

# Цветные и именные качественные реакции на белки и аминокислоты

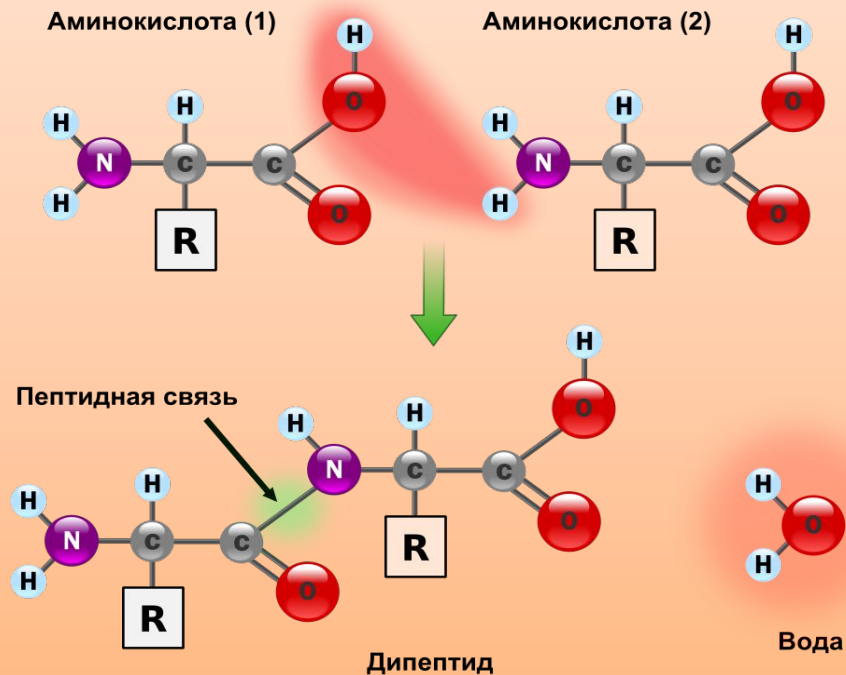
*Подготовила ученица 10 «Б» класса  
Калинчук Анастасия*

# Биуретовая реакция (Пиотровского)

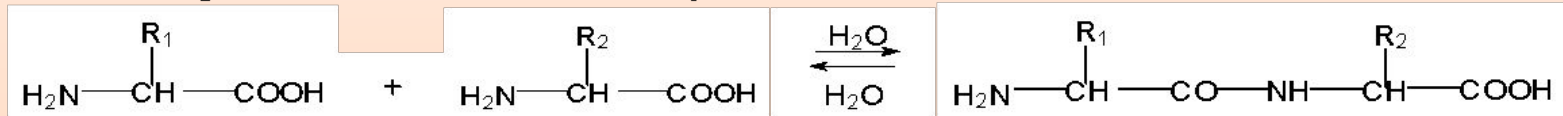
- *Биуретовая реакция — качественная на все без исключения белки, а также продукты их неполного гидролиза, которые содержат не менее двух пептидных связей\*. Биуретовая реакция обусловлена присутствием в белках пептидных связей, которые в щелочной среде образуют с сульфатом меди (II) окрашенные медные солеобразные комплексы.*

# \*Пептидная связь

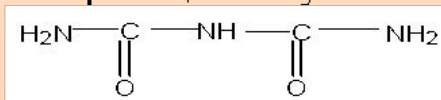
- Пептидная связь* — вид амидной связи, возникающей при образовании белков и пептидов в результате взаимодействия  $\alpha$ -аминогруппы ( $-\text{NH}_2$ ) одной аминокислоты с  $\alpha$ -карбоксильной группой ( $-\text{COOH}$ ) другой аминокислоты.



Эта реакция обусловлена наличием в белковой молекуле пептидных связей, возникающих при взаимодействии молекул аминокислот.

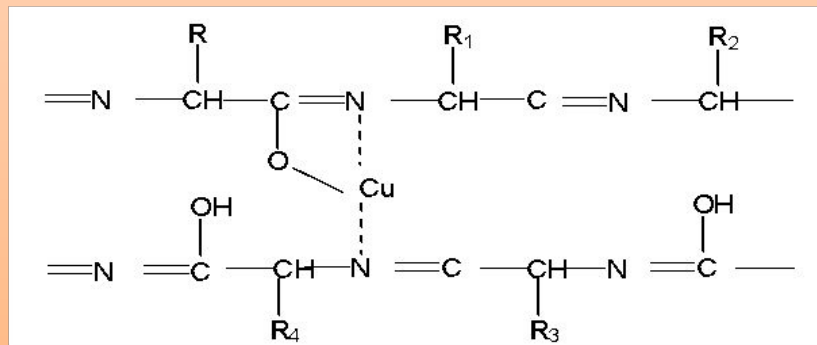


В результате взаимодействия ионов двухвалентной меди с пептидными связями в щелочной среде образуется комплексное соединение, окрашенное в красно-фиолетовый цвет. Название реакции обусловлено тем, что биурет (продукт конденсации двух молекул



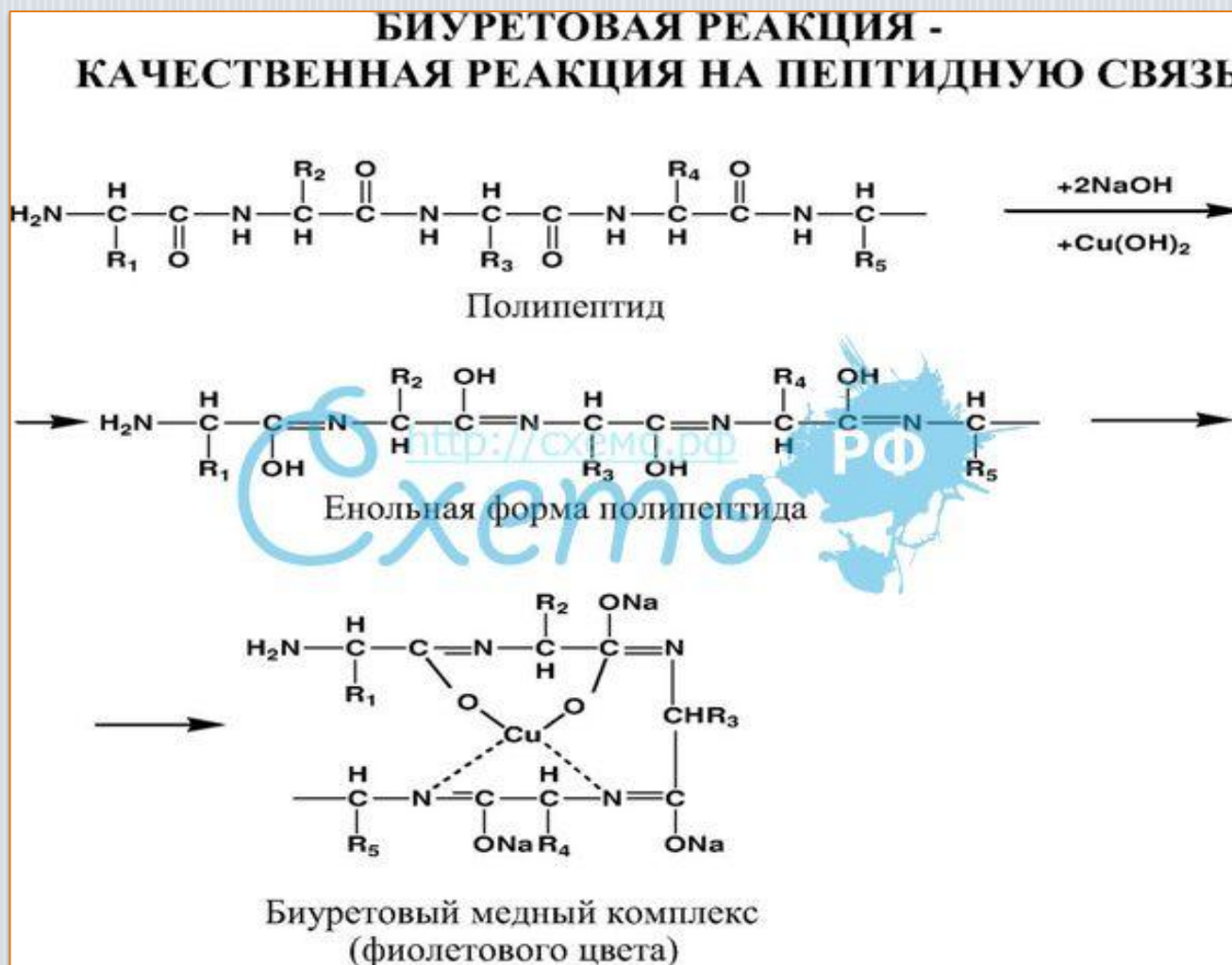
мочевины в аналогичных условиях дает такой же комплекс. Биуретовую реакцию дают все соединения, содержащие в молекуле две и больше двух близкорасположенных пептидных связей.

Химизм реакции: Диенольные формы пептидных связей образуют комплексное соединение с гидроокисью меди, в котором ковалентные связи образованы за счет водорода



енольного гидроксила, а координационная – за счет электронных пар атомов азота иминных групп.

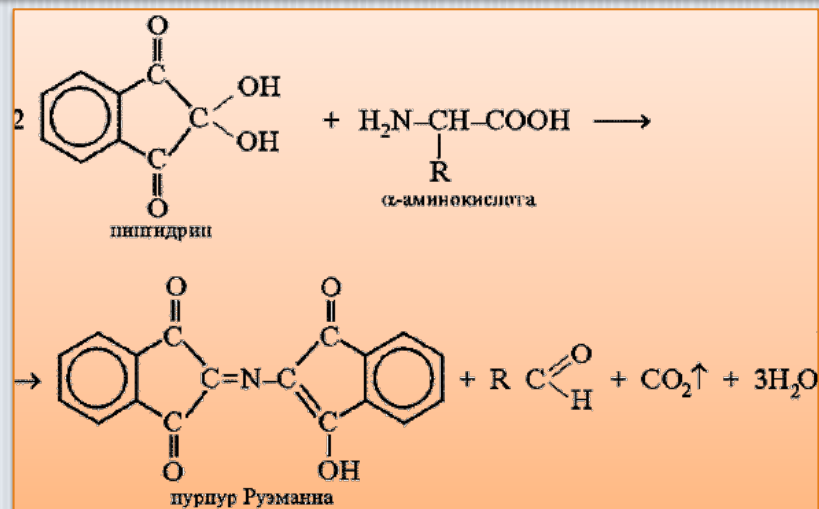
Ход работы: к 5 каплям исследуемого раствора белка и желатина добавляем 3 капли 10% р-ра NaOH и 1 каплю 1 % р-ра CuSO<sub>4</sub>. При наличии белка в пробирке появляется устойчивое сине-фиолетовое окрашивание.



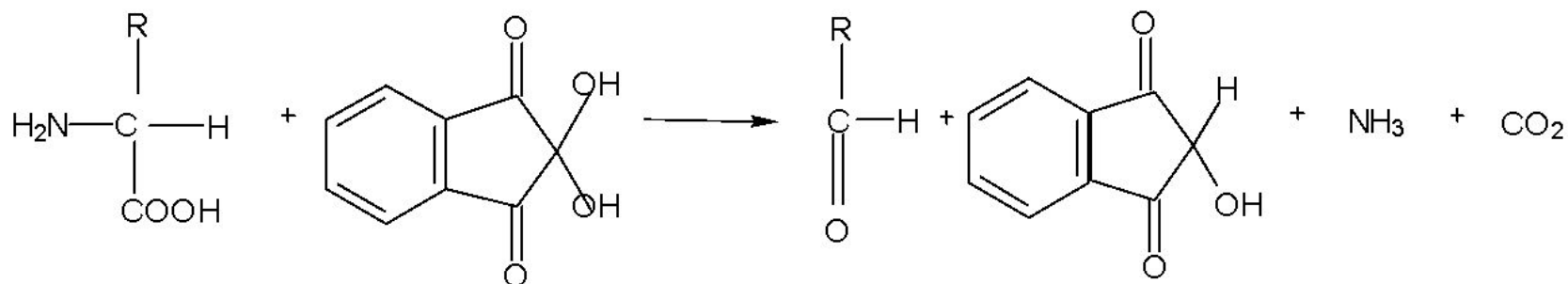


# Нингидриновая реакция (Руэмманна)

Нингидриновая реакция является универсальной реакцией на все аминокислоты, имеющие группу в  $\alpha$ -положении. Растворы белка и пептидов, имеющие свободную  $\alpha$ -аминогруппу также как и  $\alpha$ -аминокислоты при нагревании с нингидрином дают синее или фиолетовое окрашивание. В этой реакции  $\alpha$ -аминокислоты и пептиды окисляются нингидрином и подвергаются окислительному декарбоксилированию с образованием аммиака, альдегида и  $\text{CO}_2$ . Нингидрин восстанавливается и связывается со второй молекулой нингидрина посредством молекулы аммиака, образуя продукты конденсации, окрашенные в синий, фиолетовый, красный, а в случае пролина – в желтый цвет.



Химизм реакции:

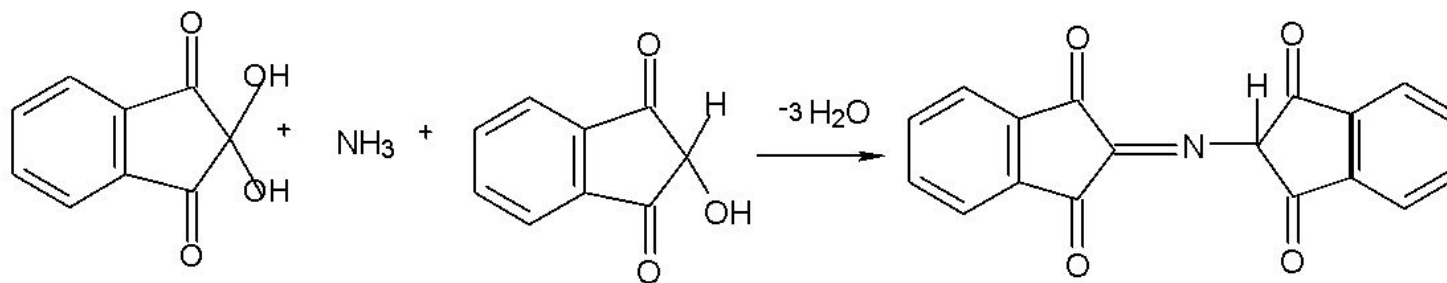


*α-аминокислота*

*нингидрин*

*альдегид*

*восстановленная форма  
нингидрина (гидриндантин)*



*продукт конденсации сине-фиолетового цвета*

Ход работы: к 5 каплям исследуемого раствора белка и желатина добавляем 5 капель 0,1% водного раствора нингидрина и кипятим 1-2 мин. Появляется розово-фиолетовое или сине-фиолетовое окрашивание. При стоянии раствор синеет. Окрашивание указывает на наличие α - аминогруппы.

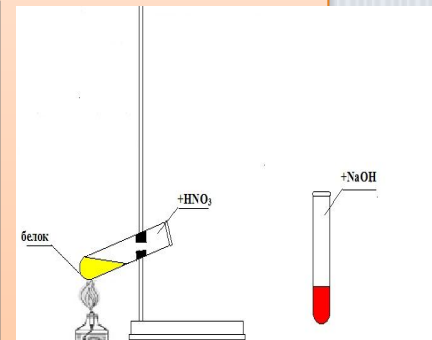
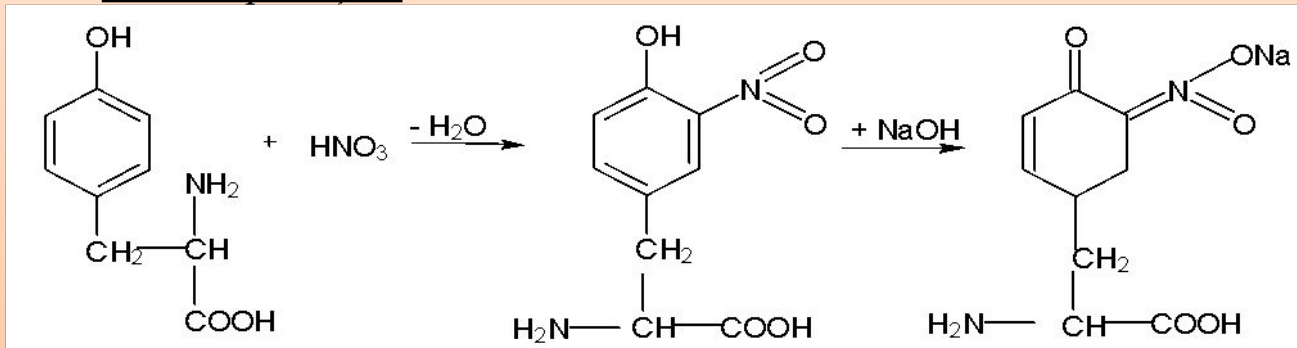


# Ксантепротеиновая реакция (Мульдера)

## Ксантепротеиновая реакция на циклические аминокислоты

Эта реакция основана на образовании нитропроизводных ароматических аминокислот (фенилаланин, тирозин, триптофан). Нитропроизводные имеют желтую окраску в кислой среде и оранжевую – в нейтральной и щелочных средах (ксантос – по-гречески – желтый).

### Химизм реакции:

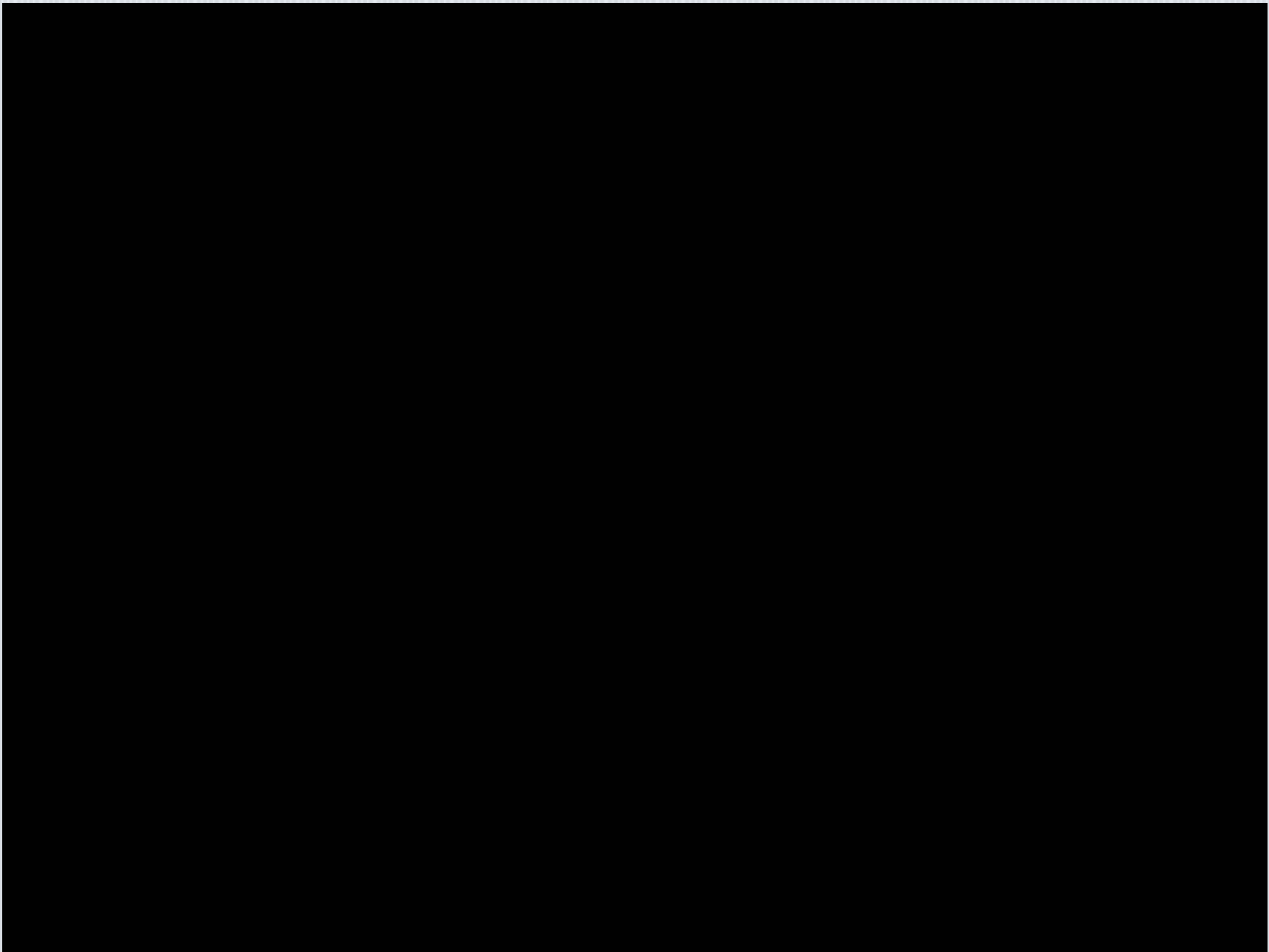


тирозин

нитропроизводное тирозина желтого цвета  $\text{pH} < 7,0$

хиноидное производное тирозина оранжево-желтого цвета  $\text{pH} > 7,0$

**Ход работы:** берут 2 пробирки и наливают в первую 5 капель раствора яичного белка, а во вторую – 5 капель раствора желатина. Затем в обе пробирки добавляют по 3-5 капель концентрированной азотной кислоты. Выпадает осадок свернувшегося белка (осадочная реакция). Если осадок содержит ароматические аминокислоты, то при нагревании осадок будет желтеть и растворяться. После охлаждения в каждую пробирку добавляют по каплям 10 % р-р  $\text{NaOH}$  до появления оранжевого окрашивания вследствие образования натриевой соли динитротирозина.

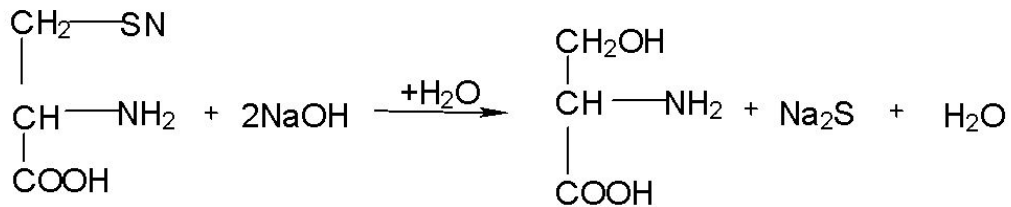


# Реакция Фоля

## Реакция Фоля на аминокислоты, содержащие серу

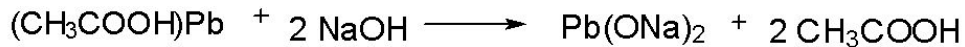
Реакция обусловлена наличием в белке серу содержащих аминокислот – цистеина, цистина. Она основана на отщеплении сероводорода от аминокислот при щелочном гидролизе белка с образованием сульфида натрия.

### Химизм реакции:



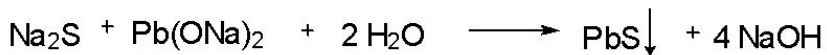
*цистеин*

*серин*



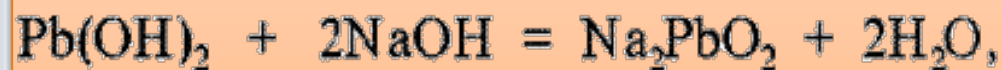
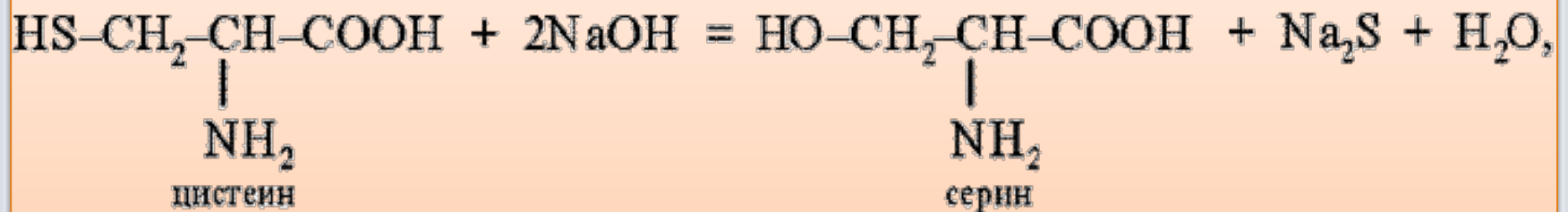
*ацетат свинца*

*плюмбит натрия*



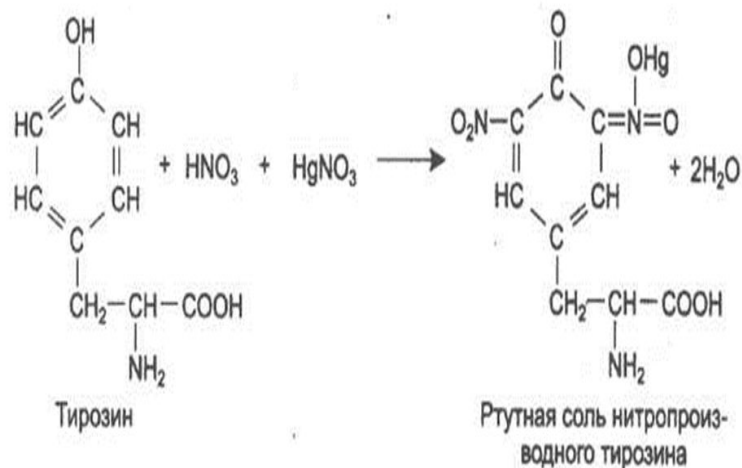
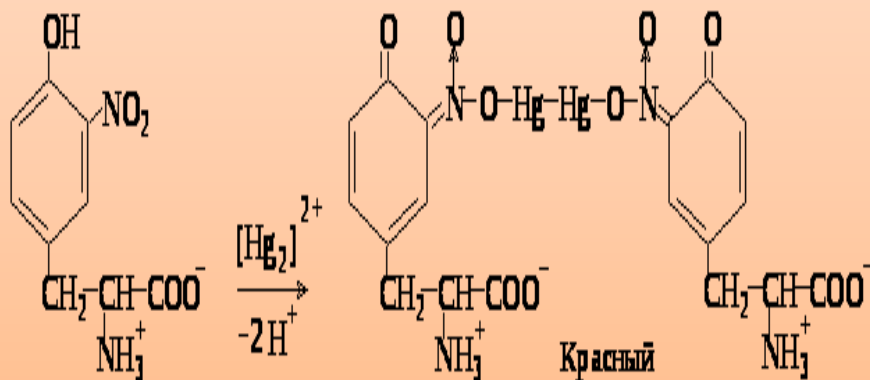
*черный осадок*

Ход работы: берем 2 пробирки и наливаем в первую 5 капель р-ра яичного белка, а во вторую 5 капель желатина. Затем в обе пробирки добавляем по 5 капель реактива Фоля. Интенсивно кипятим обе пробирки. Через 1-2 мин после кипячения при наличии серосодержащих кислот появляется осадок черного цвета.



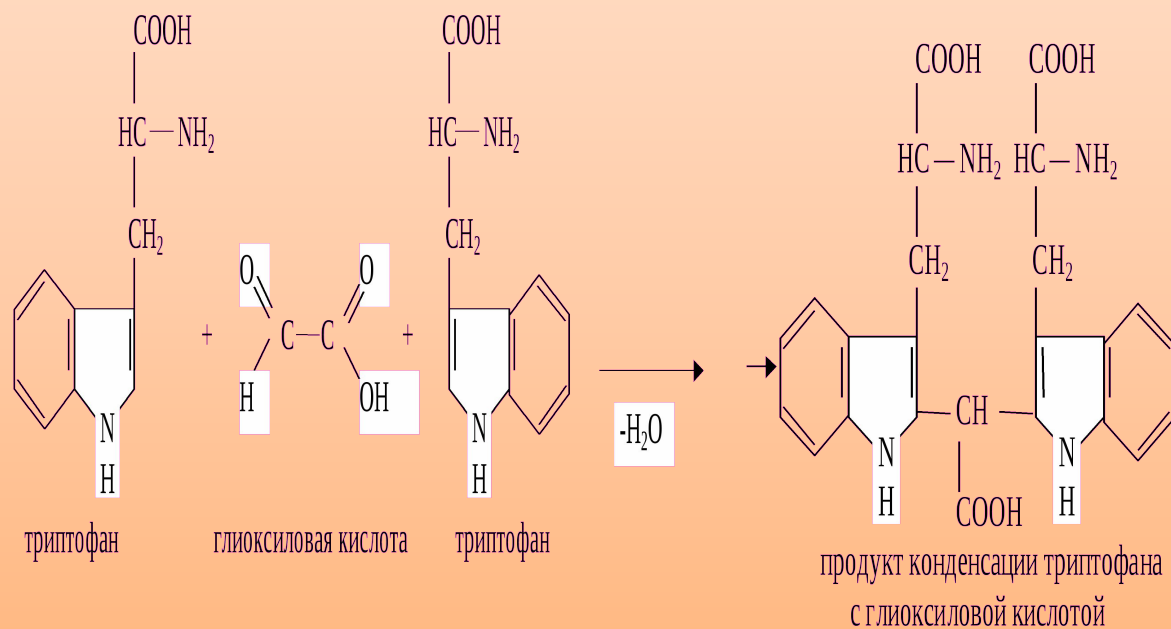
# Реакция Миллона

- Реакция на аминокислоту тирозин. Метод определения тирозина основан на том, что тирозин в отличие от триптофана и фенилаланина нитруется даже разбавленной азотной кислотой, а образующаяся ртутная соль нитротирозина дает пурпурно-красный цвет. Реактив Миллона - раствор  $HgNO_3$  и  $Hg(NO_2)_2$  в разбавленной  $HNO_3$ , содержащей примесь  $HNO_2$ .



# Реакция Адамкевича

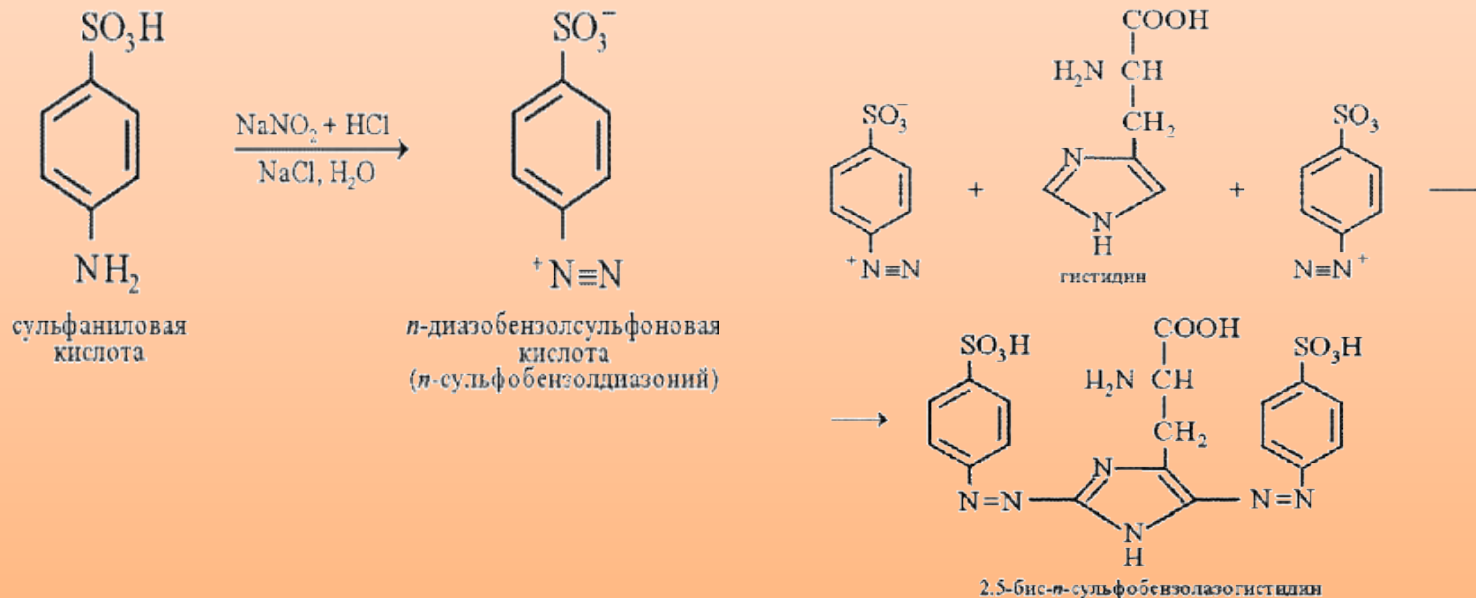
- Метод основан на способности триптофана в кислой среде реагировать с глиоксиловой кислотой с образованием соединения, окрашенного в красно-фиолетовый цвет. В качестве источника глиоксиловой кислоты обычно используют ледяную уксусную кислоту, содержащую примесь глиоксиловой.



# Реакция Паули

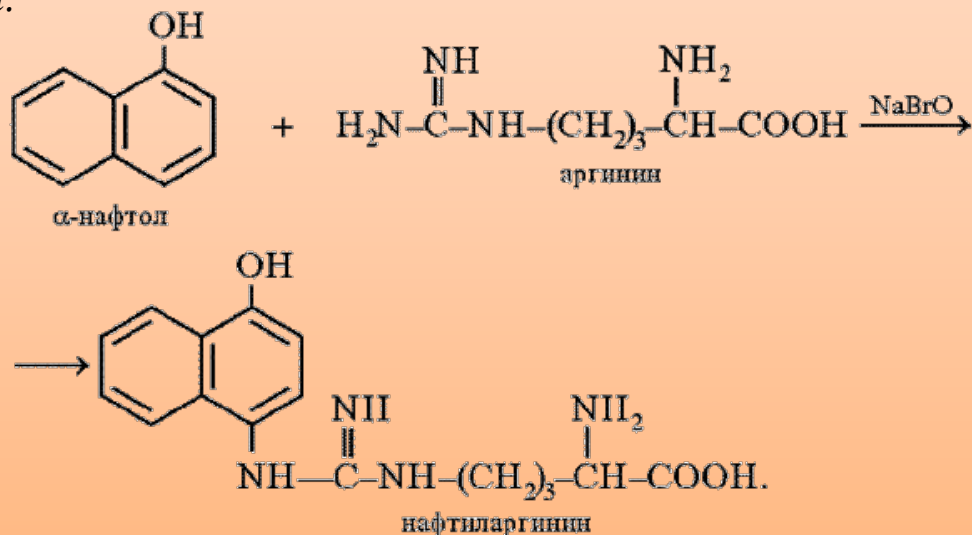
- Эта реакция на аминокислоту гистидин основана на взаимодействии гистидина с диазобензолсульфоновой кислотой с образованием соединения вишнево-красного цвета. Реакцию диазотирования осуществляют при взаимодействии кислого раствора сульфаниловой кислоты с нитритом натрия.

При этом образуется диазобензолсульфоновая кислота:



# Реакция Сакагучи

- Эта реакция на аминокислоту аргинин основана на взаимодействии аргинина с  $\alpha$ -нафтолом в присутствии окислителя. Поскольку производные нафтохинона, у которых водород аминогруппы  $-NH-$  замещен на алкильный радикал, всегда окрашены в желто-красные тона, то, оранжево-красный цвет раствора при проведении реакции Сакагучи объясняется возникновением именно производного нафтохинонимина. Не исключена вероятность образования еще более сложного соединения за счет дальнейшего окисления оставшихся  $NH$ -групп аргининового остатка и бензольного ядра  $\alpha$ -нафтола.





Реактивы	Определяемые аминокислоты	Наблюдаемое проявление
<b>Ксантопротеиновая реакция</b> Концентрированная азотная кислота	Тирозин Фенилаланин Триптофан	Желтая окраска
<b>Реакция Миллона</b> Нитрат ртути (I) + азотная кислота	Тирозин	Красный осадок
<b>Реакция Гопкинса – Кола</b> Глиоксиловая + концентрированная серная кислоты	Триптофан	Сине-фиолетовая окраска
<b>Реакция Эрлиха</b> <i>n</i> -Диметиламинобензальдегид + концентрированная хлористоводородная кислота	Триптофан	Пурпурно-синяя окраска
<b>Реакция Сакагучи</b> $\alpha$ -Нафтол + гипобромит натрия	Аргинин	Красная окраска
<b>Нитропруссидная реакция</b> Нитропруссид натрия + разбавленный водный аммиак	Цистеин	Красно-фиолетовая окраска
<b>Реакция Фоля</b> Ацетат свинца + едкий натр	Цистеин Метионин	Черный осадок
<b>Фармакопейная реакция</b> 1. Резорцин + концентрированная серная кислота 2. Раствор аммиака	Глутаминовая кислота Глутамин	Красно-фиолетовая окраска
<b>Реакция Паули</b> Диазореактив из сульфаниловой кислоты + едкий натр	Гистидин Тирозин	Красная окраска
<b>Реакция Фолина-Чиокалтеу</b> Фосфомолибдодвольфрамовая кислота	Тирозин	Синяя