin)

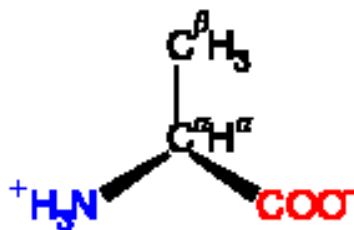
①



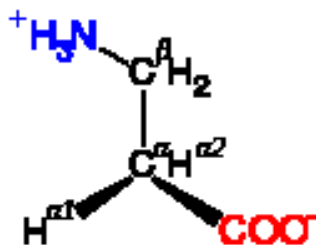
②



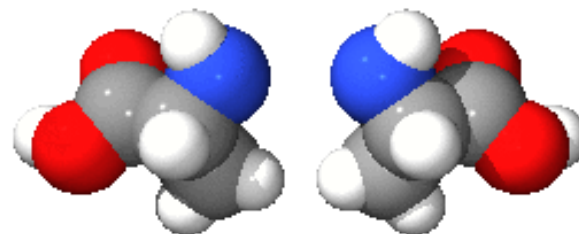
An amino acid in its (1) un-ionized and (2) zwitterionic forms



L-α-alanine



β-alanine

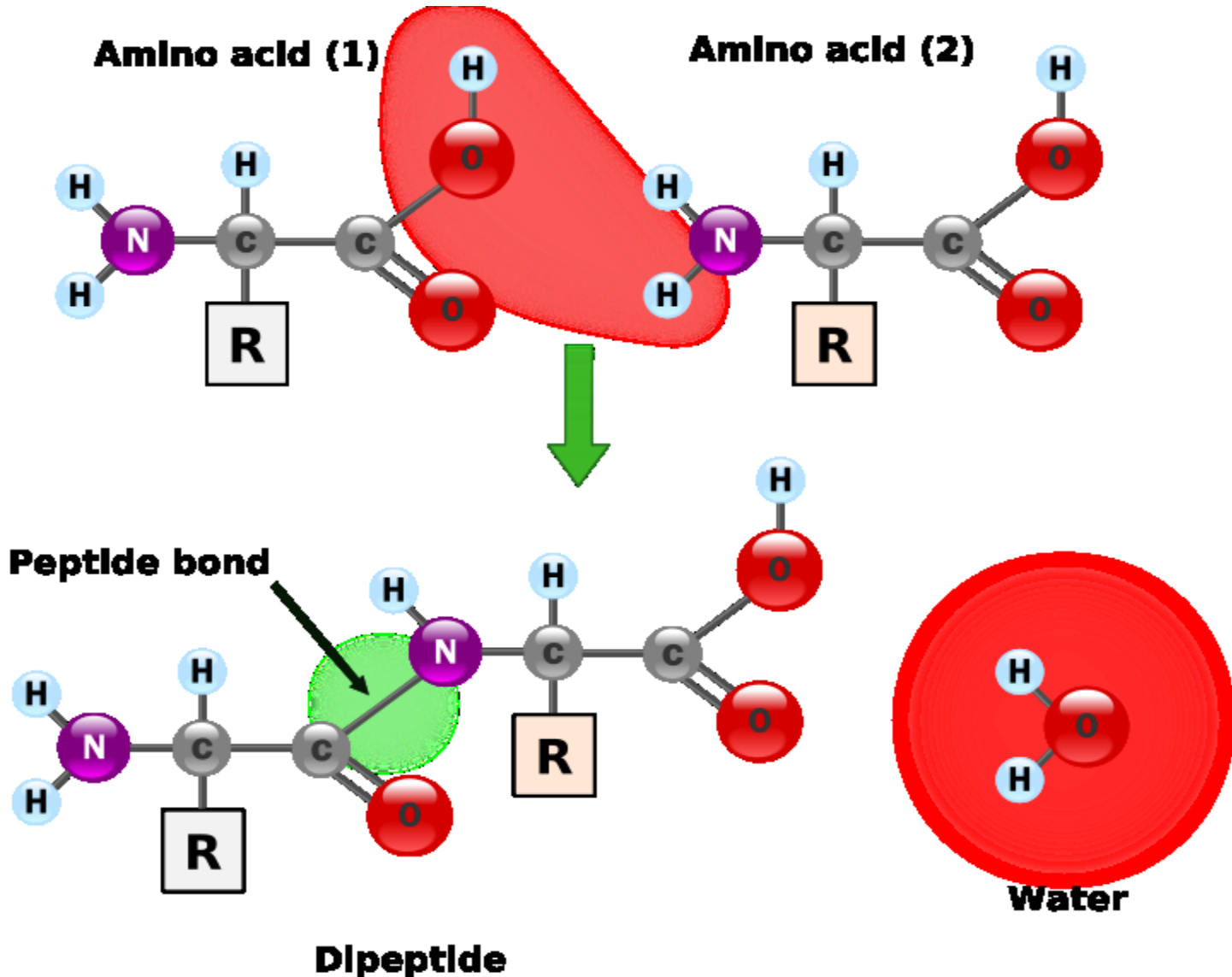


β-alanine and its α-alanine isomer

Vznik peptidové vazby je reakce, při které reagují alfa-karboxylová skupina jedné aminokyseliny s alfa-aminovou skupinou druhé za odštěpení molekuly vody. Toto řetězení aminokyselin je principem spojování v peptidy a dále v proteiny (bílkoviny). Je to nejdůležitější reakce aminokyselin. K jejímu uskutečnění je třeba dodat energii.

Až na nepatrné výjimky jsou všechny proteiny ve všech živých organismech sestaveny z pouhých 19 druhů aminokyselin a jedné iminokyseliny, prolinu. Ty se obvykle označují jako **BIOGENNÍ NEBO TAKÉ PROTEINOGENNÍ AMINOKYSELINY**. Dále ještě existují 21. a 22. aminokyselina (selenocystein a pyrolysin), které se ovšem vyskytují vzácně a 23. aminokyselina N-formylmethionin využívaná bakteriemi místo methioninu

Chemie peptidů a proteinů(bílkovin)



**Aminokyseliny s
alifatickým
postranním
řetězcem**

Glycin **Gly** (G)

Alanin **Ala** (A)

Valin **Val** (V)

Leucin **Leu** (L)

Isoleucin **Ile** (I)

**S karboxylovou nebo amidovou skupinou na
postranním řetězci (kyselé skupiny)**

Kyselina asparagová **Asp** (D)

Asparagin **Asn** (N)

Kyselina glutamová **Glu** (E)

Glutamin **Gln** (Q)

S aminovou skupinou na postranním řetězci (basické skupiny)

Arginin **Arg** (R)

Lysin **Lys** (K)

**S aromatickým jádrem nebo hydroxylovou skupinou na postranním
řetězci**

Histidin **His** (H)

Fenylalanin **Phe** (F)

Serin **Ser** (S)

Threonin **Thr** (T)

Tyrozín **Tyr** (Y)

Tryptofan **Trp** (W)

Se sírou v postranním řetězci

Methionin Met (M)

Cystein Cys (C)

Aminokyseliny obsahující sekundární amin (někdy nepřesně iminokyseliny)

Prolin Pro (P)

21. aminokyselina

Selenocystein SeCys – nahrazuje cystein v lidském enzymu glutathionperoxidáze a v enzymech některých bakterií^[2]

22. aminokyselina

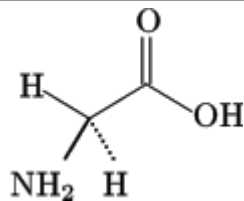
Pyrolysin Pyl - vyskytuje se zejména u prokaryot.

23. aminokyselina

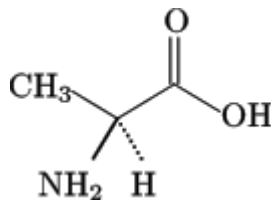
N-formylmethionin f-Met - hraje roli při iniciaci translace u bakterií a na plastidových a mitochondriálních ribosomech, je tedy první aminokyselinou zařazenou při tvorbě proteinu.

Biogenní aminokyseliny

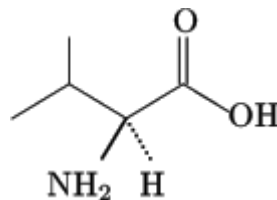
Glycin (Gly, G)



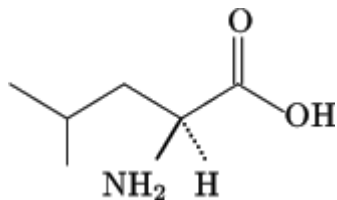
Alanin (Ala, A)



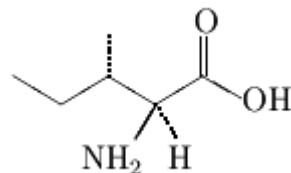
Valin (Val, V)



Leucin (Leu, L)

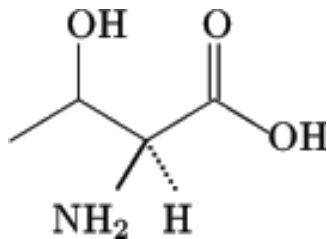


Isoleucin (Ile, I)

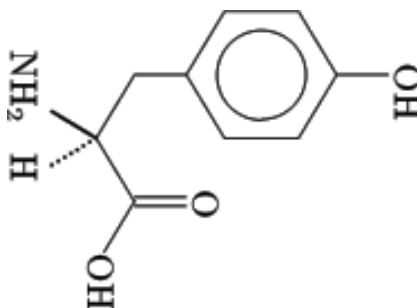


Biogenní aminokyseliny

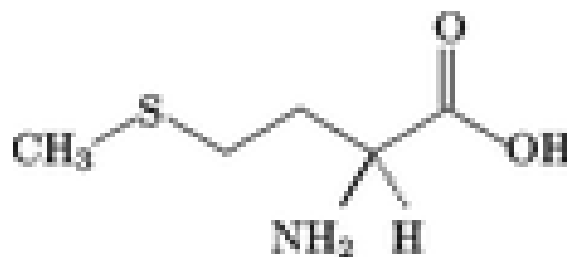
Threonin (Thr, T)



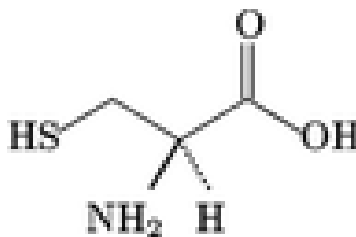
Tyrosin (Tyr, Y)



Methionin (Met, M)

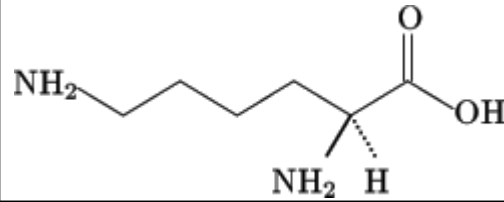


Cystein (Cys

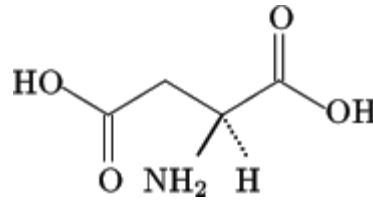


Biogenní aminokyseliny

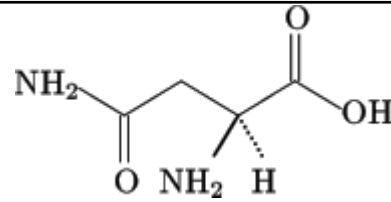
Lysin (Lys, K)



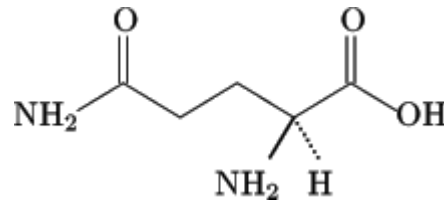
Kyselina asparagová
(Asp, D)



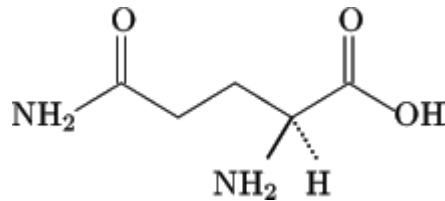
Asparagin (Asn, N)



Kyselina glutamová (Glu,
E)

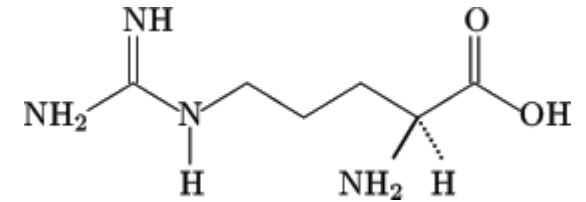


Glutamin (Gln, Q)

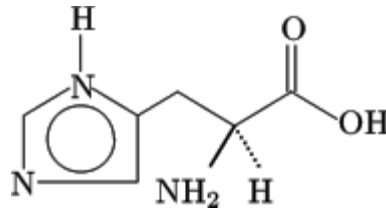


Biogenní aminokyseliny

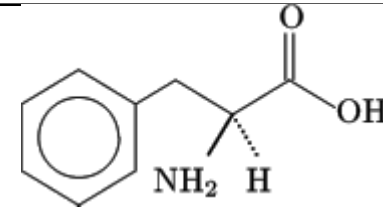
Arginin (Arg, R)



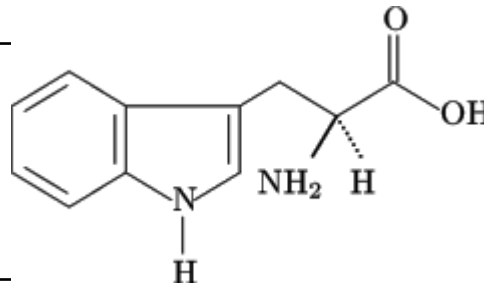
Histidin (His, H)



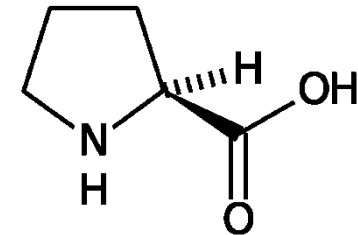
Fenylalanin (Phe, F)



Tryptofan (Trp, W)



Prolin (Pro, P)

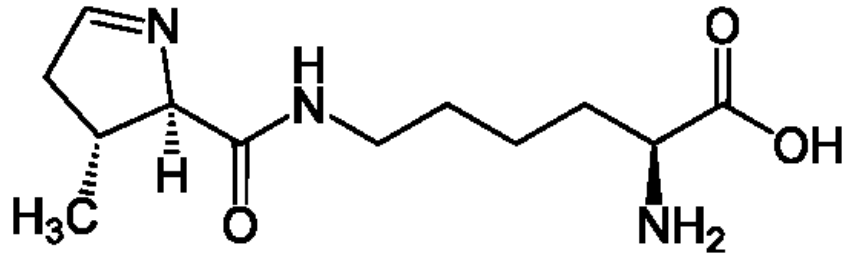


Biogenní aminokyseliny

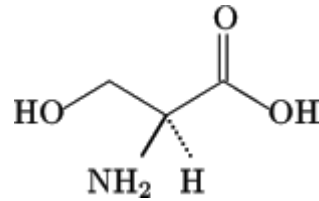
Selenocystein (SeCys,U)



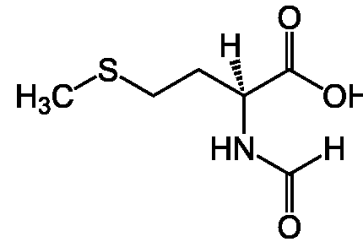
Pyrolysin (Pyl,O)



Serin (Ser, S)



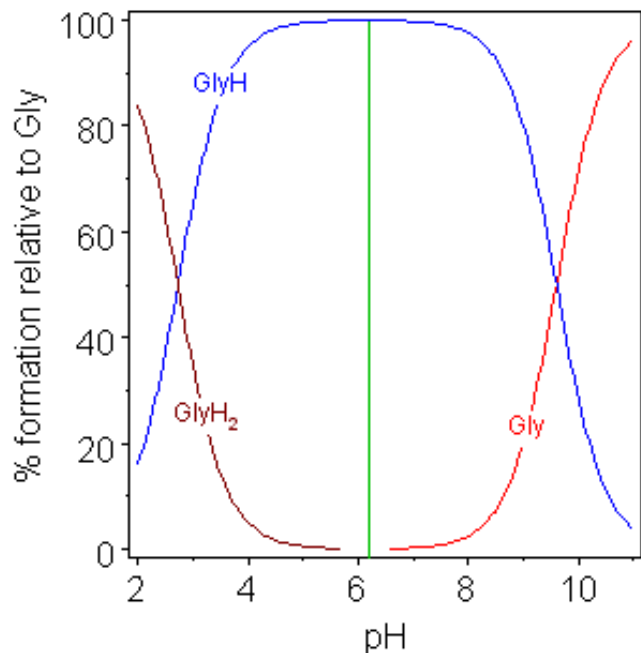
N-formylmethionin (fMet)



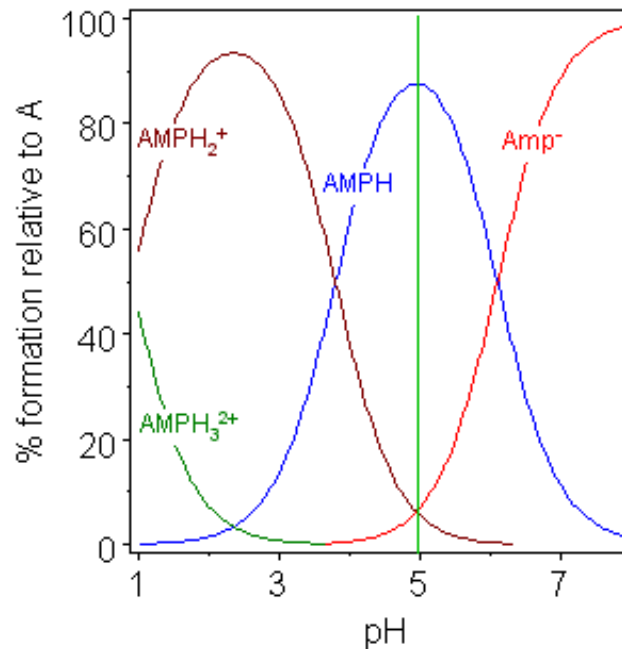
Chemie peptidů a proteinů(bílkovin)

Izoelektrický bod je taková hodnota pH roztoku, v němž se amfion nepohybuje v elektrickém poli; to znamená, že

jeho volný náboj je zde nulový. Izoelektrický bod lze určit pro každý amfion, tedy zejména pro aminokyseliny, peptidy a bílkoviny. Jeho hodnota (zejména u bílkovin) výrazně závisí na složení pufru, v němž se provádí elektroforéza. Pokud je hodnota pH nižší, molekula získává celkově kladný elektrický náboj. Pro hodnoty pH vyšší je náboj molekuly celkově záporný.



glycine pK = 2.72, 9.60



adenosine monophosphate pK = 2.15, 9.16, 10.67

Chemie peptidů a proteinů(bílkovin)

For an amino acid with only one amine and one carboxyl group, the **pI** can be calculated from the mean of the pKas of this molecule.^[1]

$$pI = (pKa + pKb)/2$$

Každá aminokyselina obsahuje aspoň dvě skupiny schopné disociace: -COOH a -NH₃⁺ a tvoří konjugované zásady -COO⁻ a -NH₂.

V roztoku jsou kyselina i její konjugovaná zásada v protonové rovnováze:



Jak se ustaví rovnováha, záleží na pH prostředí, tedy na koncentraci protonů v okolí. Karboxylová skupina je silnější kyselina a proton snadněji odštěpuje než přijímá.

Chemie peptidů a proteinů(bílkovin)

Essential	Nonessential
Histidine	Alanine
Isoleucine	Arginine*
Leucine	Asparagine
Lysine	Aspartic acid
Methionine	Cysteine*
Phenylalanine	Glutamic acid
Threonine	Glutamine*
Tryptophan	Glycine
Valine	Ornithine*
	Proline*
	Selenocysteine*
	Serine*
	Tyrosine

(*) Essential only in certain cases

Of the 22 standard amino acids, 9 are called essential amino acids because the human body cannot synthesize them from other compounds at the level needed for normal growth, so they must be obtained from food.^[52] In addition, cysteine, taurine, tyrosine, and arginine are considered semiessential amino-acids in children (though taurine is not technically an amino acid), because the metabolic pathways that synthesize these amino acids are not fully developed.^{[53][54]} The amounts required also depend on the age and health of the individual, so it is hard to make general statements about the dietary requirement for some amino acids.

Chemie peptidů a proteinů(bílkovin)

Class	Name of the amino acids
Aliphatic	Glycine, Alanine, Valine, Leucine, Isoleucine
Hydroxyl or Sulfur-containing	Serine, Cysteine, Threonine, Methionine
Cyclic	Proline
Aromatic	Phenylalanine, Tyrosine, Tryptophan
Basic	Histidine, Lysine, Arginine
Acidic and their Amide	Aspartate, Glutamate, Asparagine, Glutamine

Aminokyselina > peptid > protein, bílkovina

- **Aminokyselina** – monomer, výhradně L-konfigurace
- **Peptid** - mají méně než 50 aminokyselin, tj. M do cca. $5 \cdot 10^5$, při DIALÝZE projde celofánovou membránou
- **Protein, bílkovina** – M je od $5 \cdot 10^5$ do $X \cdot 10^6$, $X \in (1;10)$

Určování složení peptidů a proteinů

- Kyselá hydrolýza na aminokyseliny
- Chromatografie (tenká vrstva, gelová)

Strukturní hierarchie peptidů a proteinů (bílkovin)

- **Primární struktura** – sled aminokyselin
- **Sekundární struktura** – interakce v rámci jedné makromolekuly
- **Terciární struktura** - interakce v rámci více makromolekul, svazky řetězců nebo nesousedními segmenty polymerního řetězce
- **Kvartérní struktura** – interakce mezi svazky řetězců

Terciární a kvartérní struktury – tomu se budeme věnovat u kolagenu

Dělení proteinů(bílkovin) podle výskytu dalších složek v makromolekule

- **JEDNODUCHÉ (PROTEINY)** – hydrolýzu se štěpí jen na aminokyseliny
- **SLOŽENÉ (PROTEIDY)** – hydrolýzu se štěpí na aminokyseliny, cukry, tuky, ...
 - LIPOPROTEINY (tuky)
 - GLYKOPROTEINY (cukry)
 - FOSFOPROTEINY (fostátové skupiny > **KASEIN**)
 - CHROMOPROTEINY (barviva, např. hemoglobin, melamin)

Dělení proteinů(bílkovin) podle rozpustnosti ve vodě

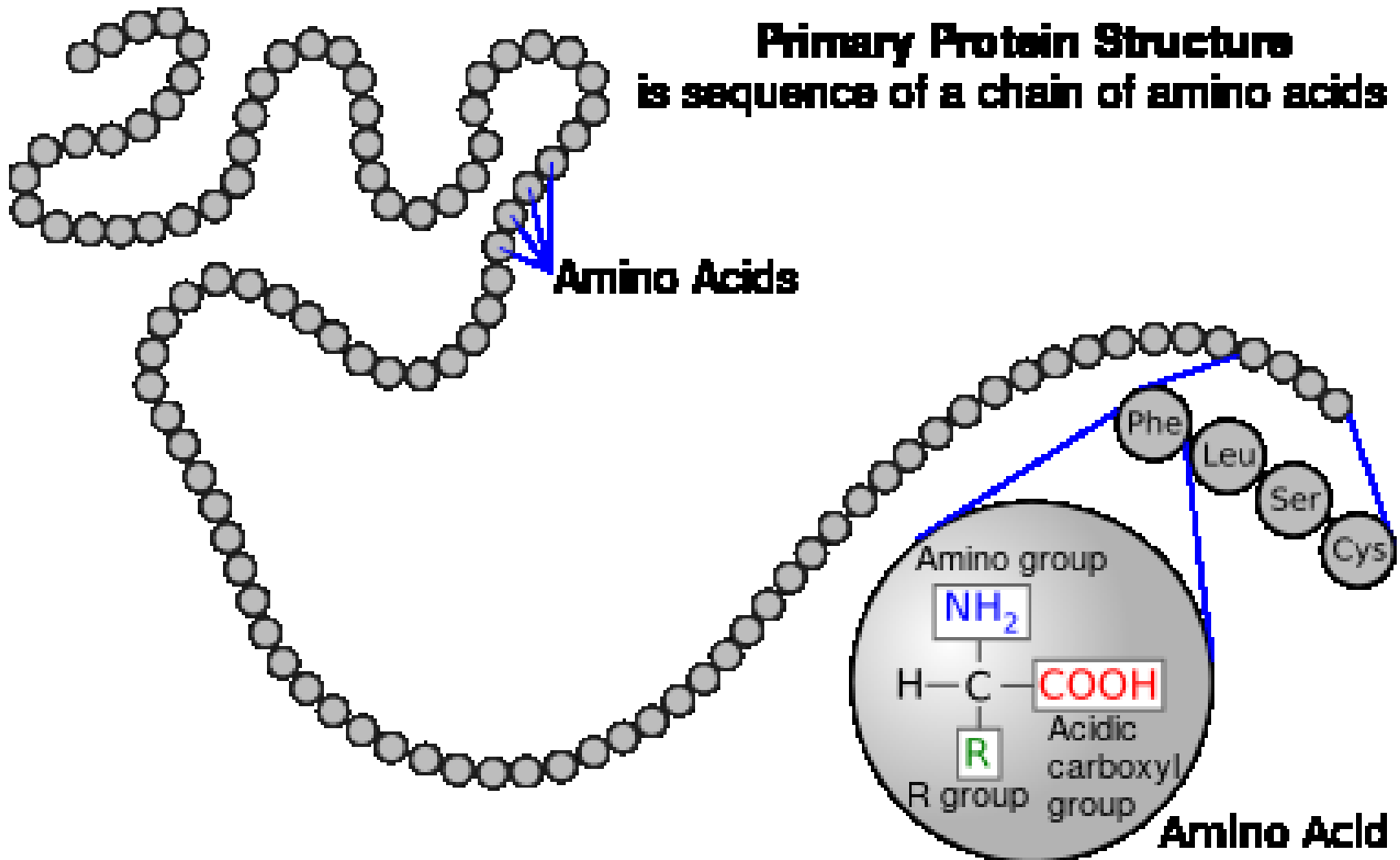
- **ROZPUSTNÉ (SFÉROPROTEINY)**
 - (TEPLO > KOAGULACE)
 - Albumin > **vaječný bílek**
 - Gluteliny > **glutein z pšenice**
- **NEROZPUSTNÉ (SKLEROPROREINY)**
 - Keratiny α a β
 - Kolageny

Dělení proteinů(bílkovin) podle tvaru molekul či nadmolekulárních útvarů

- **VLÁKNITÉ = FIBRILÁRNÍ > HEDVÁBÍ, VLASY, SVALY, VAZIVA**
- **KULOVÉ = GLOBULÁRNÍ > ENZYMY, VAJEČNÉ A MLÉČNÉ BÍLKOVINY, INSULIN, ...**

PRIMÁRNÍ STRUKTURA proteinů I

Primary Protein Structure is sequence of a chain of amino acids



PRIMÁRNÍ STRUKTURA proteinů II

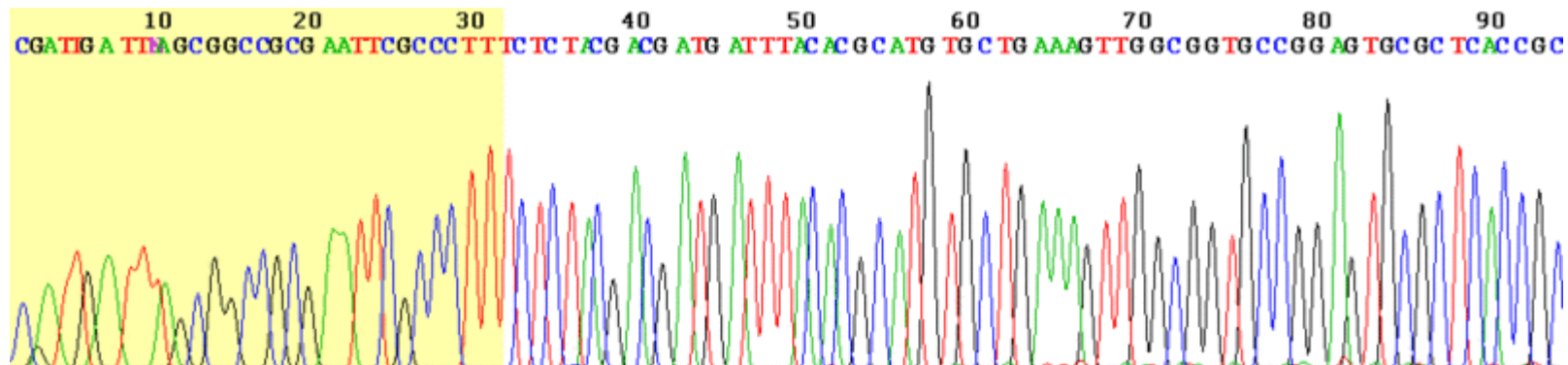
URČOVÁNÍ SEKVENCE AMINOKYSELIN

- **ŠTĚPENÍ POMOCÍ ENZYMŮ** - určitý enzym štěpí jen vazbu mezi určitými aminokyselinami
- **POPUŽITÍ RŮZNÝCH ENZYMŮ** - různé štěpy > určení pořadí aminokyselin
-

PRIMÁRNÍ STRUKTURA proteinů III

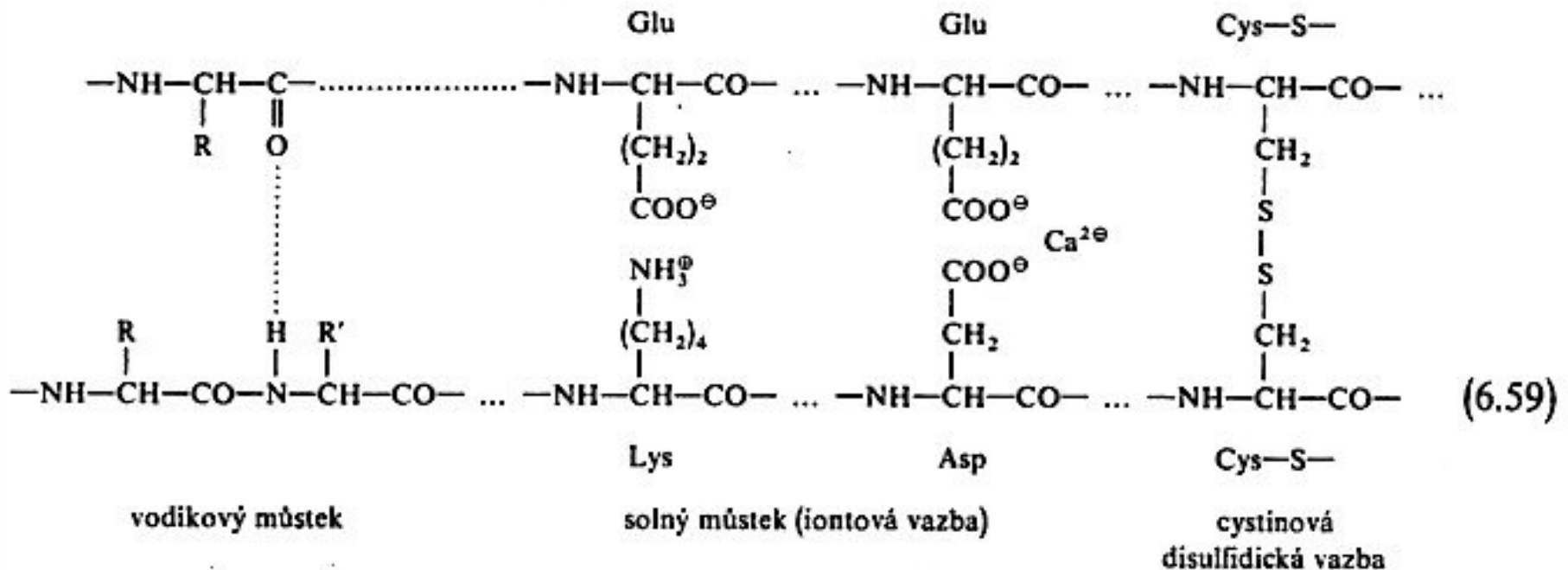
URČOVÁNÍ SEKVENCE AMINOKYSLYIN

- **Rozštěpení** na definovaných místech (jen mezi určitými aminokyselinami) na menší části **ENZYMY ZVANÝMI RESTRIKČNÍ ENDONUKLEASY** (je jich cca. 200 typů)
- Další štěpení fragmentů vzniklých prvotním štěpením opět pomocí **RESTRIKČNÍ ENDONUKLEASY**, ale jinou než bylo děláno první štěpení
- Elektroforetické rozdělení štěpů
- Matematické zpracování výsledků

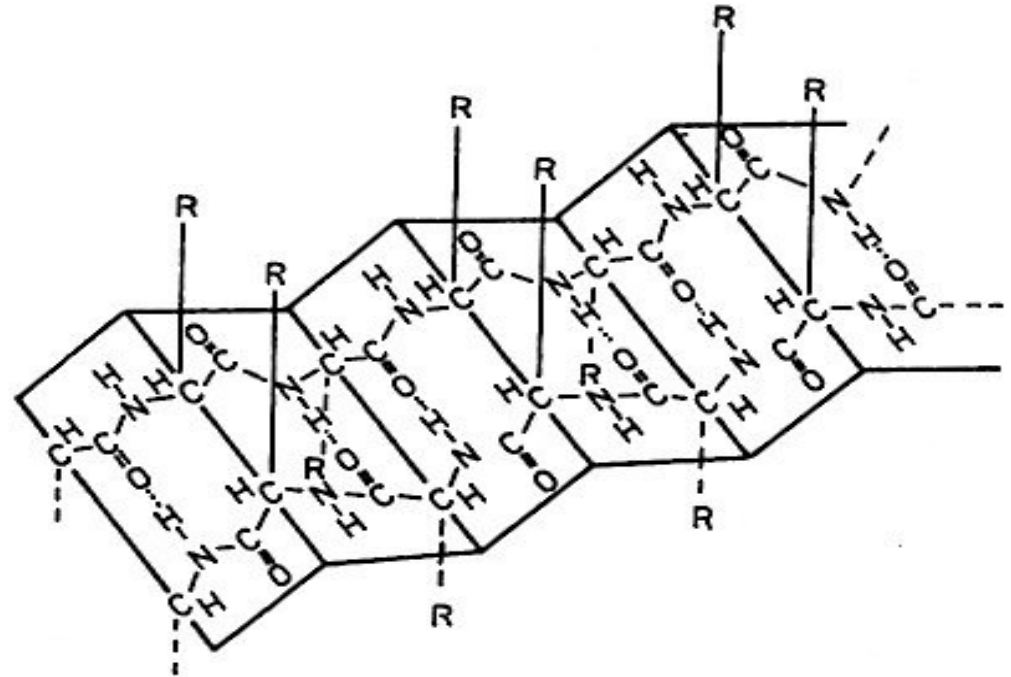
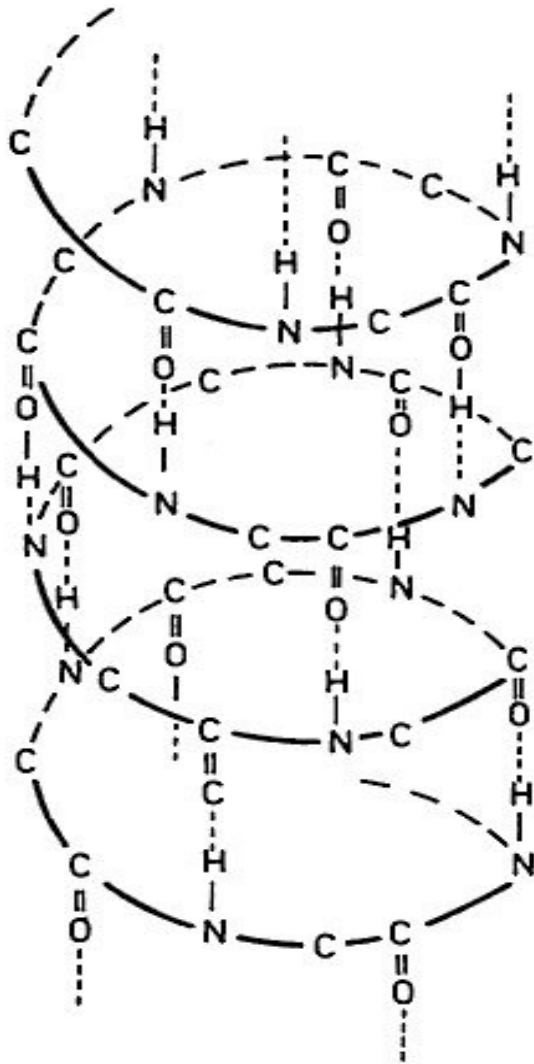


SEKUNDÁRNÍ STRUKTURA proteinů I

Charakteristické vazby určující konformaci proteinů jsou uvedeny ve vzorci



SEKUNDÁRNÍ STRUKTURA proteinů II



Obr. 6.4 Struktura složených listů bílkovin

◀ Obr. 6.3 α -Šroubovice (α -helix) bílkovin

Tabulka 13 Obsah aminokyselin v různých proteinech⁶⁰

Aminokyselina	Protein			
	želatina	kasein	vaječný bílek	vaječný žloutek
	(mol. %)			
hydroxyprolin	6	0	0	0
asparagová kys.	4	6	10	11
threonin	2	3	4	6
serin	4	5	7	11
glutamová kys.	7	18	12	13
prolin	12	15	5	5
glycin	35	3	6	6
alanin	12	4	9	8
valin	2	8	9	7
1/2 cystin	0	0	2	2
methionin	1	2	1	2
isoleucin	1	6	6	5
leucin	3	9	10	9
tyrosin	0	4	1	2
fenylalanin	1	4	4	3
lysin	3	6	7	5
histidin	1	3	2	2
arginin	5	3	5	4

Kasein – charakteristiky

- Bílkovinná složka mléka
- **Rozeznáváme čtyři typy: α S1, α S2, β , κ**
- Získávám vysrážením kyselinami nebo enzymy
- **M = cca. 75 000 – 350 000**
- Nerozpustný ve vodě
- Rozpustný v kyselinách a alkáliích
- Alkalické roztoky mají schopnost dispergátorů

Kasein – použití

- Lepidla
- Barvy
- Galatit (termoset síťovaný
FORMALDEHYDEM)
-

Kaseinové lepidlo

Kaseinový klíč se čpavkem:

50 g technicky čistého kaseinu smícháme s 250 ccm vody a mírně ohřejeme.

15 g čpavku smícháme s troškou vody a nalejeme do ohřátého kaseinu. Roztok vzkypí a uniká z něj kyselina uhličitá. Kaseinové pojídlo mícháme tak dlouho, dokud nepřestane šumět.

Vápenné kaseinové pojídlo:

4 díly tuk neobsahujícího tvarohu smícháme s 1 dílem hašeného nejméně 2 roky starého vápna. Po deseti minutách reakce je pojídlo hotové. Kaseinové pojídlo se musí každý den namíchat čerstvé. Na míchaní kaseinových barev pojídlo rozředíme s 2-3 díly vody.

Další návod:

30 g **jedlé sody** rozpustím v horké vodě a za stálého míchání nechám vychladnout. Přidám k 500 g (1/2 kg) odtučněného tvarohu a promíchám kuchyňským mixérem.

Nechám půl hodiny stát. Pak lze lepidlo studenou vodou rozředit na potřebnou konzistenci. Kaseinový klíč se sodou je vhodný jako lepidlo anebo jako pojídlo na barvy.

Kaseinové barvy

Kaseinový klič - jednoduchý recept:

Lžičky boraxu rozpustíme v šálku horké vody. Tento roztok přelijeme přes 1/2 kg tuk neobsahujícího tvarohu a dobře rozmícháme mixérem. 20 minut necháme působit a posléze znovu rozmícháme.

Malba kaseinovými barvami:

Pigmenty barev smícháme s trochou vody na kaši. Na jeden díl barevné kaše přidáme jeden díl kaseinového kliču a tři díly vody.

Recept na nástěnnou kaseinovou barvu:

- 1) 2 kg tuk neobsahujícího tvarohu dáme do vyšší nádoby
- 2) 90 g boraxu rozpustíme v 1/2 l horké vody a tímto roztokem tvaroh přelijeme
- 3) mixérem dobře rozmícháme a necháme 20 min. odpočinout
- 4) na základní nátěr rozředíme s 8 l vody
- 5) na malování smícháme 1-2 díly barevné kaše (pigment s vodou) s jedním dílem pojidla a s 2-3 díly vody

Kaseinové barvy

Kaseinový klič - jednoduchý recept:

Lžíci boraxu rozpustíme v šálku horké vody. Tento roztok přelijeme přes 1/2 kg tuk neobsahujícího tvarohu a dobře rozmícháme mixérem. 20 minut necháme působit a posléze znovu rozmícháme.

Malba kaseinovými barvami:

Pigmenty barev smícháme s trochou vody na kaši. Na jeden díl barevné kaše přidáme jeden díl kaseinového kliču a tři díly vody.

Recept na nástěnnou kaseinovou barvu:

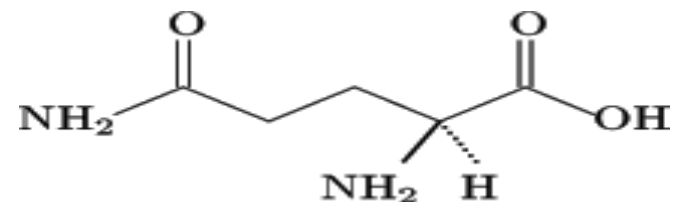
- 1) 2 kg tuk neobsahujícího tvarohu dáme do vyšší nádoby
- 2) 90 g boraxu rozpustíme v 1/2 l horké vody a tímto roztokem tvaroh přelijeme
- 3) mixérem dobře rozmícháme a necháme 20 min. odpočinout
- 4) na základní nátěr rozředíme s 8 l vody
- 5) na malování smícháme 1-2 díly barevné kaše (pigment s vodou) s jedním dílem pojidla a s 2-3 díly vody

Kasein v práci konzervátora a restaurátora

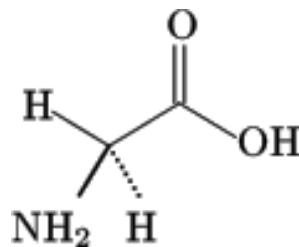
Typ PROTEINU nebo jejího derivátu	Fyzikální forma	Použití	poznámka
Vápenná sůl (kaseinát)	Vodný roztok či disperze	Lepidlo	Vhodné je toto konzervovat proti plísním
Vápenná sůl (kaseinát)	Vodný roztok či disperze	Pojivo pigmentů v malbě	Fresco – secco
Vápenná sůl (kaseinát)	Vodný roztok či disperze	Zpevňující přísada do malt	Reaguje s Ca^{+2} v maltě
Kasein	Vodný roztok v NH_4OH nebo $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$	Pojivo pigmentů v malbě	Pro alkalicky málo odolné pigmenty
Kaseinát amonný	Vodný roztok či disperze	Emulgátor	Tempery olejové pryskyřičné, voskové

Vaječné proteiny – hlavní aminokyselinové složky

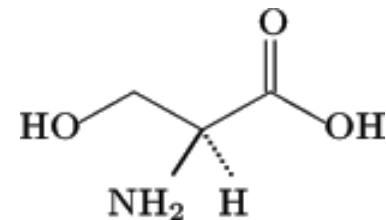
Kyselina glutamová (Glu, E)



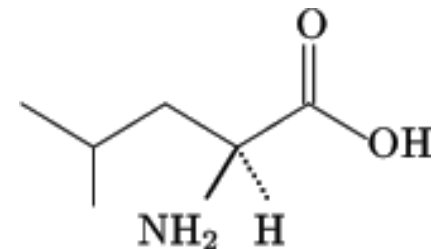
Glycin (Gly, G)



Serin (Ser, S)



Leucin (Leu, L)

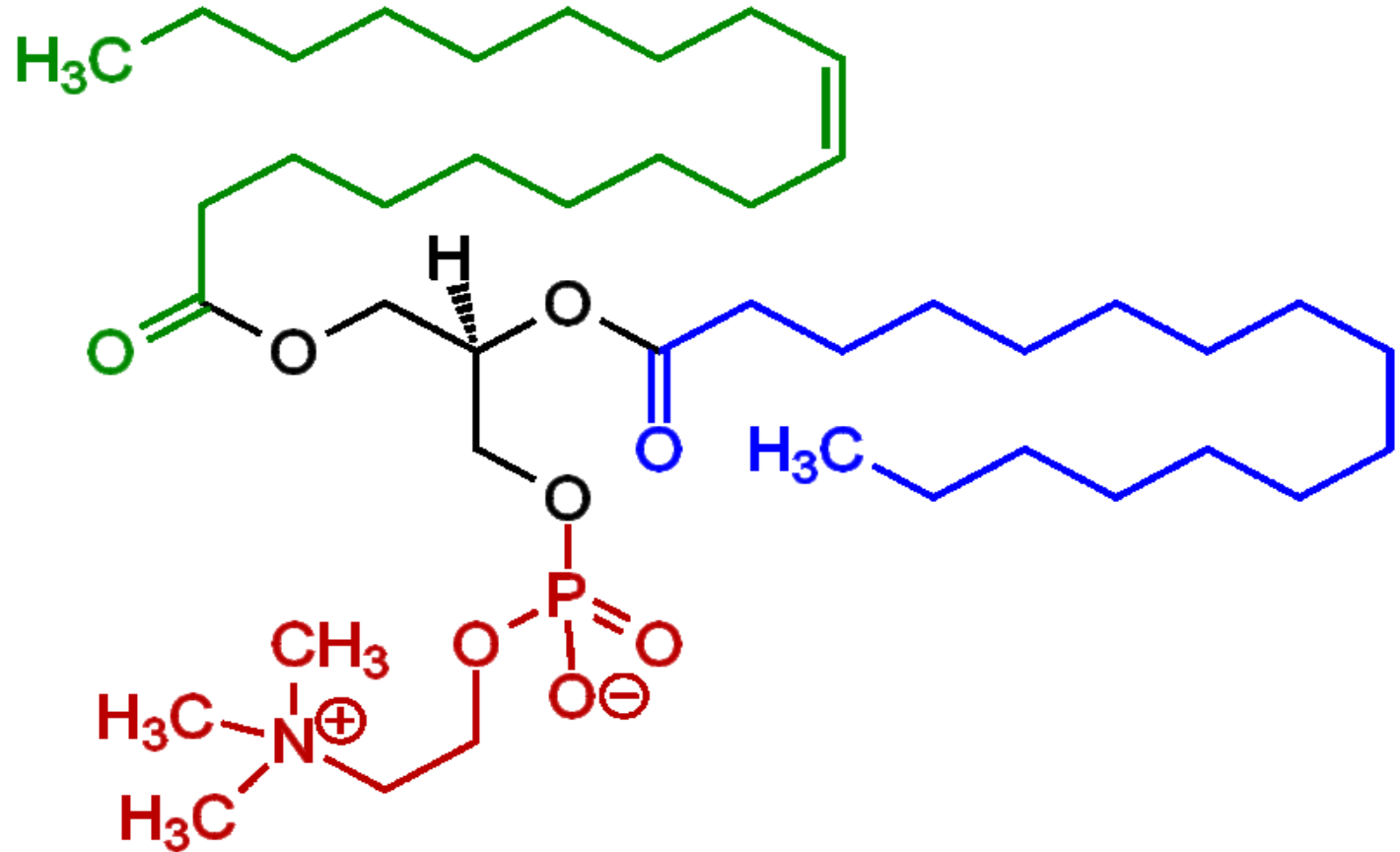


Tabulka 13 Obsah aminokyselin v různých proteinech⁶⁰

Aminokyselina	Protein			
	želatina	kasein	vaječný bílek	vaječný žloutek
	(mol. %)			
hydroxyprolin	6	0	0	0
asparagová kys.	4	6	10	11
threonin	2	3	4	6
serin	4	5	7	11
glutamová kys.	7	18	12	13
prolin	12	15	5	5
glycin	35	3	6	6
alanin	12	4	9	8
valin	2	8	9	7
1/2 cystin	0	0	2	2
methionin	1	2	1	2
isoleucin	1	6	6	5
leucin	3	9	10	9
tyrosin	0	4	1	2
fenylalanin	1	4	4	3
lysin	3	6	7	5
histidin	1	3	2	2
arginin	5	3	5	4

Vaječné proteiny – použití

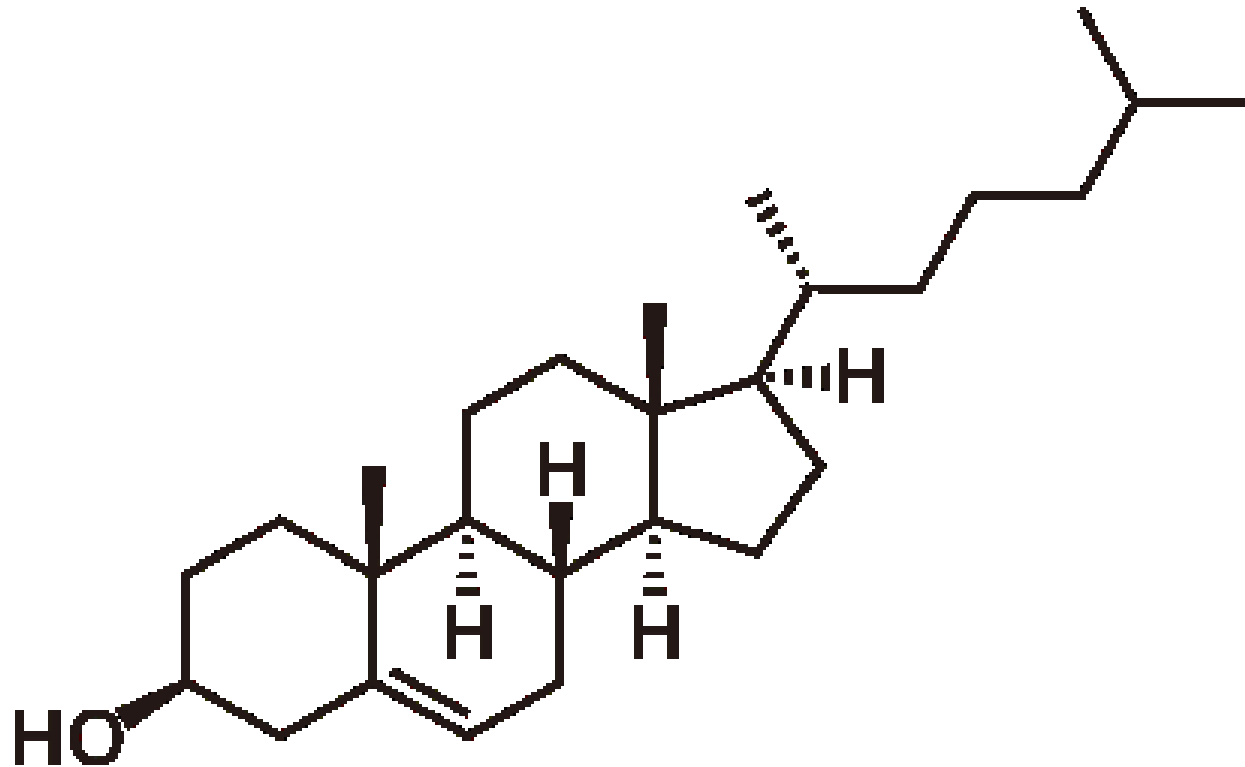
- Barvy



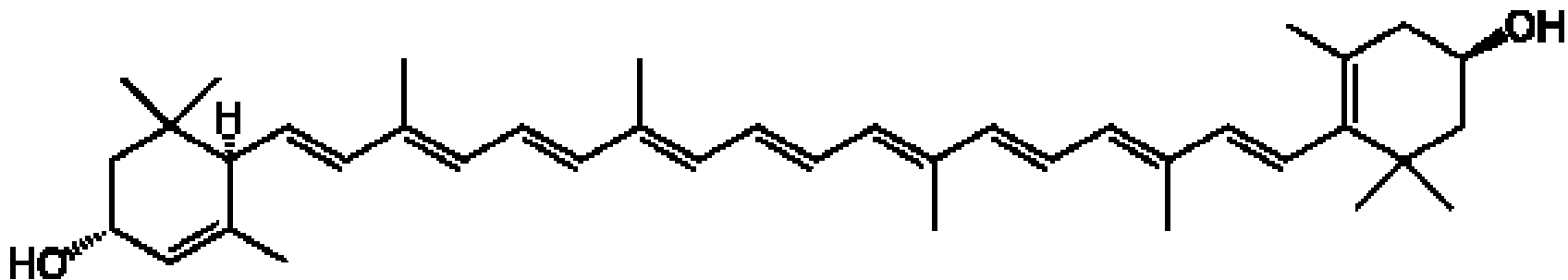
FOSFOLIPID LECITIN - emulgátor

Vaječné složky – použití

- Barvy



CHOLESTEROL – STEROID & emulgátor



Lutein - barvivo ve žloutku	
<u>Chemický název</u>	β,ϵ -karoten-3,3'-diol
<u>Sumární vzorec</u>	$C_{40}H_{56}O_2$
<u>Registrační číslo CAS</u>	127-40-2
Vzhled	pevná červeno-oranžová <u>krystalická látka</u>
<u>Molární hmotnost</u>	568,871 g/mol
<u>Teplota tání</u>	190 °C
<u>Rozpustnost</u> ve vodě	ne
<u>Rozpustnost</u> v tucích	ano

Vaječné proteiny v práci konzervátora a restaurátora

Část vejce	Fyzikální forma	Použití	poznámka
Žloutek, lecitin	PEVNÁ LÁTKA	Emulgátor	Tempery
Cholesterol	PEVNÁ LÁTKA	OCHRANNÝ KOLOID	
Bílek	Gel	Pojivo barev	
Celé vejce	Gel	Pojivo barev	Nevysýchavé oleje

Syrovátka

- **Syrovátka** je žlutozelená tekutina, která zbyde po sražení mléka. Syrovátka je vlastně mléčné sérum, které se získává po odstranění kaseinu z mléka. V praxi to vypadá asi tak, že se mléko úmyslně srazí a vznikne tuhá část kasein, což je v podstatě tvářoh, a tekutá část, které se občas říká mléčné sérum, což je syrovátka.
- **Sušená syrovátka** vzniká jako vedlejší produkt při výrobě sýrů nebo tvářohu.
- **Syrovátka** obsahuje vitamíny B1, B2, B6, B12, dále obsahuje i vitaminy C a E. Z minerálních látek to jsou hlavně hořčík, fosfor, vápník, draslík, sodík, zinek. Obsahuje cukr **LAKTÓZU**.
- Při vnějším užívání má **syrovátka** protizánětlivé účinky, proto je vhodná na citlivou pleť. Také je vhodná na každodenní mytí při akné i nespecifických dermatózách, napíná pokožku, prokrvuje a vyhlazuje. Reguluje pH, proto se doporučuje jako přísada do koupelí. Při ekzémech a lupence je doporučeno pití i koupele.

Syrovátka (*Whey*) – OBSAŽENÉ PROTEINY

- **Whey protein** is a mixture of globular proteins isolated from whey
- **Whey protein** is the collection of globular proteins isolated from whey, a by-product of cheese manufactured from cow's milk. The protein in cow's milk is 20% whey protein and 80% casein protein, whereas the protein in human milk is 60% whey and 40% casein. The protein fraction in whey constitutes approximately 10% of the total dry solids in whey. This protein is typically a mixture of beta-lactoglobulin (~65%), alpha-lactalbumin (~25%), bovine serum albumin (~8%)(see also serum albumin), and immunoglobulins. These are soluble in their native forms, independent of pH.
- **β-Lactoglobulin** is the major whey protein of cow and sheep's milk (~3 g/l),
- **α-Lactalbumin** is an important whey protein in cow's milk (~1 g/l) that enhances efficiency of brain function,
- **Serum albumin**, often referred to simply as **albumin** is a globular protein. **Serum albumin** is the most abundant plasma protein in mammals.
- An **antibody** (Ab), also known as an **immunoglobulin** (Ig), is a large Y-shaped protein produced by B cells that is used by the immune system to identify and neutralize foreign objects such as bacteria and viruses.

Syrovátka v práci konzervátora a restaurátora

- **Použití není známo**