

## Лабораторна робота №1 ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА АМІНОКИСЛОТИ ТА БІЛКИ

**Мета роботи:** провести якісні реакції на амінокислоти та білки; засвоїти механізм цих реакцій.

**Практичне значення роботи:** якісні реакції на амінокислоти та білки широко використовуються для встановлення білкової природи речовини, вивчення амінокислотного складу різноманітних природних білків, пептидів, для ідентифікації індивідуальних амінокислот, для виявлення амінокислот у гідролізатах білків, у біологічних рідинах, тканинах організму, в лікарських засобах.

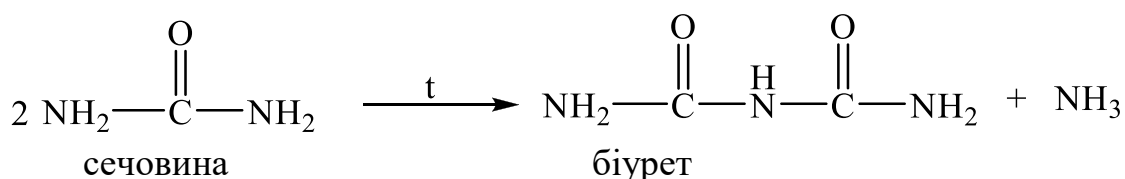
**Матеріали та реактиви:** штатив для пробірок, пробірки, пробіркотримач, піпетки, сухе пальне, сірники; дистильована вода, 1%-й розчин яєчного білка або концентрований розчин яєчного білка, 10%-й розчин натрій гідроксиду, 1%-й розчин купрум сульфату, розчин нінгідрину, концентрована нітратна кислота, волосся або шматочок нігтя, розчин п्लумбум ацетату, розчин натрій нітриту, концентрована оцтова кислота.

### Хід роботи

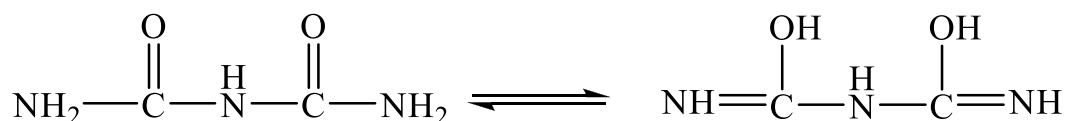
**Дослід 1.** Біуретова реакція (реакція Піотровського)

**Принцип реакції.** Біуретова реакція доводить наявність у молекулах білків пептидних зв'язків (-CO-NH-). Сполуки, які мають у своєму складі не менше двох пептидних зв'язків (білки, пептиди), у лужному середовищі утворюють із купрум сульфатом комплекс *фіолетового кольору*. Біуретова реакція доводить наявність пептидних зв'язків у білках і поліпептидах.

Біуретову реакцію вперше було досліджено О.Я. Данілевським. Реакція отримала назву від похідного сечовини – біурету. Він утворюється при взаємодії 2-х молекул сечовини внаслідок відщеплення амоніаку, при температурі 180 °С.

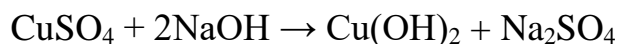


У лужному середовищі біурет зазнає енолізації:

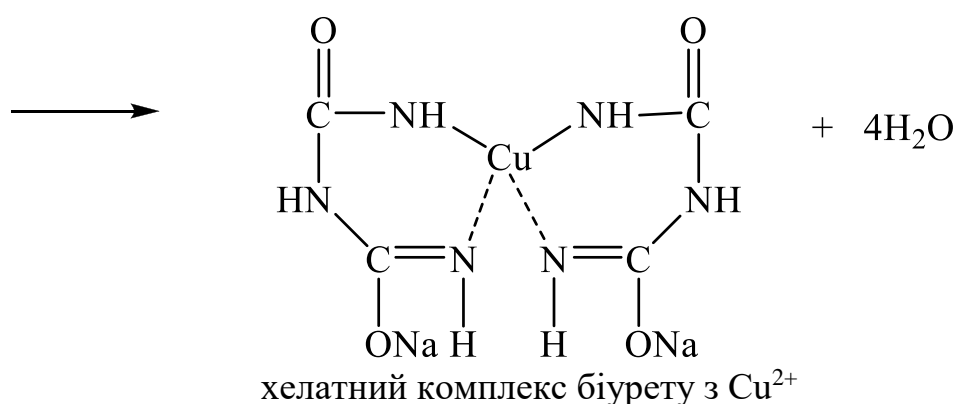
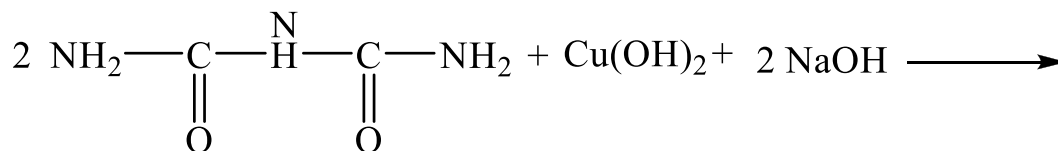


Дві молекули енольної форми біурету взаємодіють з купрум (II) гідроксидом та утворюють комплекс, у якому координаційні зв'язки утворені за рахунок електронних пар атомів Нітрогену імінних груп.

Купрум (II) гідроксид для проведення біуретової реакції отримують, як правило, в результаті взаємодії купрум (II) сульфату з натрій гідроксидом:



Утворення комплексу біурету з купрум (II) гідроксидом відбувається за схемою:



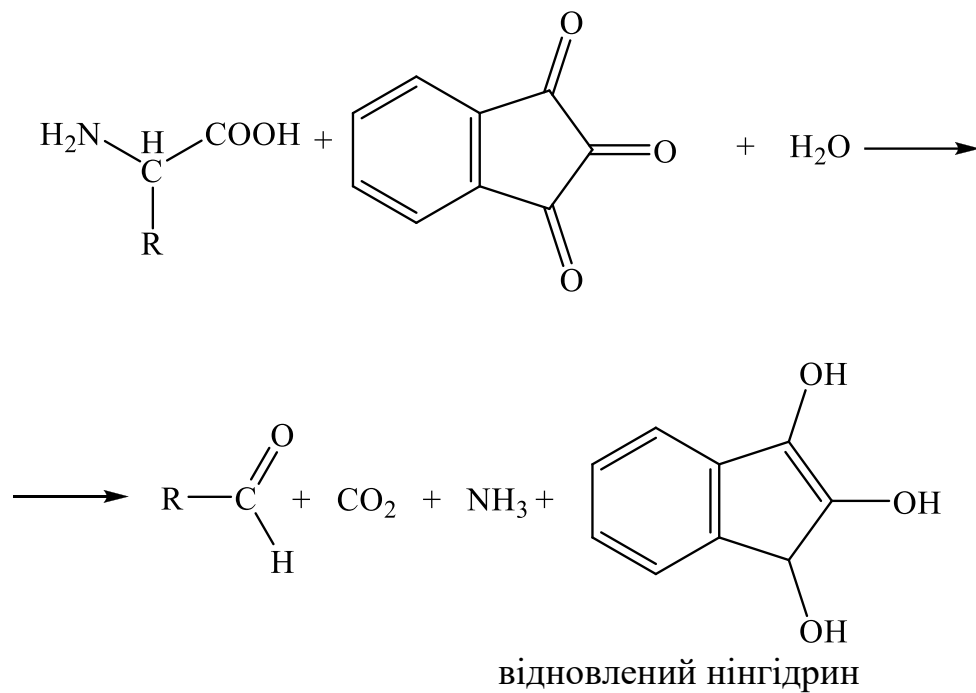
**Хід роботи.** До 5 крапель 1%-го розчину яєчного білка (або концентрованого яєчного білка) додають 5 крапель 10%-го розчину натрій гідроксиду, 2 краплі 1%-го розчину купрум (II) сульфату та все перемішують. Вміст пробірки набуває *фіолетового забарвлення*.

**Примітка.** Не можна додавати надлишок купрум (II) сульфату, оскільки маскується характерне *фіолетове забарвлення* біуретового комплексу білка.

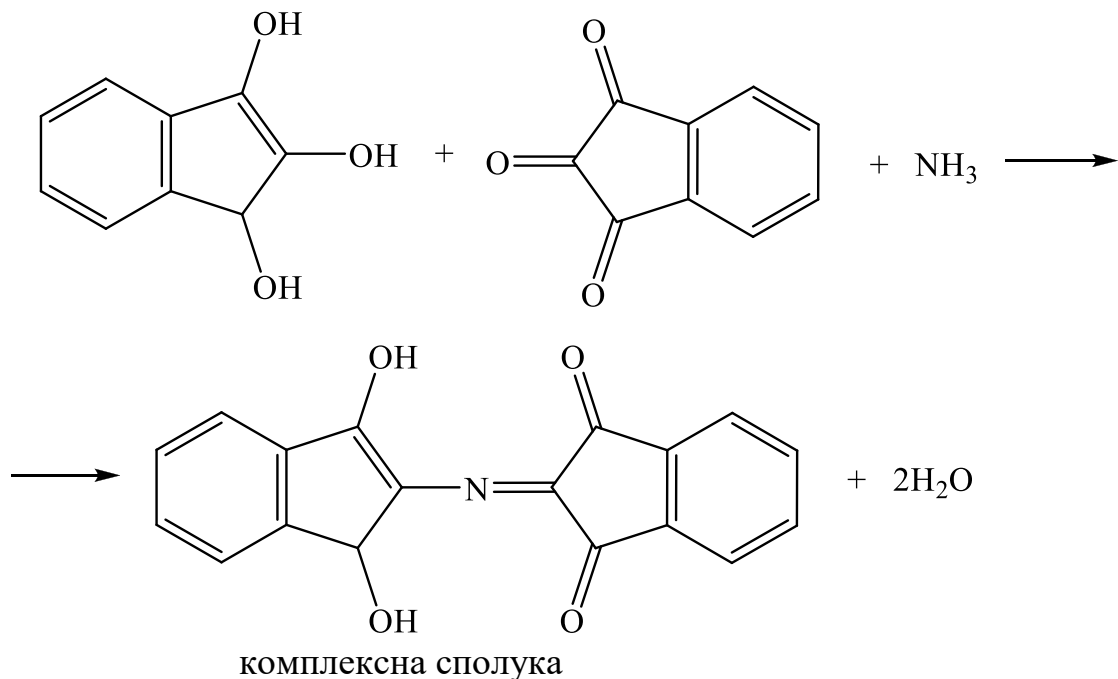
## Дослід 2. Нінгідринова реакція

**Принцип реакції.** Білки, поліпептиди, вільні амінокислоти при нагріванні з нінгідрином дають *рожево-фіолетове забарвлення*. Реакція характерна для  $\alpha\text{-NH}_2$ -групи, використовується для виявлення  $\alpha$ -амінокислот.

Реакція ґрунтується на окисно-відновних властивостях нінгідрину. Внаслідок нагрівання до  $70\text{ }^\circ\text{C}$  та окиснювального дезамінування та декарбоксілювання від амінокислоти відщеплюється аміногрупа з утворенням амоніаку, виділяється карбон (IV) оксид та утворюється альдегід. Нінгідрин за цих умов відновлюється.



Відновлений нінгідрин конденсується з амоніаком та окисненою формою нінгідрину й утворює комплексну сполуку *рожево-фіолетового кольору*:



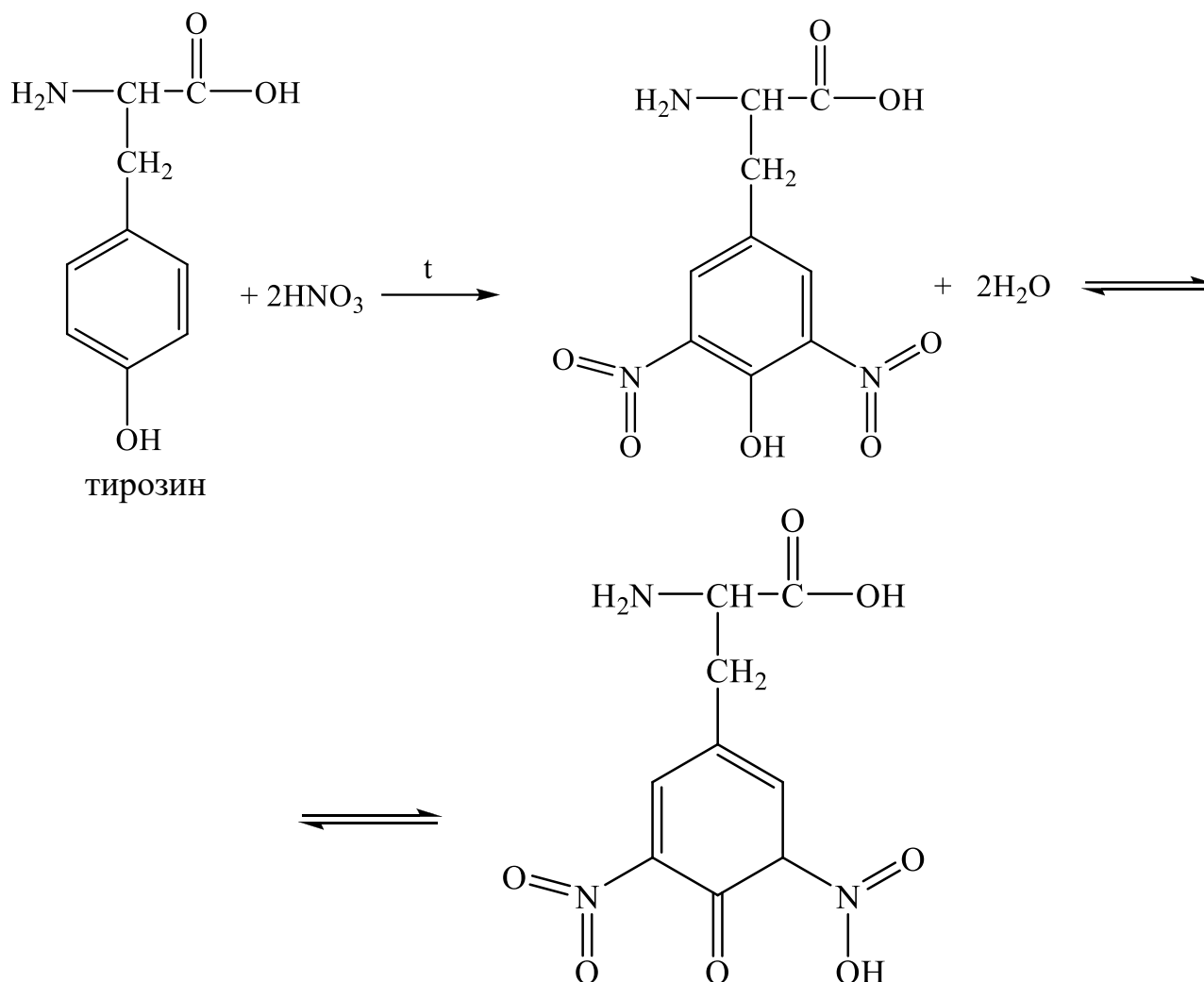
Ця реакція не є специфічною лише для амінокислот, оскільки її дають деякі аміни та амідни.

**Обережно!!!** Нінгідрин токсичний, тому слід уникати його потрапляння на шкіру та слизові оболонки.

**Хід роботи.** До 3-4 крапель 1%-го розчину яєчного білка або концентрованого яєчного білка додають 1-2 краплі розчину нінгідрину та нагрівають пробірку. У ній з'являється *рожево-фіолетове забарвлення*.

### Дослід 3. Ксантопротеїнова реакція (реакція Мульдера)

**Принцип реакції.** Реакція характерна для бензенового ядра ароматичних амінокислот (фенілаланіну, тирозину, триптофану). Ароматичне кільце амінокислот нітрується при дії концентрованої нітратної кислоти з утворенням нітросполук, забарвлених у *жовтий колір*:

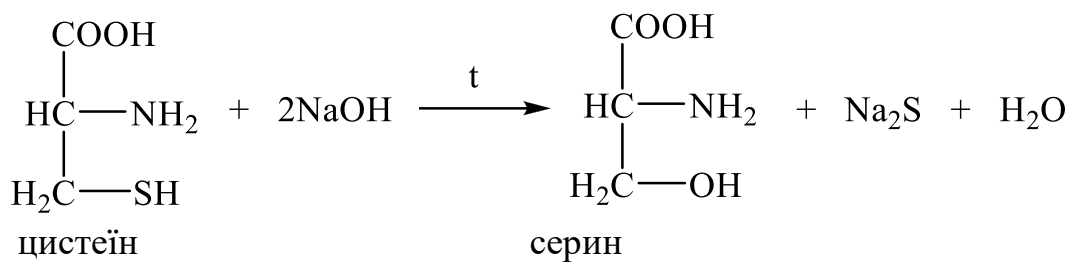


При додаванні амоніаку забарвлення переходить в *оранжеве*.

**Хід роботи.** У пробірку до 3-4 крапель 1%-го розчину яєчного білка або концентрованого яєчного білка додають 1-2 краплі концентрованої нітратної кислоти. Пробірку обережно нагрівають, спостерігають за зміною забарвлення. Утворюється нітросполука *жовтого кольору*.

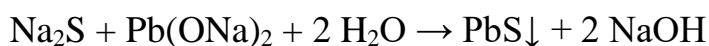
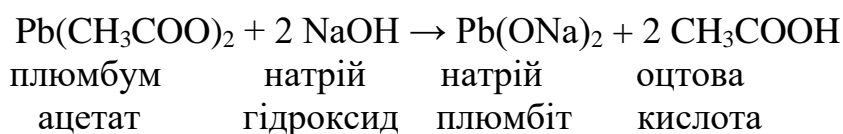
### Дослід 4. Реакція Фоля

**Принцип реакції.** Реакція відкриває сульфуровмісні амінокислоти (цистин, цистеїн). При нагріванні цистеїну (або цистину) в лужному середовищі від них легко відщеплюється Сульфур у вигляді гідрогенсульфіду, який в лужному середовищі утворює натрій сульфід:



Утворення натрій сульфїду можна визначити за допомогою іонів важких металів, наприклад, іонів плюмбуму, які утворюють з іонами Сульфуру нерозчинний плюмбум сульфїд *чорного кольору*.

Для виявлення Сульфуру можна використовувати плюмбум ацетат, який при взаємодії з натрій гідроксидом утворює натрій плюмбіт. Своєю чергою натрій плюмбіт, реагуючи з натрій сульфїдом, зумовлює утворення плюмбум сульфїду:

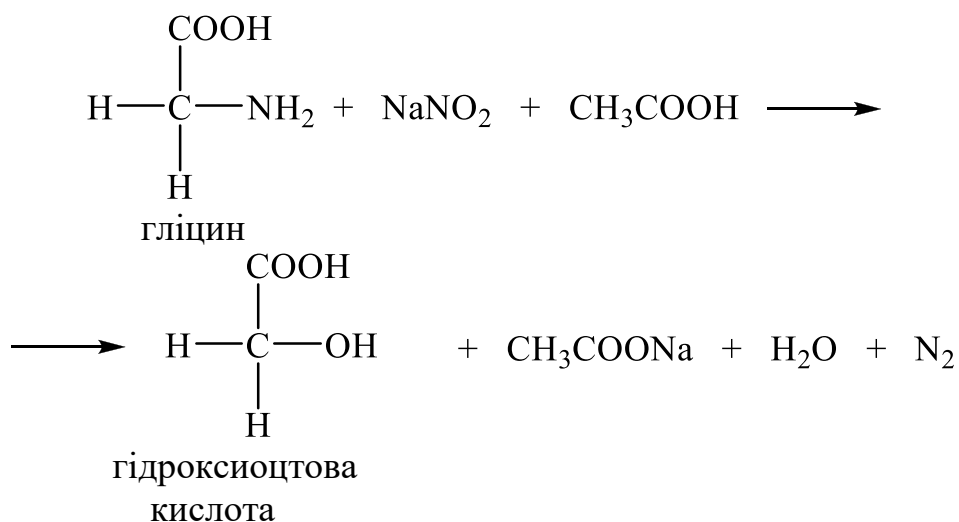


**Хід роботи.** В 1-у пробірку поміщають трохи волосся або шматочок нігтя, а в 2-у пробірку – 5 крапель 1%-го розчину яєчного білка або концентрованого яєчного білка. У кожену із пробірок додають по 1 краплі розчину плюмбум ацетату, а потім 1 краплю розчину гідроксиду натрію; пробірки нагрівають до кипіння. У 1-й пробірці з'являється *осад чорного кольору*, у 2-й пробірці – нічого не відбувається або ж утворюється осад білого кольору.

#### Дослід 5. Реакція Ван-Слайка

**Принцип реакції.** Реакція дозволяє визначити  $\text{NH}_2$ -групу в амінокислотах і білках.

У результаті взаємодії амінокислоти з натрій нітритом та оцтовою кислотою відбувається утворення газоподібного азоту.



**Хід роботи.** У пробірку наливають 1-2 мл 1%-го розчину яєчного білка (або концентрованого яєчного білка) або амінокислоти, додають рівний об'єм (1-2 мл) розчину нітриту натрію та декілька крапель концентрованої оцтової кислоти. При цьому утворюється нітритна кислота, яка вступає в реакцію з аміногрупою. Виділяються бульбашки газу – азоту.

Результати дослідів 1-5 запишіть у таблицю 1 за аналогією:

Таблиця 1

Якісні реакції на амінокислоти й білки

№ п/п	Назва досліду	Реактиви, які використовують	Зміни, що відбуваються під час реакції	Висновок
1	2	3	4	5
1	Біуретова реакція	1) 5 крапель 1%-го розчину яєчного білка (або концентрованого яєчного білка); 2) 5 крапель 10%-го розчину натрію гідроксиду; 3) 2 краплі 1%-го розчину купрум (II) сульфату; все перемішують.	Фіолетове забарвлення	Реакція доводить наявність у молекулах білків, пептидів, пептидних зв'язків (-CO-NH-).

**За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.**

#### ✍ Завдання для домашнього виконання

1. Напишіть реакції, які доводять амфотерність амінокислоти на прикладі моноаміномонокарбонової амінокислоти. Напишіть реакцію утворення цвітеріону цієї амінокислоти.

2. Напишіть реакцію утворення дипептидів – аланілтироzinу, валілсерину. Вкажіть N-кінець (N-кінцеву амінокислоту), C-кінець (C-кінцеву амінокислоту), пептидний зв'язок у структурах дипептидів.

#### ? Питання для самоконтролю

1. Охарактеризуйте особливості будови амінокислот та наведіть їх класифікацію.

2. Охарактеризуйте фізико-хімічні властивості амінокислот.

3. Назвіть якісні реакції на амінокислоти. Наведіть їх схеми.