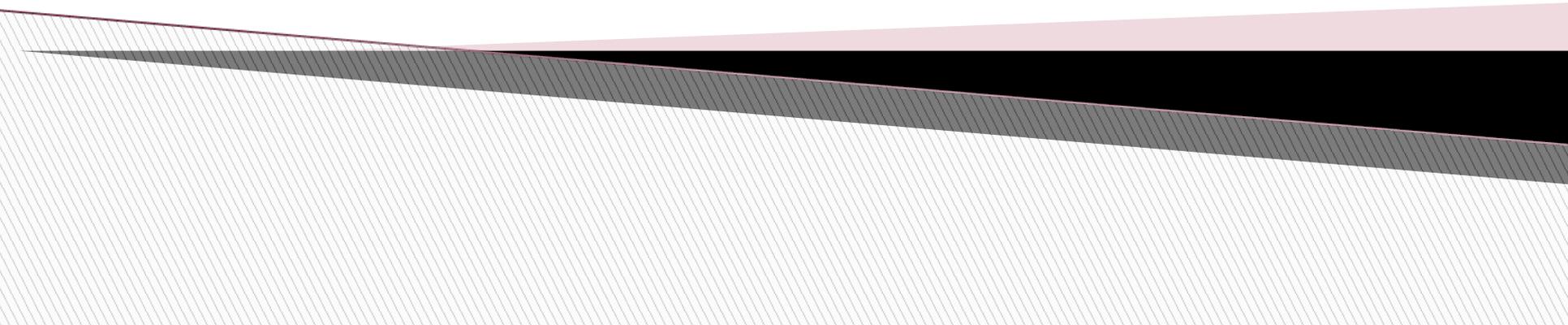


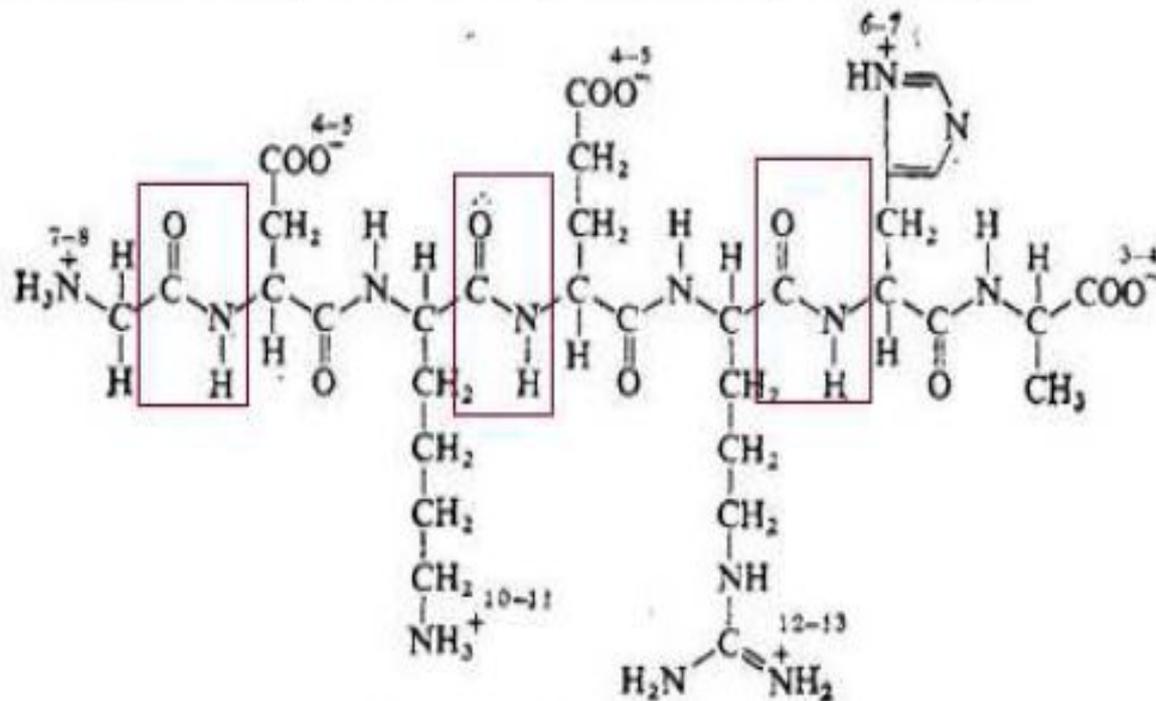
Химический состав клетки

**Практическая работа
№5**



1. Качественные реакции на белки

Присутствие белка в растворах можно обнаружить с помощью цветных реакций, обусловленных наличием в белке аминокислот, их специфических групп и пептидных связей. Существуют универсальные цветные реакции, т. е. на все белки (биуретовая и нингидриновая), и специфические, т. е. на определенные аминокислоты (ксантопротеиновая, Миллона, Фоля и др.).



Биуретовая реакция

Биуретовая реакция обусловлена наличием в белке пептидных связей, которые в щелочной среде образуют с сернокислой медью комплексы фиолетового цвета с красным или синим оттенком. Группа, образующая пептидную связь, в щелочной среде присутствует в своей таутомерной енольной форме:



При избытке щелочи происходит диссоциация OH-группы, появляется отрицательный заряд, с помощью которого кислород взаимодействует с медью. Возникает солеобразная связь. Кроме того, медь образует дополнительные координационные связи с атомами азота, участвующими в пептидной связи, путем использования их электронных пар. Возникающий таким образом комплекс очень стабилен. Интенсивность окраски комплекса зависит от концентрации белка и количества медной соли в растворе. Биуретовой реакцией обнаруживаются все без исключения белки, а также продукты их неполного гидролиза – пептоны и полипептиды. Для ди- и трипептидов биуретовая реакция ненадежна. Оттенок зависит от длины полипептидной цепочки. Биуретовая реакция положительна и с

Проведение опыта

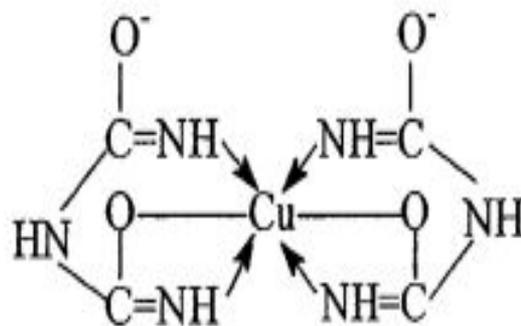
Исследуемый материал: раствор яичного белка, 1 %-ный раствор желатины.

Реактивы: 10 %-ный раствор NaOH, 1 %-ный раствор CuSO₄.

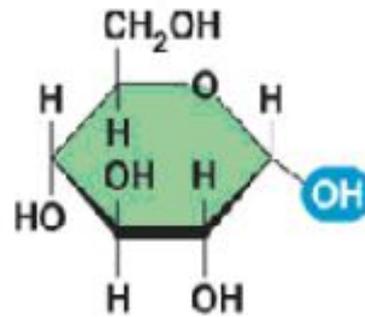
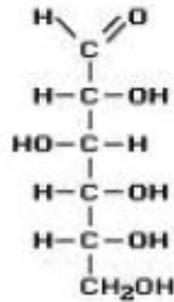
Оборудование: пробирки, капельницы.

Ход работы. К 5 каплям водного раствора белка добавляют 3 капли 10 %-ного раствора NaOH и 1 каплю 1 %-ного раствора CuSO₄. Содержимое перемешивают. Оно приобретает сине-фиолетовый цвет. Нельзя добавлять избыток CuSO₄, так как синий осадок маскирует характерное фиолетовое окрашивание биуретового комплекса.

Строение биуретового комплекса таково:



4. Реакция Фелинга на глюкозу



ГЛЮКОЗА ($C_6H_{12}O_6$)

Принцип метода. Простые сахара (или моносахариды), в состав которых входит альдегидная группа ((-HC=O), легко окисляются до карбоновых кислот соединениями меди (II) Видимый результат реакции - выпадение нерастворимого в воде осадка оксида меди (I) красного цвета.

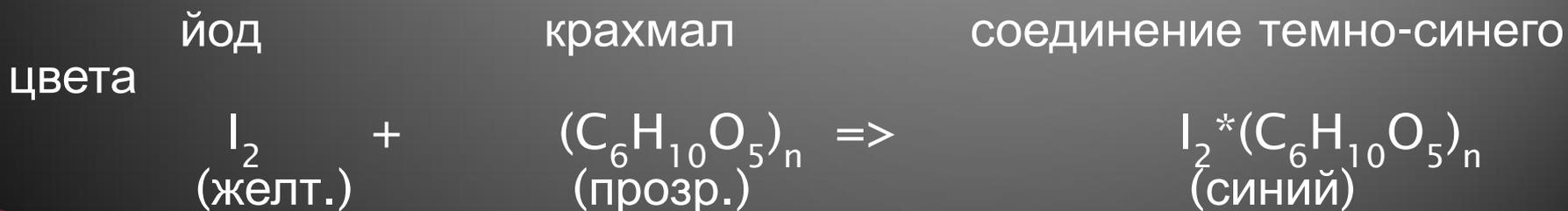
Проведение опыта

- Прильем к раствору глюкозы несколько капель раствора сульфата меди (II) и раствор щелочи. Осадка гидроксида меди не образуется. Раствор окрашивается в ярко-синий цвет. В данном случае глюкоза растворяет гидроксид меди (II) и ведет себя как многоатомный спирт. Нагреем раствор. Цвет раствора начинает изменяться. Сначала образуется желтый осадок CuOH , который с течением времени образует более крупные кристаллы Cu_2O красного цвета. Глюкоза при этом окисляется до глюконовой кислоты.



5. Взаимодействие йода с крахмалом

- При взаимодействии йода с крахмалом образуется *соединение включения (клатрат)*. Клатрат – это комплексное соединение, в котором частицы одного вещества («молекулы-гости») внедряются в кристаллическую структуру «молекул-хозяев». В роли «молекул-хозяев» выступают молекулы амилозы, а «гостями» являются молекулы йода. Попадая в спираль, молекулы йода испытывают сильное влияние со стороны своего окружения (ОН-групп), в результате чего увеличивается длина связи до 0,306 нм (в молекуле йода длина связи 0,267 нм). Данный процесс сопровождается изменением бурой окраски йода на сине-фиолетовую ($I_{\text{макс}}$ 620–680 нм).



Проведение опыта

- К разбавленному раствору крахмала добавляем немного раствора йода. Появляется синее окрашивание. Нагреваем синий раствор. Окраска постепенно исчезает, так как образующееся соединение неустойчиво. При охлаждении раствора окраска вновь появляется. Данная реакция иллюстрирует обратимость химических процессов и их зависимость от температуры.

6. Определение концентрации белка

- 1. Раствор желатина, концентрация 8 мг/мл;
- 2. 5 чистых пробирок для приготовления стандартного ряда;
- 3. 6% раствор NaOH;
- 4. 2,5% раствор CuSO₄;
- 5. Вода;
- 6. Пипетки на 1 – 2 мл;
- 7. Раствор белка неизвестной концентрации в пробирке, 2 мл.

Задание

- ▣ Вам предлагается определить концентрацию белка в растворе X. Для этого вы должны приготовить ряд стандартных разведений белка. Вам предоставлен раствор желатина известной концентрации, вода и чистые пробирки. Прежде чем готовить пробы, заполните таблицу.

Разведение белка

Концентрация желатина, мг/мл	0	2	4	6	8
Объем пробы, мл	2	2	2	2	2
Объем р-ра желатина, мл					
Объем воды, мл					

- После того как Вы приготовили ряд разведений, проведите со всеми пробами, а так же с пробой X биуретовую реакцию по схеме **(2 балла)**:
- *К пробе добавляют 2 мл гидроксида натрия и 1-2 капли сульфата меди. Тщательно перемешивают. Раствор, содержащий белок, окрашивается в фиолетовый цвет.*
- Сравните интенсивность окраски пробы X с окраской проб стандартного ряда. Определите концентрацию белка в пробе X.