

# Цветные реакции белков

---

Качественные реакции на  
остатки аминокислот





# Указатель реакций

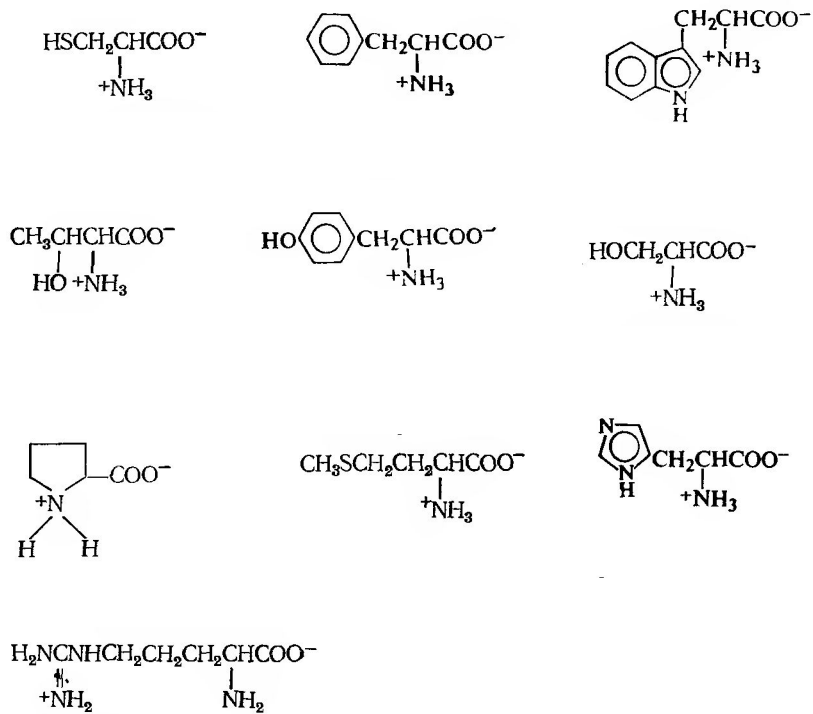
- Биуретовая
  - a) [Уравнение реакции](#)
  - b) [Проведение опыта](#)
- [Нингидриновая](#)
- Ксантопротеиновая
  - a) [Уравнение реакции](#)
  - b) [Проведение опыта](#)
- [Миллона](#)
- [Гопкинса-Коле](#)
- [Диазореакция Паули](#)

# Функция качественных реакций



- Для аминокислот, постоянно встречающихся в составе белков, разработано множество цветных (в том числе именных) реакций. Многие из них высокоспецифичны, что позволяет определять ничтожные количества той или иной аминокислоты.
- Надо помнить, что все качественные реакции – это реакции не собственно на белки, а на определенные аминокислоты, входящие в их состав.

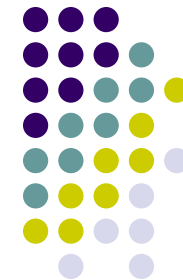
# Аминокислоты



- Основной структурной единицей белков служат α-аминокислоты. В состав большинства природных белков входит около 20 α-аминокислот.
- Качественные реакции служат как для определения принадлежности вещества к классу белков, так и для идентификации входящих в его состав аминокислот






[Наиболее распространённые аминокислоты см. таблицу](#)

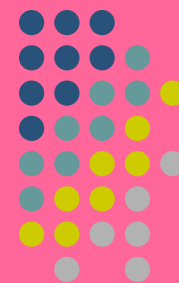
# Аминокислоты



Наиболее распространенные α-аминокислоты

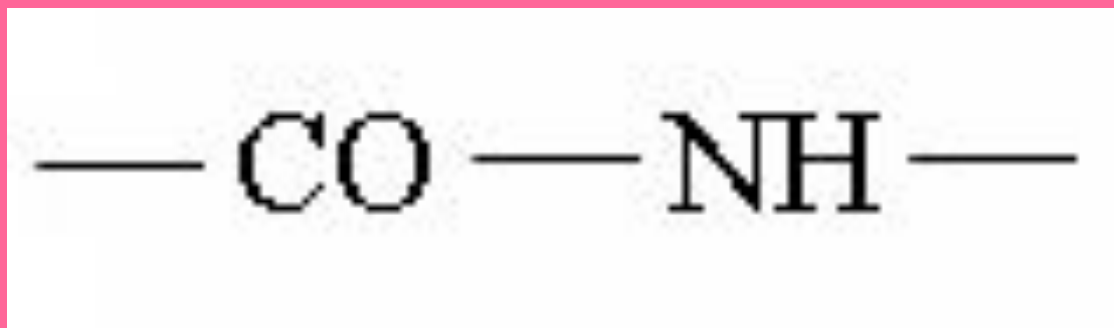
| Название (сокращение)                       | R  | Температура плавления, °С | Изоэлектрическая точка (pI) | pKa  |
|---|--|---------------------------|-----------------------------|--|
| 1   | 2  | 3                         | 4                           | 5  |
| <i>Алифатические аминокислоты</i>           |  |                           |                             |  |
| Глицин (гли)                                | -H   | 293                       | 5,97                        | 2,34; 9,60   |
| Аланин (ала)                                | -CH <sub>3</sub>   | 297                       | 6,02                        | 2,35; 9,69   |
| Валин (вал)                                 | -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>   | 315                       | 5,97                        | 2,32; 9,62   |
| Лейцин (лей)                                | -CH <sub>2</sub> -CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>                              | 337                       | 5,98                        | 2,36; 9,60   |
| Изолейцин (илей)                            | -CH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub><br> <br>CH <sub>3</sub>                     | 284                       | 6,02                        | 2,36; 9,68   |
| <i>Оксиаминокислоты</i>                     |  |                           |                             |  |
| Серин (сер)                                 | -CH <sub>2</sub> OH  | 228                       | 5,68                        | 2,21; 9,15   |
| Треонин (тре)                               | -CH-CH <sub>3</sub><br> <br>OH   | 253                       | 6,53                        | 2,63; 10,43  |
| <i>Дикарбоновые аминокислоты и их амиды</i> |  |                           |                             |  |
| Аспарагиновая кислота (асп)                 | -CH <sub>2</sub> COOH  | 270                       | 2,97                        | 2,09 (α-COOH),<br>3,86 (β-COOH);<br>9,82                       |
| Аспарагин (аспи)                            | -CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>   | 236                       | 5,41                        | 2,02; 8,80   |
| Глутаминовая кислота (глу)                  | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH  | 249                       | 3,22                        | 2,19 (α-COOH),<br>4,25 (γ-COOH);<br>9,67                       |
| Глутамин (глун)                             | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>                               | 185                       | 5,65                        | 2,17; 9,13   |
| <i>Двухосновные аминокислоты</i>            |  |                           |                             |  |
| Лизин (лиз)                                 | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> | 224                       | 9,74                        | 2,18; 8,95 (α-NH <sub>2</sub> ),<br>10,53 (ε-NH <sub>2</sub> ) |
| Аргинин (арг)                               | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NHCNH <sub>2</sub><br>  <br>NH  | 238                       | 10,76                       | 2,17; 9,04 (α-NH <sub>2</sub> ),<br>12,48<br>(ион гуанидиния)  |

| 1                                  | 2   | 3                   | 4    | 5   |
|------------------------------------|---|---------------------|------|---|
| Гистидин (гис)                     | -CH <sub>2</sub><br> | 277                 | 7,58 | 1,82; 6,0<br>(имидазол), 9,17                         |
| <i>Ароматические аминокислоты</i>  |   |                     |      |   |
| Фенилаланин (фен)                  | -CH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>  | 275                 | 5,98 | 1,83; 9,13  |
| Тирозин (тир)                      | -CH <sub>2</sub> -   | 344                 | 5,65 | 2,20; 9,11 (α-NH <sub>2</sub> ),<br>10,07 (-OH)       |
| Триптофан (три)                    | -CH <sub>2</sub> -   | 282                 | 5,88 | 2,38; 9,39  |
| <i>Серосодержащие аминокислоты</i> |   |                     |      |   |
| Цистеин (цис-SH)                   | -CH <sub>2</sub> SH   | 178<br>(хлоргидрат) | 5,02 | 1,71; 8,33 (-SH),<br>10,78 (α-NH <sub>2</sub> )       |
| Цистин (цис-S-S-цис)               | -CH <sub>2</sub> -S-S-CH <sub>2</sub> -   | 260                 | 5,06 | 1,65; 2,26 (COOH);<br>7,85; 9,85 (α-NH <sub>2</sub> ) |
| Метионин (мет)                     | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -S-CH <sub>3</sub>   | 283                 | 5,75 | 2,38; 9,39  |
| <i>Иминокислоты</i>                |   |                     |      |   |
| Пролин (про)                       |                     | 222                 | 6,10 | 1,99; 10,60   |
| Оксипролин (опро)                  | HO-                | 270                 | 5,83 | 1,92; 9,73  |



# Биуретовая реакция

- Определяет наличие пептидной связи в растворе исследуемого соединения.

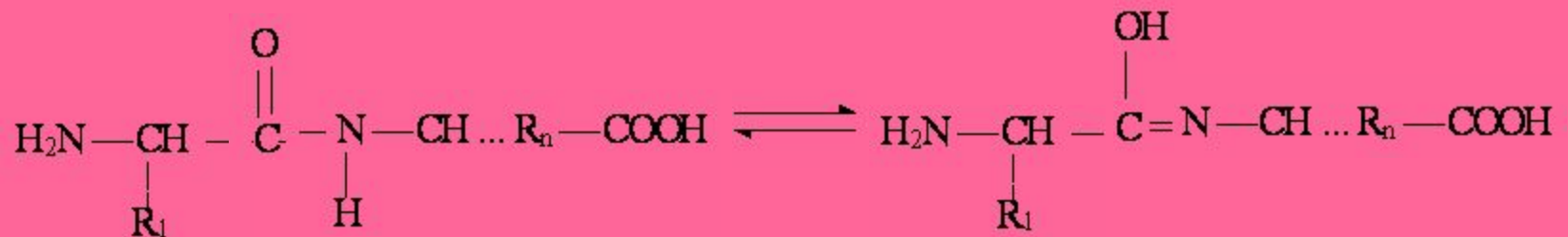


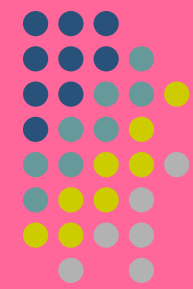
пептидная связь



# Биуретовая реакция

- Реакция обусловлена образованием биуретового комплекса в результате соединения меди с пептидной группировкой белка.
- В пептидах и белках пептидная связь обычно находится в амидной форме (или кетоформе), но в щелочной среде она переходит в иминольную (енольную):



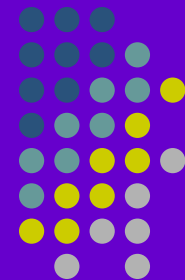


# Биуретовая реакция

- Биуретовая реакция протекает так:







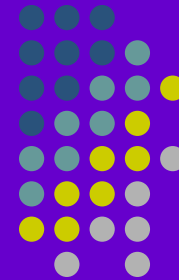
# Нингидриновая реакция

Качественная реакция на  $\alpha$ -аминокислоты

- Аминокислота с нингидрином образует продукт конденсации типа азометина



# Нингидриновая реакция



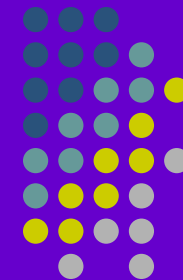
- путем перегруппировки



- и гидролиза

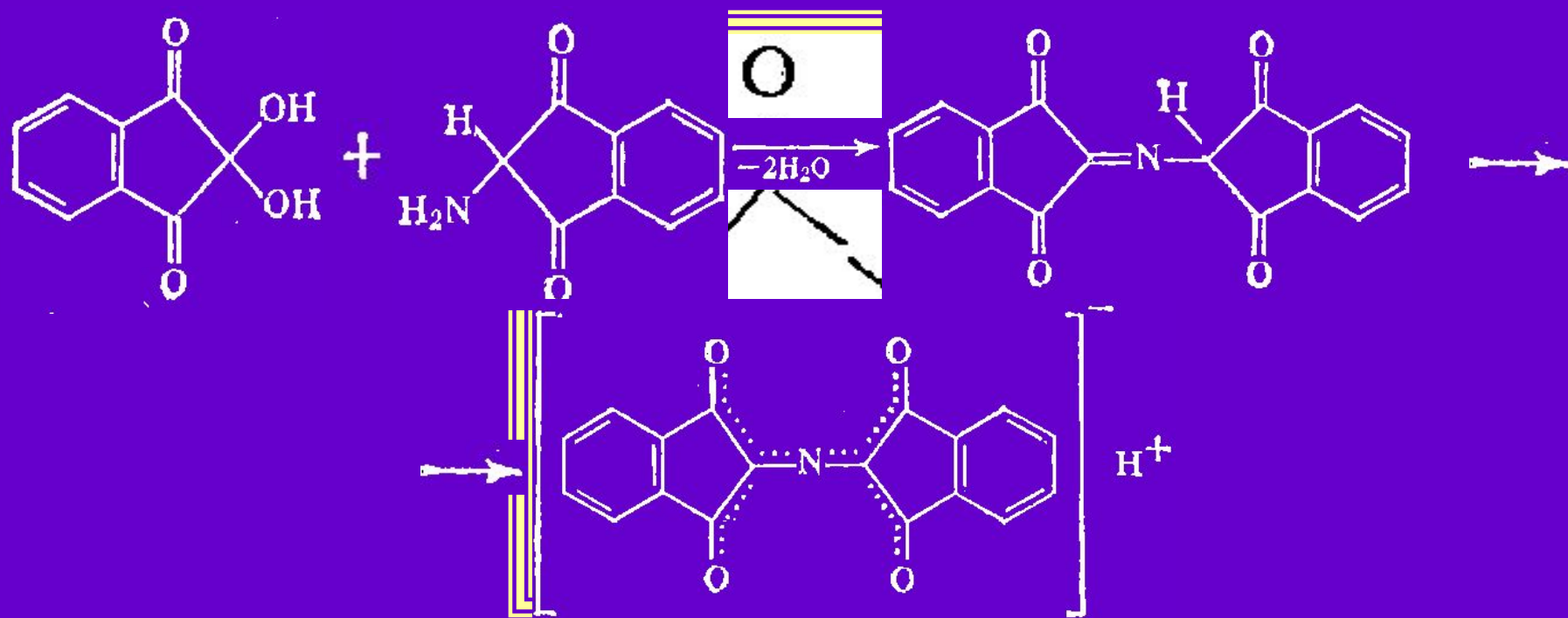


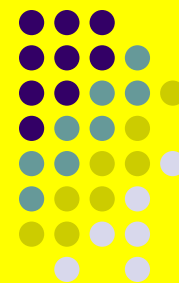
образуется 2-аминоиндандион



# Нингидриновая реакция

- 2-аминоиндандион реагирует с нингидрином и дает краситель.

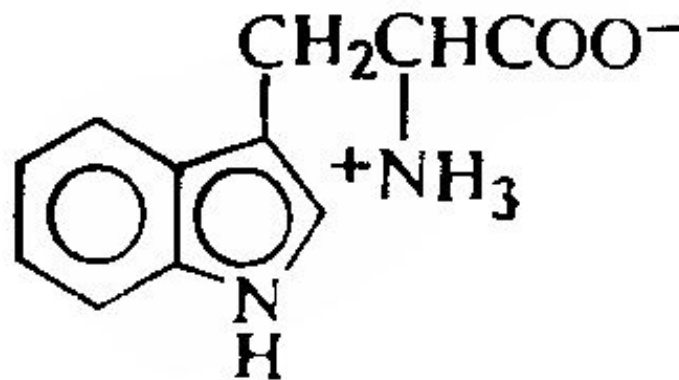




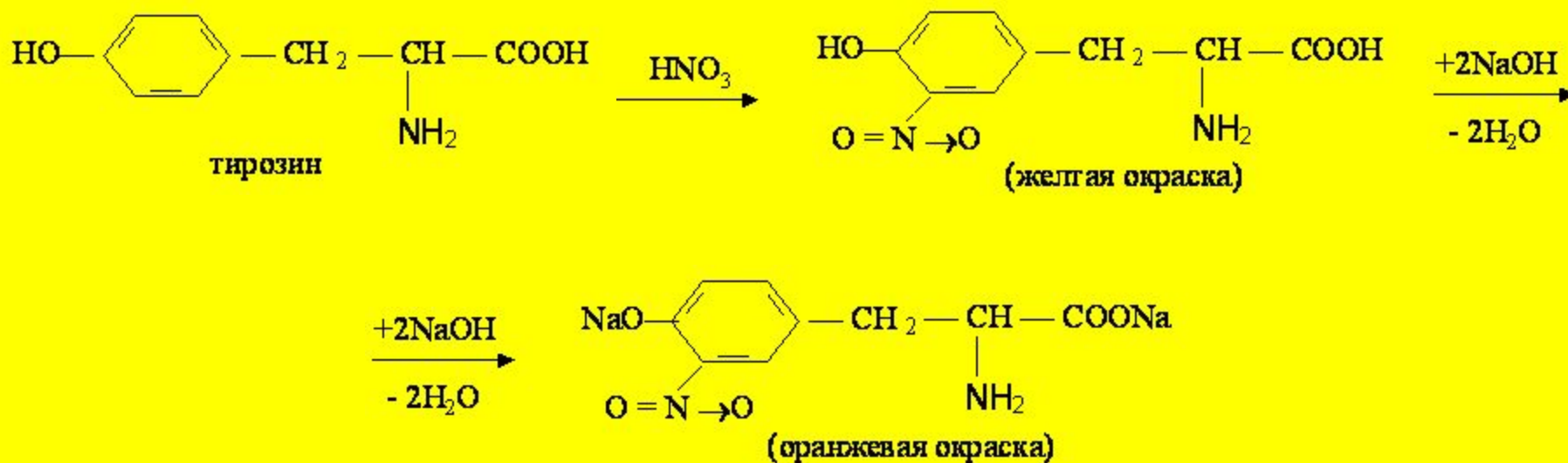
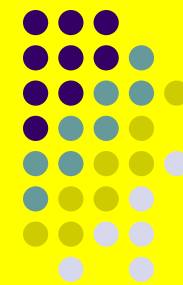
# Ксантопротеиновая реакция

Определяет присутствие в белке ароматических и гетероциклических  $\alpha$  - аминокислот :

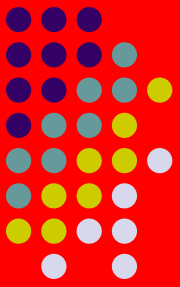
- триптофана,
- фенилаланина,
- тирозина,
- гистидина.



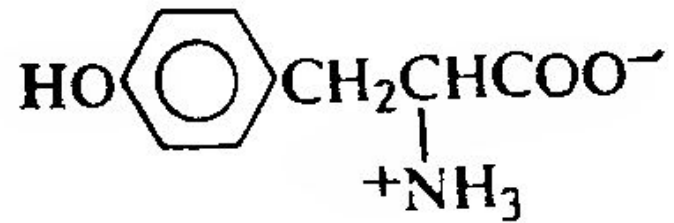
# Ксантопротеиновая реакция



# Реакция Миллона

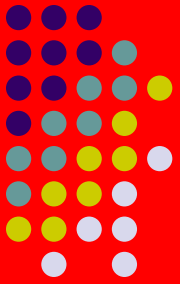


- Это реакция на аминокислоту тирозин

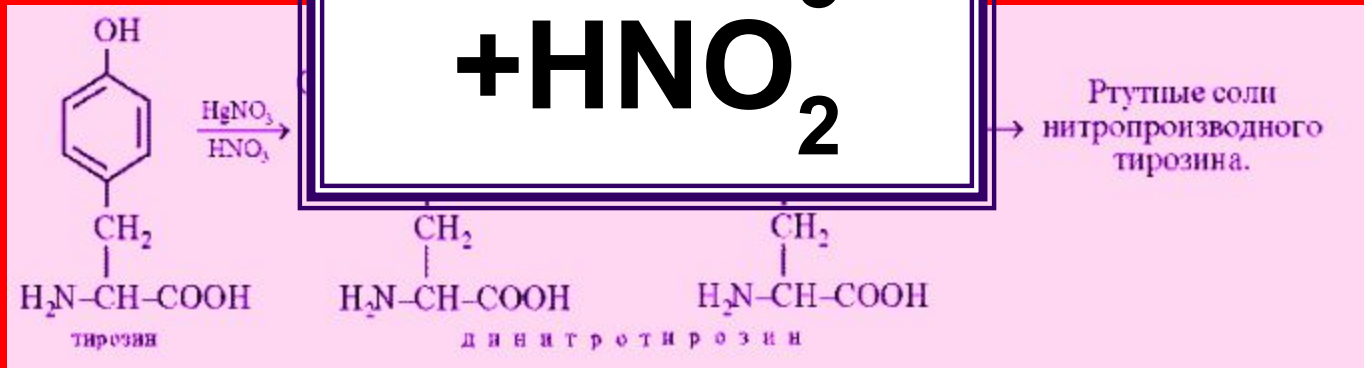
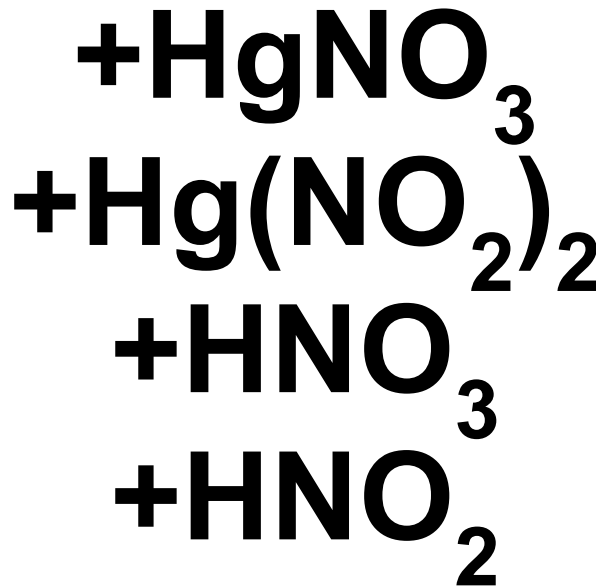




# Реакция Миллона



- Реактив Миллона (раствор  $\text{HgNO}_3$  и  $\text{Hg}(\text{NO}_2)_2$  в разбавленном  $\text{HNO}_2$ ) взаимодействует с аминокислотами с образованием нитропроизводных розовато-красной окраски. Реакция сопровождается образованием ртути примесью  $\text{Hg}$  в виде осадка. Окислительная способность  $\text{HNO}_2$  превращенной в  $\text{HNO}_3$ .



# Рекомендации к проведению опыта



- К 2 мл концентрированного раствора тирозина прибавляют ~1 мл реактива Миллона
- встряхивают
- осторожно нагревают пробирки на пламени спиртовки.

Образуется красное окрашивание.

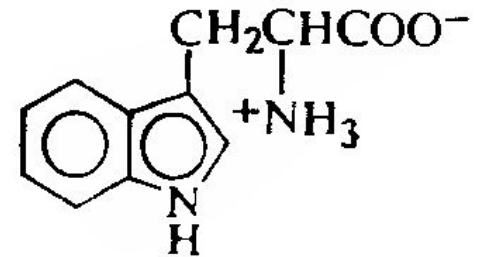




# Реакция Гопкинса–Коле



- Эта реакция определяет аминокислоту триптофан.

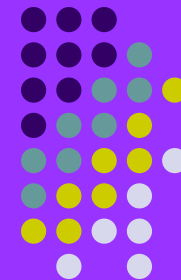




# Реакция Гопкинса–Коле

- Из глиоксиловой кислоты под действием концентрированной серной кислоты сначала получается формальдегид:



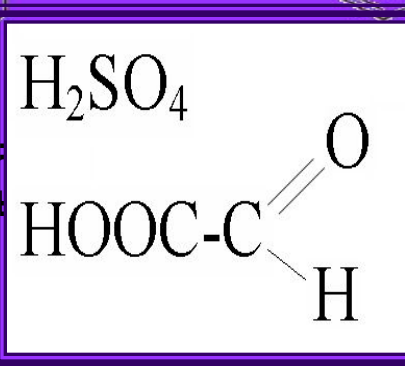


# Реакция Гопкинса–Коле

формальдегид затем конденсируется с триптофаном:



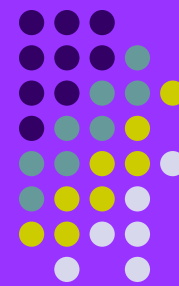
Продукт конденсации окисляется, который в присутствии минеральных солей окрашенные в сине-фиолетовый



триптофанкарбинола, образует соли,



# Рекомендации к проведению опыта

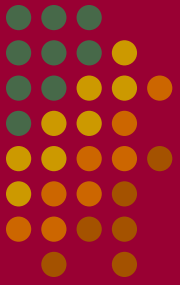


- Охладить до 0 °С насыщенного раствора щавелевой кислоты
- К 2 г порошка магния (слегка увлажненного) добавить щавелевую кислоту
- Полученный осадок оксалата магния отфильтровать и декантировать небольшим количеством воды.
- Фильтрат подкислить уксусной кислотой и довести до объема 200 мл (полученный раствор хранить в холодильнике!). Это и есть глиоксиловая кислота.
- 1 мл 0,005%-го раствора триптофана смешать с равным объемом глиоксиловой кислоты и к смеси прибавляют 10 капель раствора сульфата меди(II).
- Небольшими порциями добавляют 2–3 мл концентрированной серной кислоты, охлаждая пробирку после приливания очередной порции кислоты током холодной воды (или в ванночке со льдом).
- Полученную смесь оставляют на 10 мин при комнатной температуре, после чего ставят на 5 мин в кипящую водяную баню.

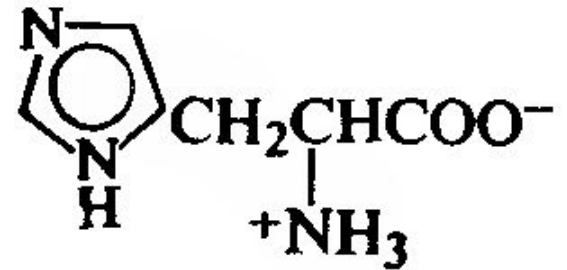
Наблюдается образование сине-фиолетового окрашивания



# Реакция Паули (Диазореакция Паули)



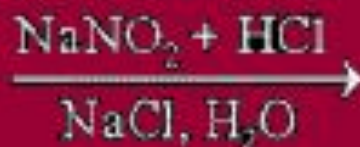
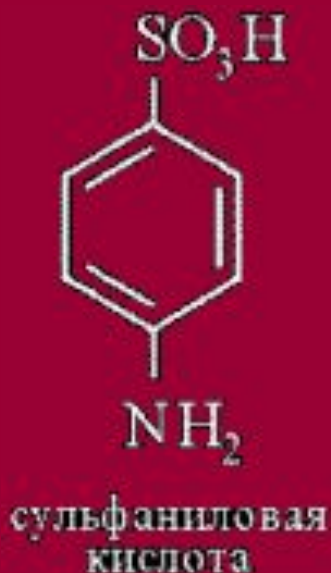
Эта реакция  
аминокислоту  
ГИСТИДИН.



# Реакция Паули (Диазореакция Паули)



- при взаимодействии кислого раствора сульфаниловой кислоты с нитритом натрия образуется диазобензолсульфоная кислота:

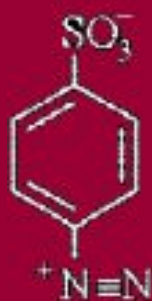




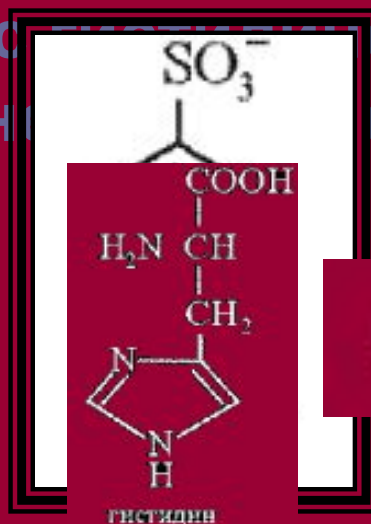
# Реакция Паули (Диазореакция Паули)



- Диазобензолсульфоновая кислота, взаимодействуя с гистидином, дает соединение вишневого цвета



+



+



# Рекомендации к проведению опыта



- В пробирку наливают 1 мл 1%-го раствора сульфаниловой кислоты в 5%-м растворе соляной кислоты.
  - Прибавляют 2 мл 0,5%-го раствора нитрита натрия
  - Сильно встряхивают
  - Немедленно приливают 2 мл 0,01%-го раствора гистидина
  - После перемешивания содержимого пробирки сразу приливают 6 мл 10%-го раствора соды.
- Появляется интенсивная вишнево-красная окраска.

