

Цветные и именные качественные реакции на белки и аминокислоты

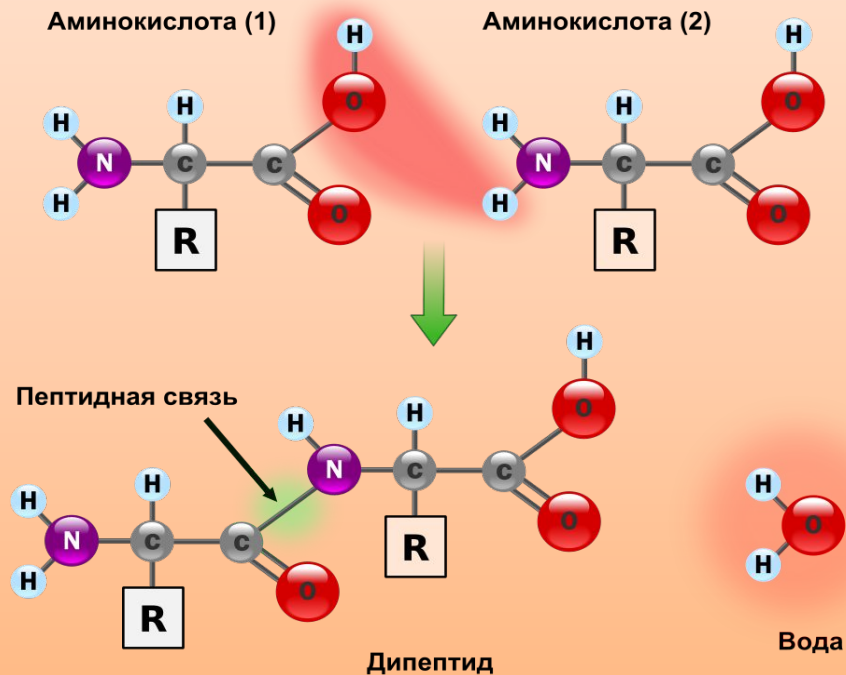
*Подготовила ученица 10 «Б» класса
Калинчук Анастасия*

Биуретовая реакция (Пиотровского)

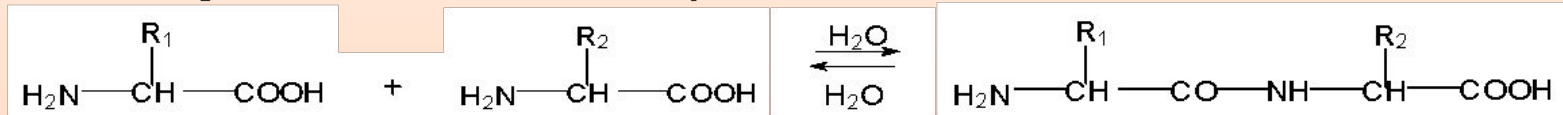
- *Биуретовая реакция — качественная на все без исключения белки, а также продукты их неполного гидролиза, которые содержат не менее двух пептидных связей*. Биуретовая реакция обусловлена присутствием в белках пептидных связей, которые в щелочной среде образуют с сульфатом меди (II) окрашенные медные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

*Пептидная связь

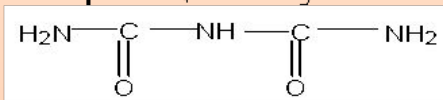
- Пептидная связь* — вид амидной связи, возникающей при образовании белков и пептидов в результате взаимодействия α -аминогруппы ($-\text{NH}_2$) одной аминокислоты с α -карбоксильной группой ($-\text{COOH}$) другой аминокислоты.



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

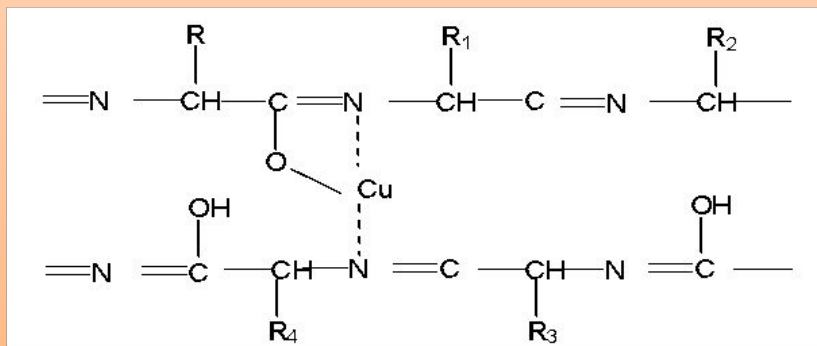


В результате взаимодействия ионов двухвалентной меди с пептидными связями в щелочной среде образуется комплексное соединение, окрашенное в красно-фиолетовый цвет. Название реакции обусловлено тем, что биурет (продукт конденсации двух молекул



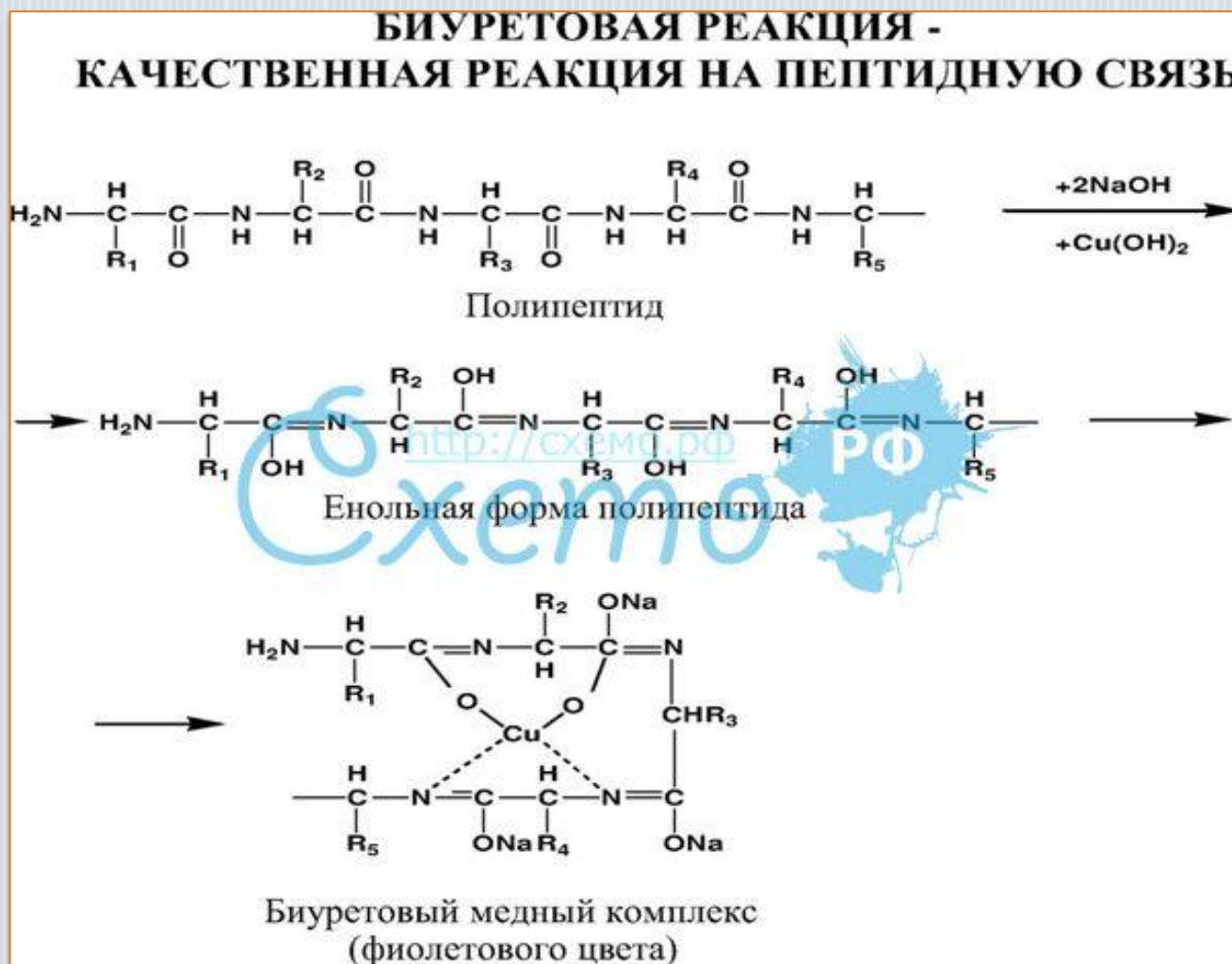
мочевины в аналогичных условиях дает такой же комплекс. Биуретовую реакцию дают все соединения, содержащие в молекуле две и больше двух близкорасположенных пептидных связей.

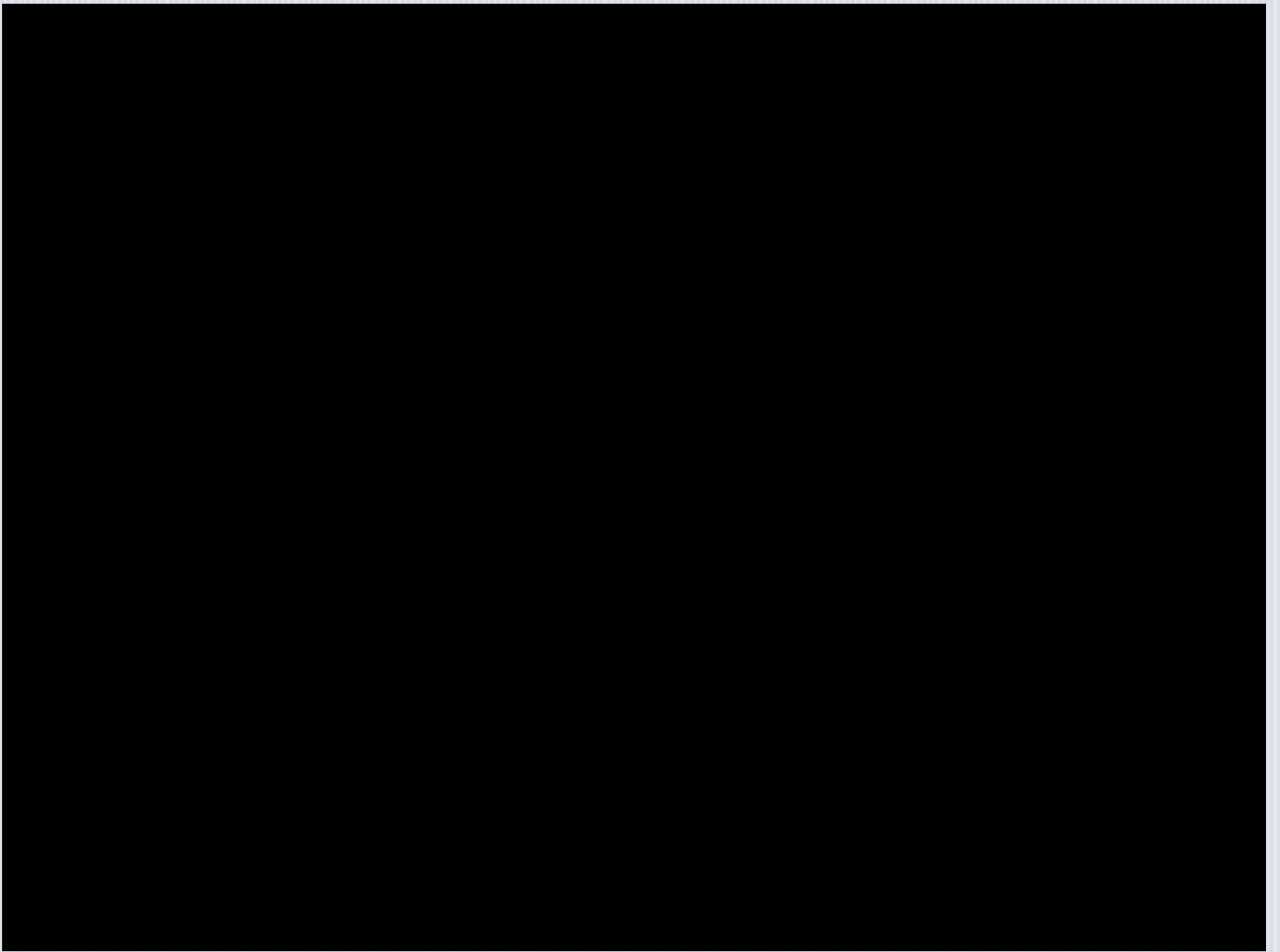
Химизм реакции: Диенольные формы пептидных связей образуют комплексное соединение с гидроокисью меди, в котором ковалентные связи образованы за счет водорода



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

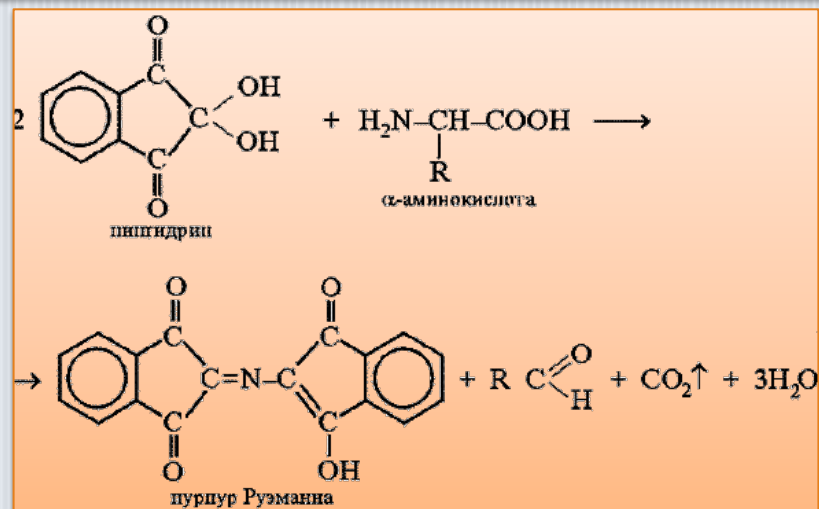
Ход работы: к 5 каплям исследуемого раствора белка и желатина добавляем 3 капли 10% р-ра NaOH и 1 каплю 1 % р-ра CuSO₄. При наличии белка в пробирке появляется устойчивое сине-фиолетовое окрашивание.



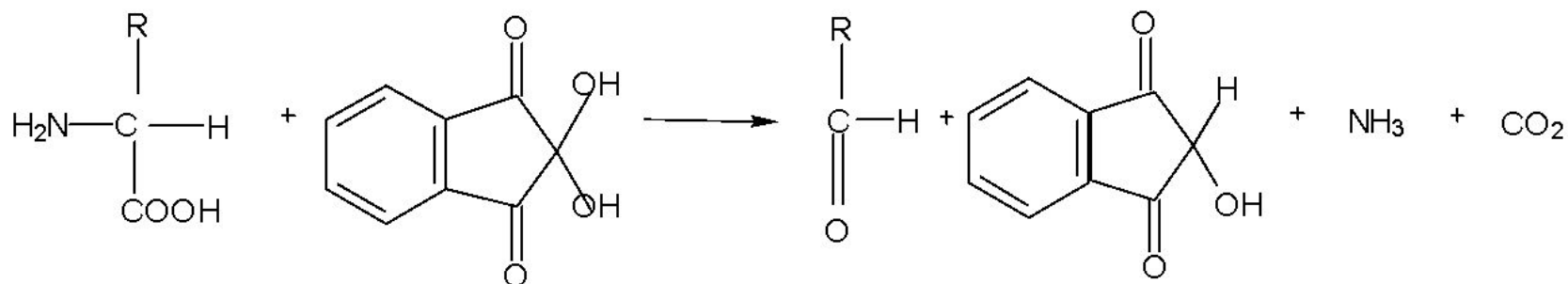


Нингидриновая реакция (Руэмманна)

Нингидриновая реакция является универсальной реакцией на все аминокислоты, имеющие группу в α -положении. Растворы белка и пептидов, имеющие свободную α -аминогруппу также как и α -аминокислоты при нагревании с нингидрином дают синее или фиолетовое окрашивание. В этой реакции α -аминокислоты и пептиды окисляются нингидрином и подвергаются окислительному декарбоксилированию с образованием аммиака, альдегида и 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:

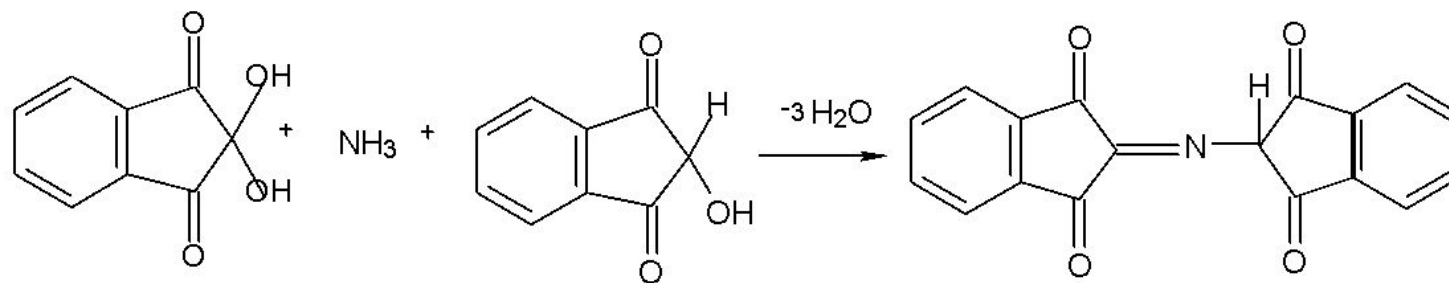


α-аминокислота

нингидрин

альдегид

*восстановленная форма
нингидрина (гидриндантин)*



продукт конденсации сине-фиолетового цвета

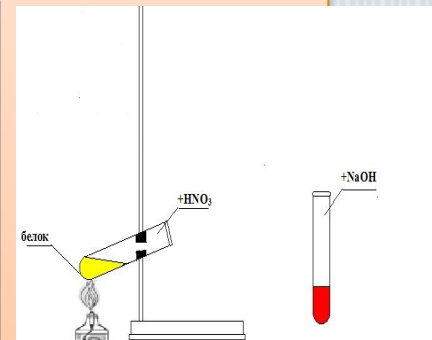
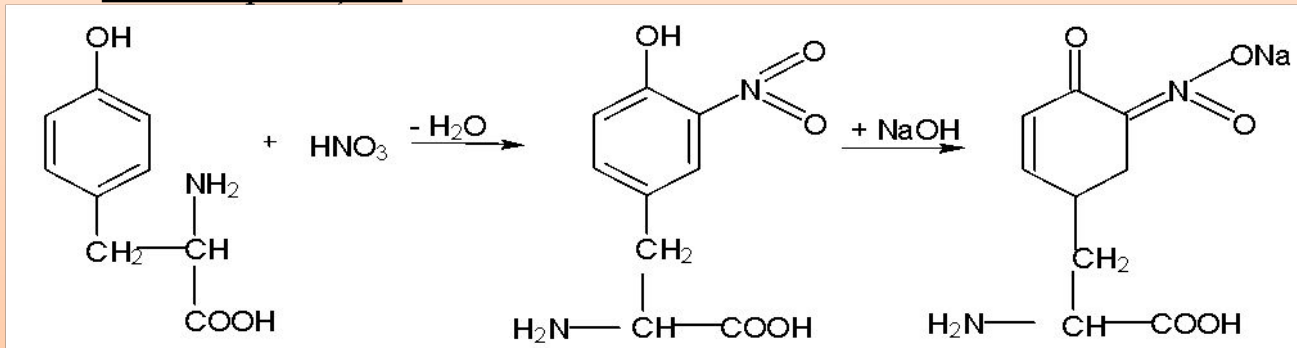
Ход работы: к 5 каплям исследуемого раствора белка и желатина добавляем 5 капель 0,1% водного раствора нингидрина и кипятим 1-2 мин. Появляется розово-фиолетовое или сине-фиолетовое окрашивание. При стоянии раствор синеет. Окрашивание указывает на наличие α - аминогруппы.

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:

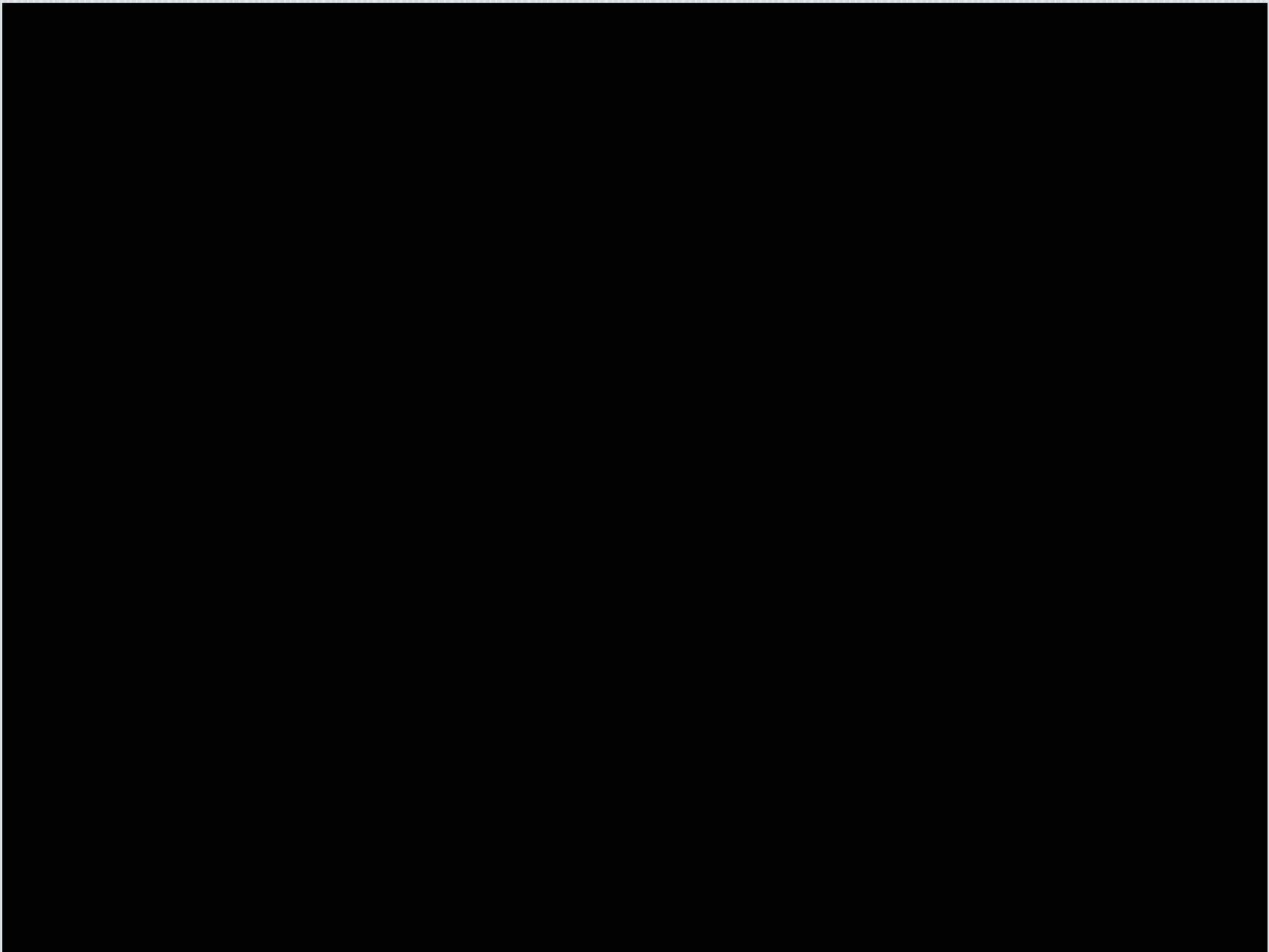


тирозин

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

хиноидное производное
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 NaOH до появления оранжевого окрашивания вследствие образования натриевой соли динитротирозина.

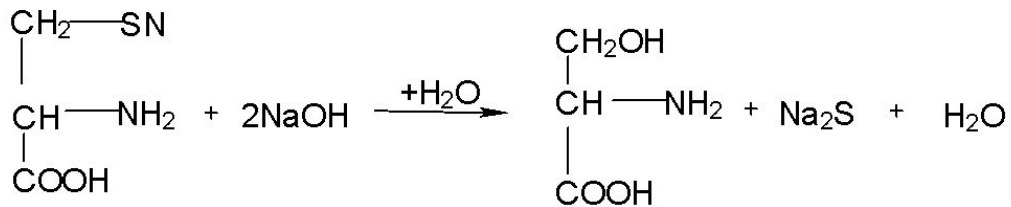


Реакция Фоля

Реакция Фоля на аминокислоты, содержащие серу

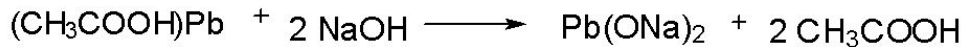
Реакция обусловлена наличием в белке серу содержащих аминокислот – цистеина, цистина. Она основана на отщеплении сероводорода от аминокислот при щелочном гидролизе белка с образованием сульфида натрия.

Химизм реакции:



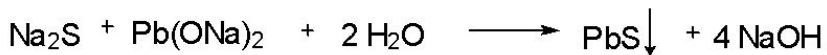
цистеин

серин



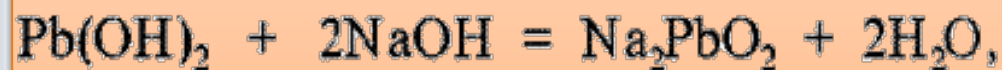
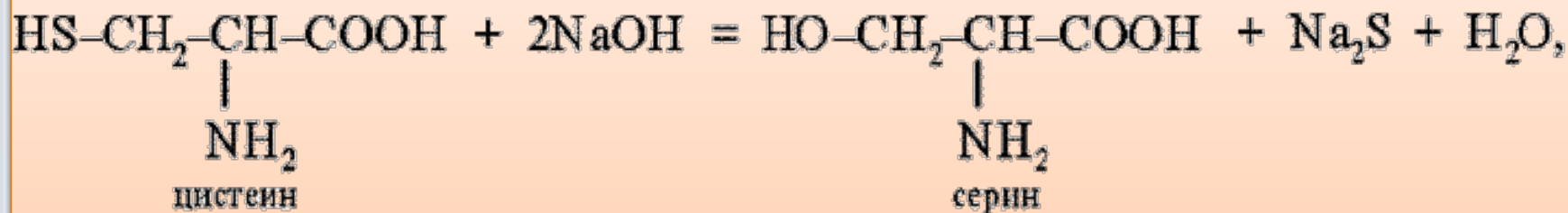
ацетат свинца

плюмбит натрия



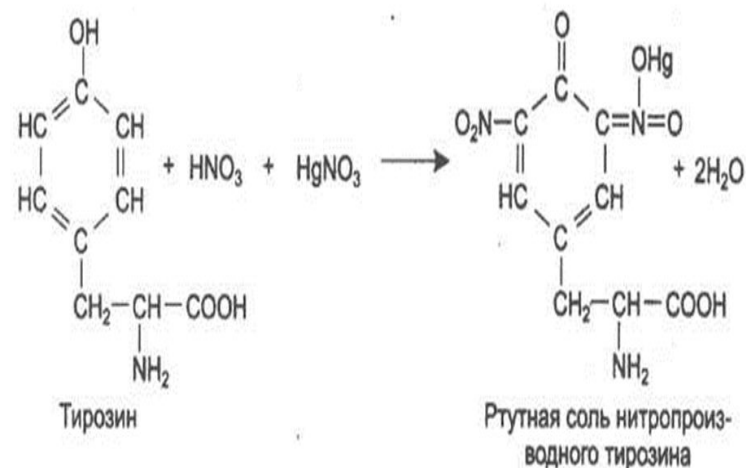
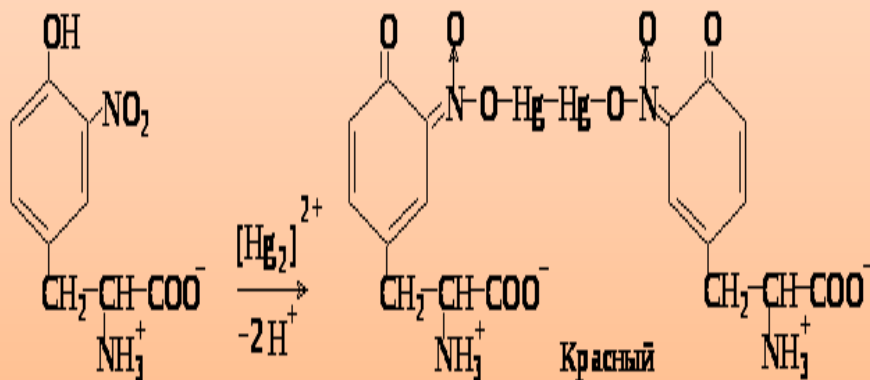
черный осадок

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.



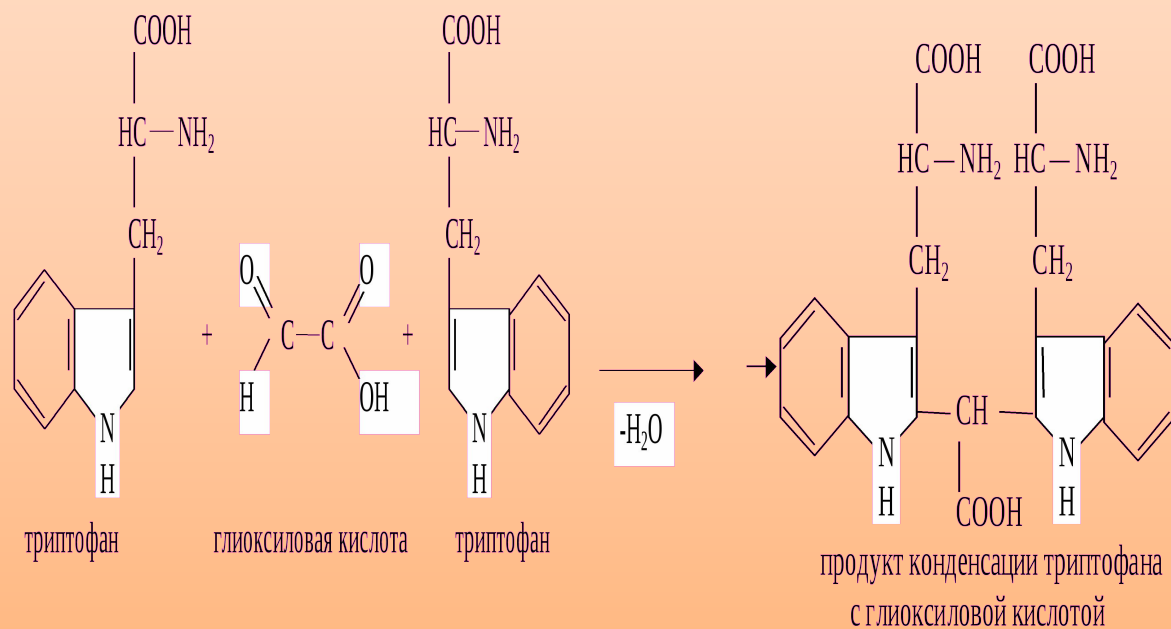
Реакция Миллона

- 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 $\text{Hg}(\text{NO}_2)_2$ в разбавленной HNO_3 , содержащей примесь HNO_2 .



Реакция Адамкевича

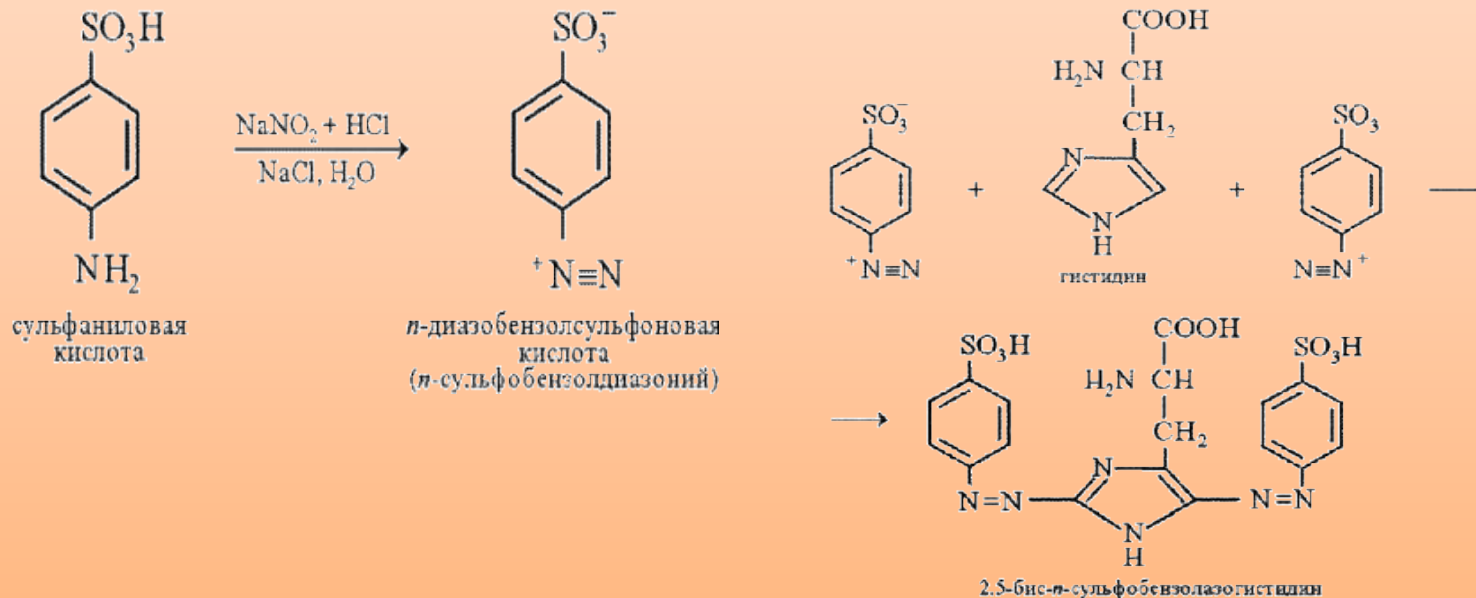
- Метод основан на способности триптофана в кислой среде реагировать с глиоксиловой кислотой с образованием соединения, окрашенного в красно-фиолетовый цвет. В качестве источника глиоксиловой кислоты обычно используют ледяную уксусную кислоту, содержащую примесь глиоксиловой.



Реакция Паули

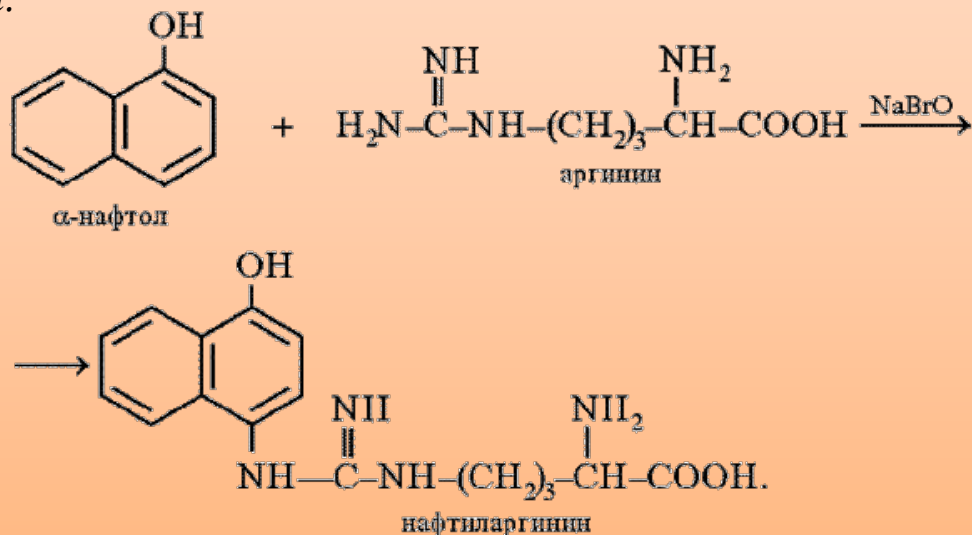
- Эта реакция на аминокислоту гистидин основана на взаимодействии гистидина с диазобензолсульфоновой кислотой с образованием соединения вишнево-красного цвета. Реакцию диазотирования осуществляют при взаимодействии кислого раствора сульфаниловой кислоты с нитритом натрия.

При этом образуется диазобензолсульфоновая кислота:



Реакция Сакагучи

- Эта реакция на аминокислоту аргинин основана на взаимодействии аргинина с α -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 α -нафтола.



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