

Практическое занятие
по основам биохимии с
методами клинико-
биохимических исследований

«ХИМИЯ БЕЛКОВ»

ЦВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ

Цветные реакции применяются для установления белковой природы вещества, идентификации белков и определения их аминокислотного состава в различных биологических жидкостях. В клинической лабораторной практике эти методы используются для определения количества белка в плазме крови, аминокислот в моче и крови, для выявления наследственных или приобретенных нарушений обмена веществ у новорожденных.

Реакция №1 «Биуретовая реакция на пептидную связь»

Принцип: в основе биуретовой реакции лежит способность пептидных связей (-CO-NH-) образовывать с сульфатом меди в щелочной среде окрашенные комплексные соединения, интенсивность окраски которых зависит от длины полипептидной цепи.

Раствор белка дает сине-фиолетовое окрашивание.

Реактивы:

- 1) яичный белок, 1% раствор (белок куриного яйца фильтруют через марлю и разводят дистиллированной водой 1:10);
- 2) гидроокись натрия, 10% раствор;
- 3) сульфат меди, 1% раствор.

В пробирку вносят 5 капель раствора яичного белка



Добавляют 3 капли гидроокиси натрия (NaOH 10%)



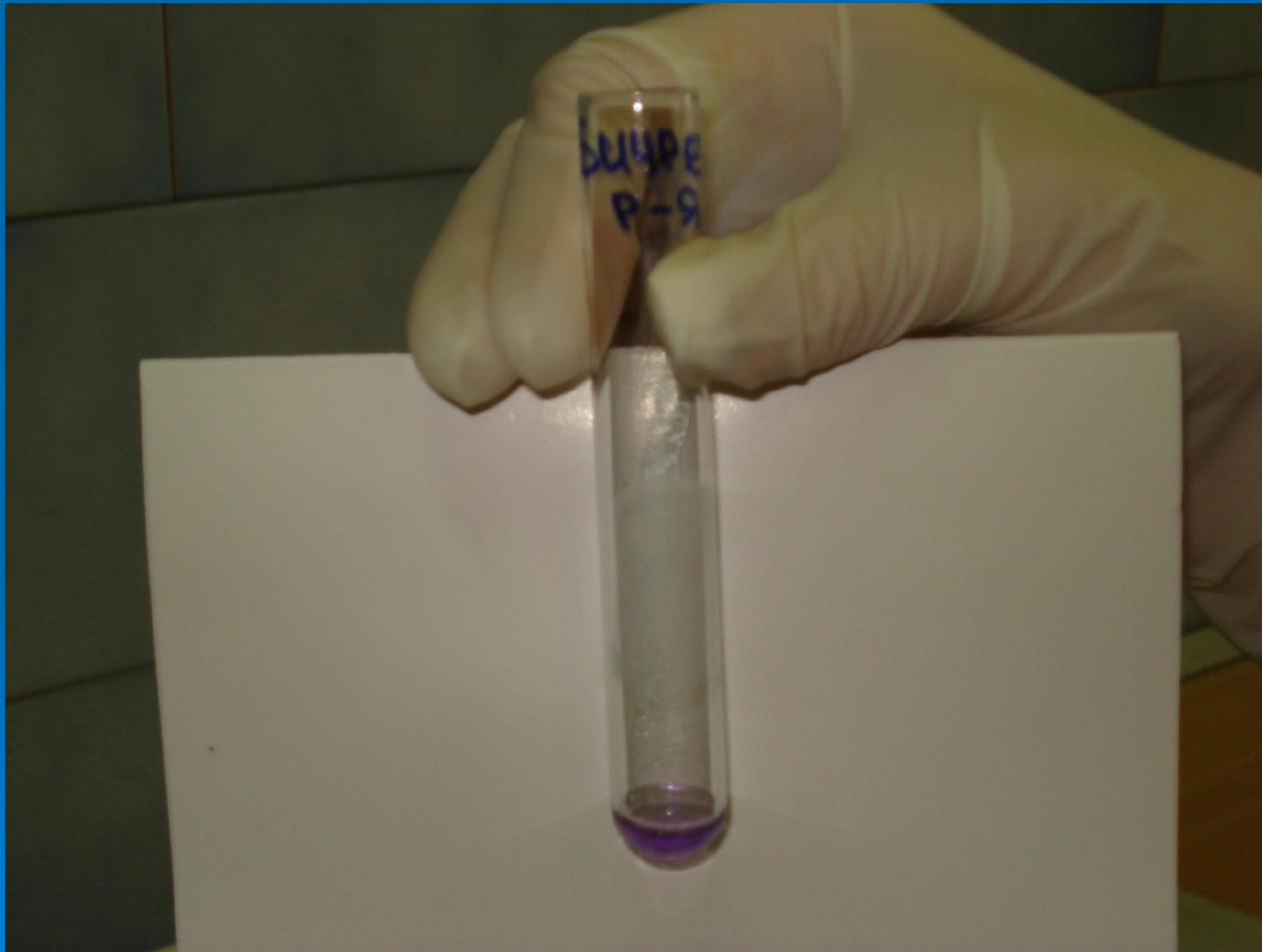
К содержимому в пробирке добавляют
1 каплю сульфата меди (CuSO_4 1%)



Содержимое пробирки перемешивают



В результате содержимое пробирки приобретает
сине-фиолетовое окрашивание



Реакция №2

«Нингидриновая реакция»

Принцип: сущность реакции состоит в образовании соединения, окрашенного в сине-фиолетовый цвет, состоящего из нингидрина и продуктов гидролиза аминокислот.

Эта реакция характерна для аминокрупп в α -положении, которые присутствуют в природных аминокислотах и белках.

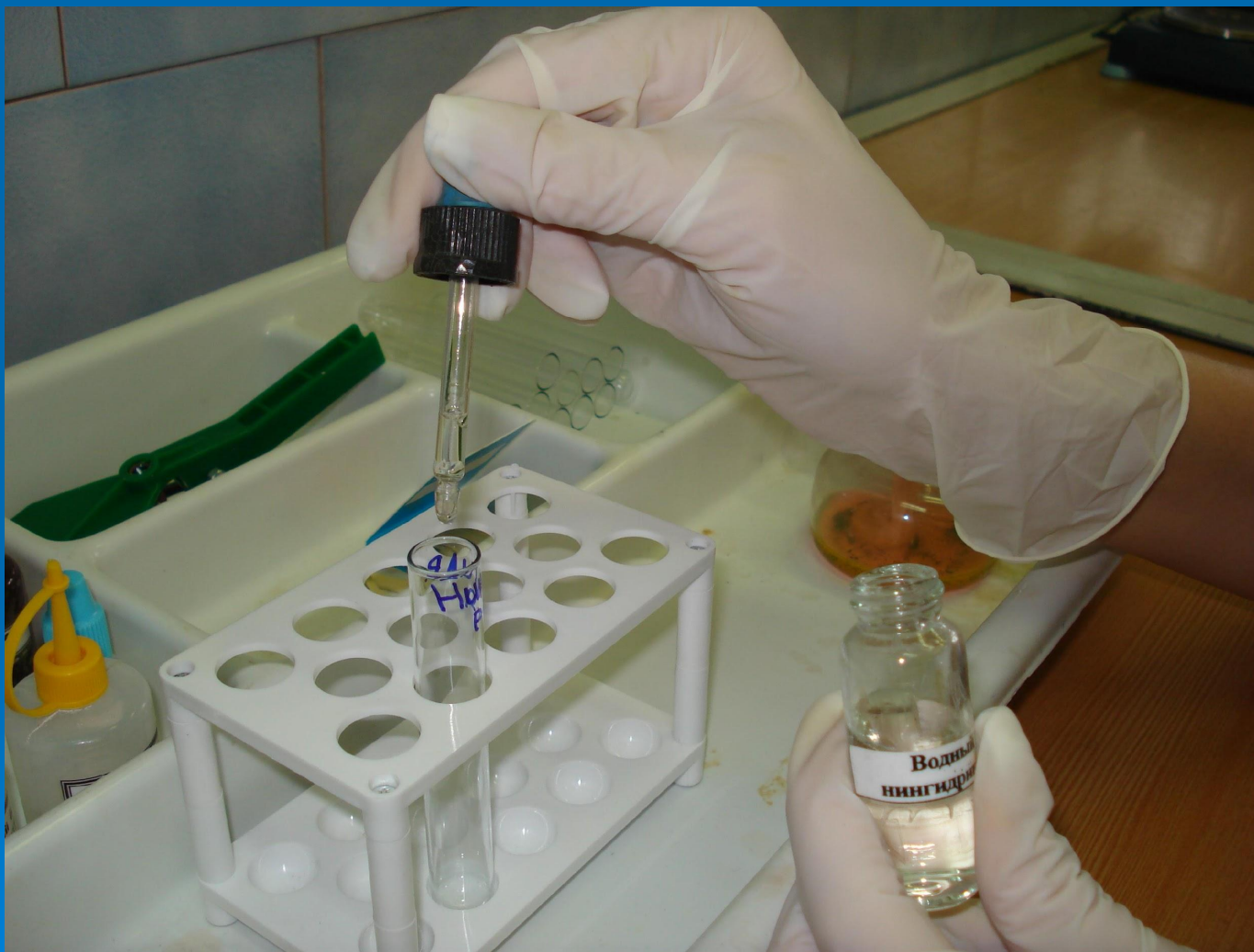
Реактивы:

- 1) яичный белок, 1% раствор (белок куриного яйца фильтруют через марлю и разводят дистиллированной водой 1:10);
- 2) нингидрин, 0,5% водный раствор.

В пробирку вносят 5 капель раствора яичного белка



Добавляют 5 капель раствора нингидрина



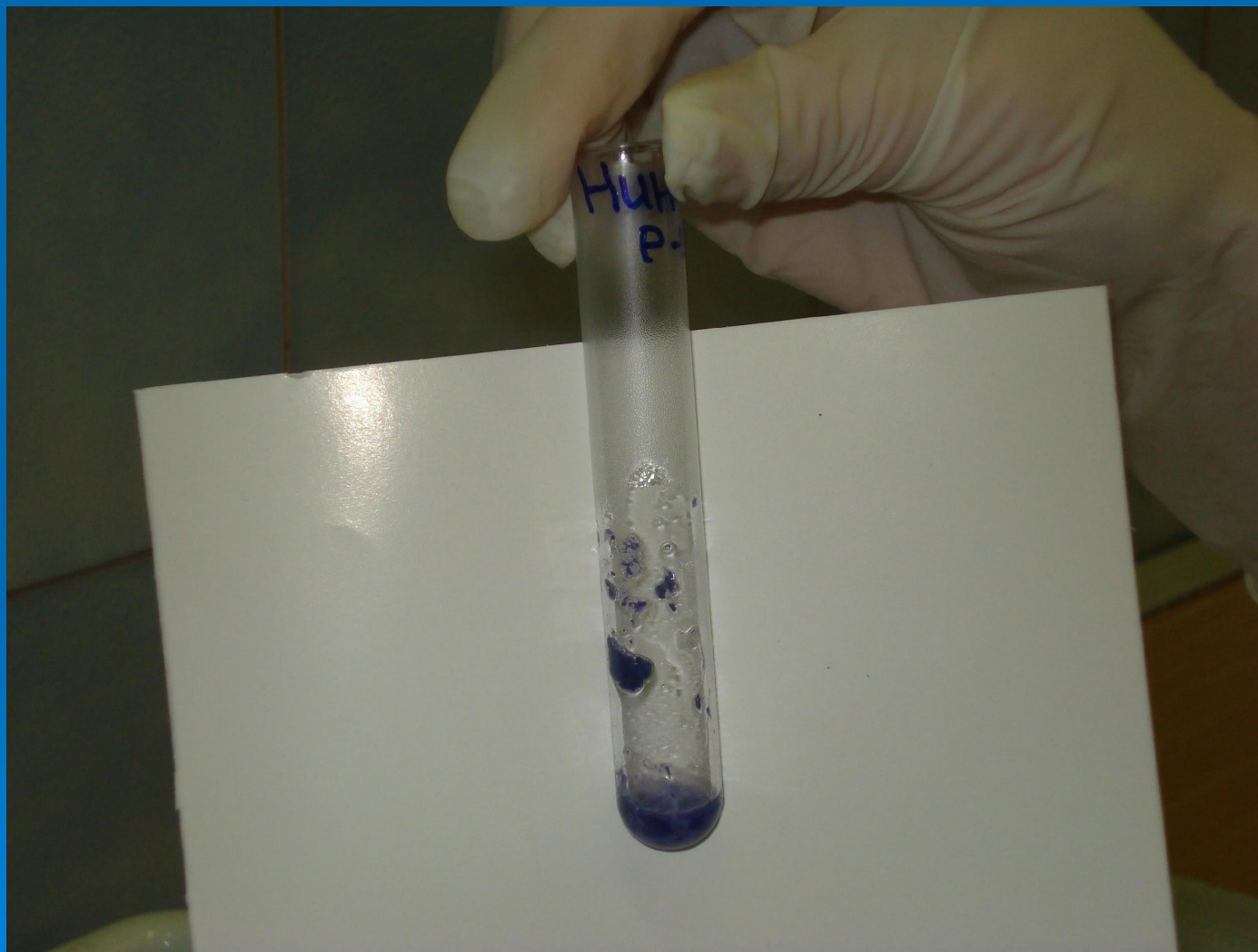
Содержимое пробирки перемешивают



Содержимое пробирки нагревают до кипения



Развивается розово-фиолетовое окрашивание, переходящее с течением времени в сине-фиолетовое.



Реакция №3

«Ксантопротеиновая реакция»

Принцип: при добавлении к раствору белка концентрированной азотной кислоты и нагревании появляется желтое окрашивание, которое в присутствии щелочи переходит в оранжевое. Сущность реакции заключается в нитровании бензольного кольца циклических аминокислот азотной кислотой с образованием нитросоединений, выпадающих в осадок.

Реакция выявляет наличие в белке циклических аминокислот (фенилаланин, тирозин, триптофан).

Реактивы:

- 1) яичный белок, 1% раствор (белок куриного яйца фильтруют через марлю и разводят дистиллированной водой 1:10);
- 2) концентрированная азотная кислота;
- 3) гидроокись натрия, 10% раствор.

В пробирку вносят 5 капель раствора яичного белка



К содержимому пробирки добавляют 3 капли
концентрированной азотной кислоты (HNO_3)



Содержимое пробирки перемешивают



Содержимое пробирки осторожно

нагревают до кипения



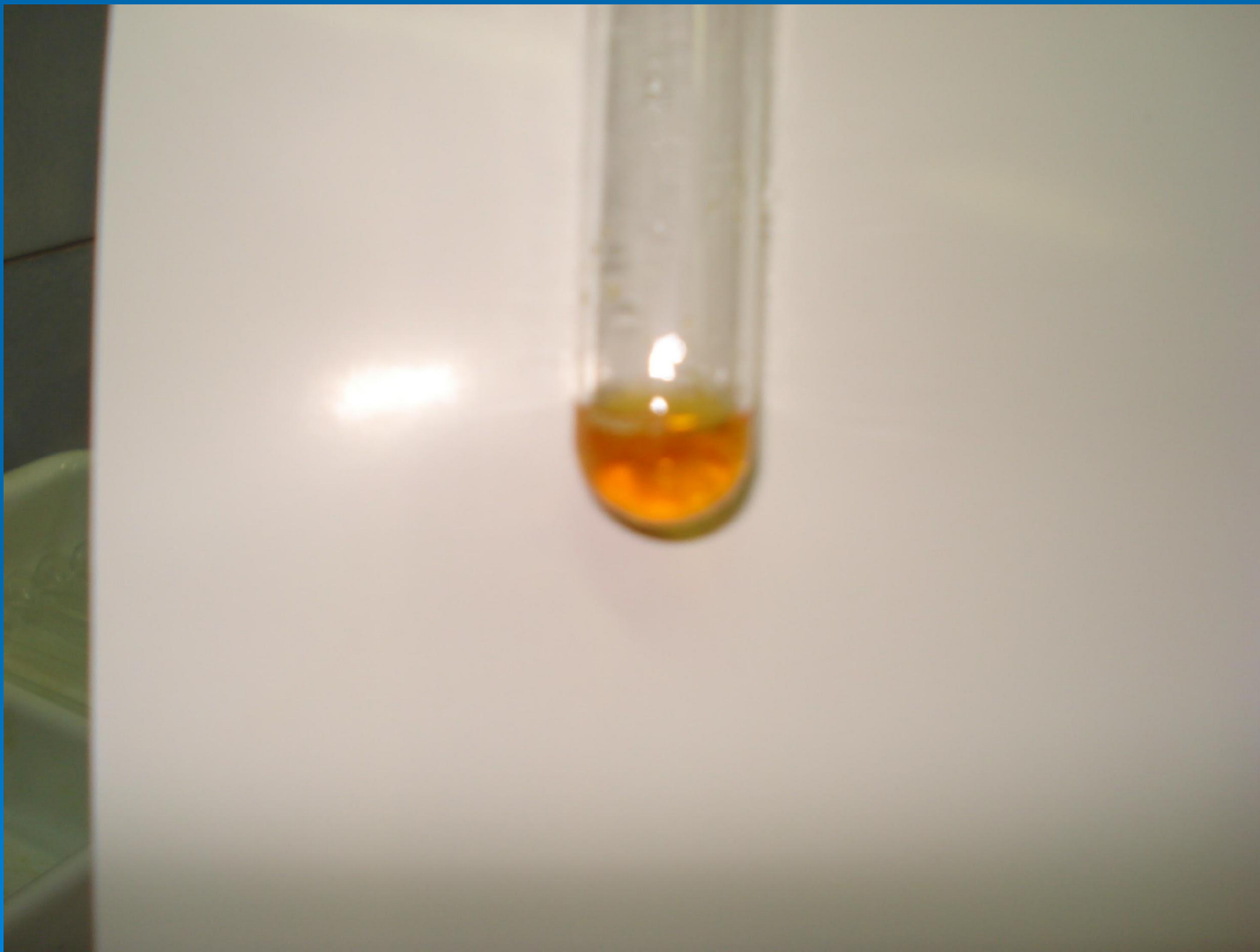
Появляется осадок желтого цвета



После охлаждения пробирки под струей воды,
добавляют (желательно на осадок) 10 капель раствора
гидроокиси натрия



Появляется оранжевое окрашивание.



Реакция №4

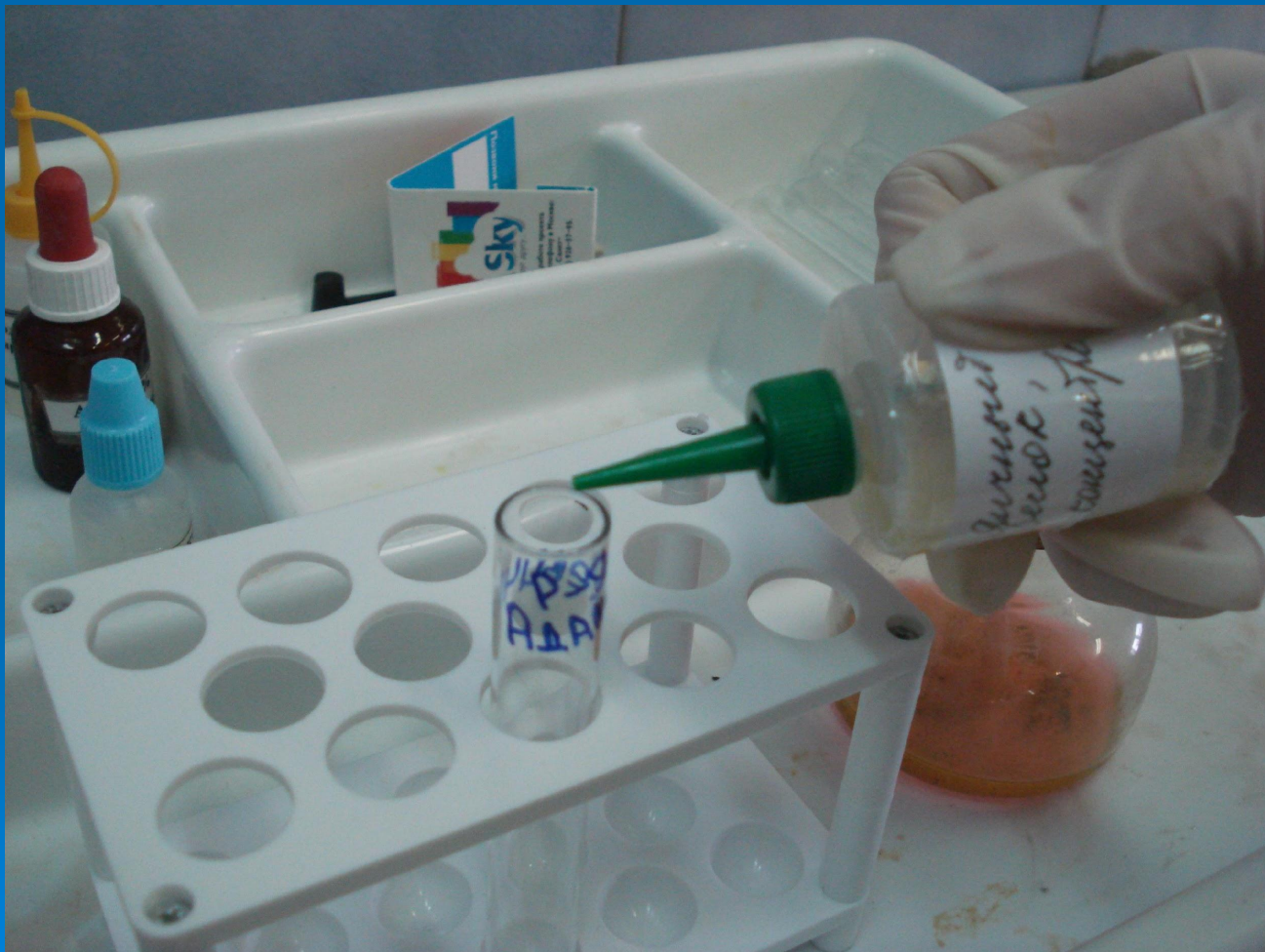
«Реакция Адамкевича»

Принцип: аминокислота триптофан в кислой среде, взаимодействуя с альдегидами кислот, образует продукты конденсации красно-фиолетового цвета.

Реактивы:

- 1) неразбавленный яичный белок;
- 2) концентрированная (ледяная) уксусная кислота;
- 3) концентрированная серная кислота.

В пробирку вносят 1 каплю
яичного белка (неразбавленного)



Добавляют 10 капель уксусной кислоты (CH_3COOH)



Наклонив пробирку, осторожно по стенке добавляют каплями около 0, 5мл серной кислоты (H_2SO_4) так, чтобы жидкости не смешивались.



При стоянии пробирки на границе жидкостей
появляется красно-фиолетовое кольцо.



Реакция №5

«Реакция Фоля»

Принцип: аминокислоты, содержащие сульфгидрильные группы – SH, подвергаются щелочному гидролизу с образованием сульфида натрия Na_2S . Последний, взаимодействуя с плюмбитом натрия (образуется в ходе реакции между ацетатом свинца и гидроксидом натрия), образует осадок сульфида свинца PbS черного или бурого цвета.

Реактивы:

- 1) неразбавленный яичный белок;
- 2) реактив Фоля (к 5% раствору ацетата свинца прибавляют равный объем 30% раствора гидроокиси натрия до растворения образовавшегося осадка).

В пробирку вносят 5 капель раствора яичного белка



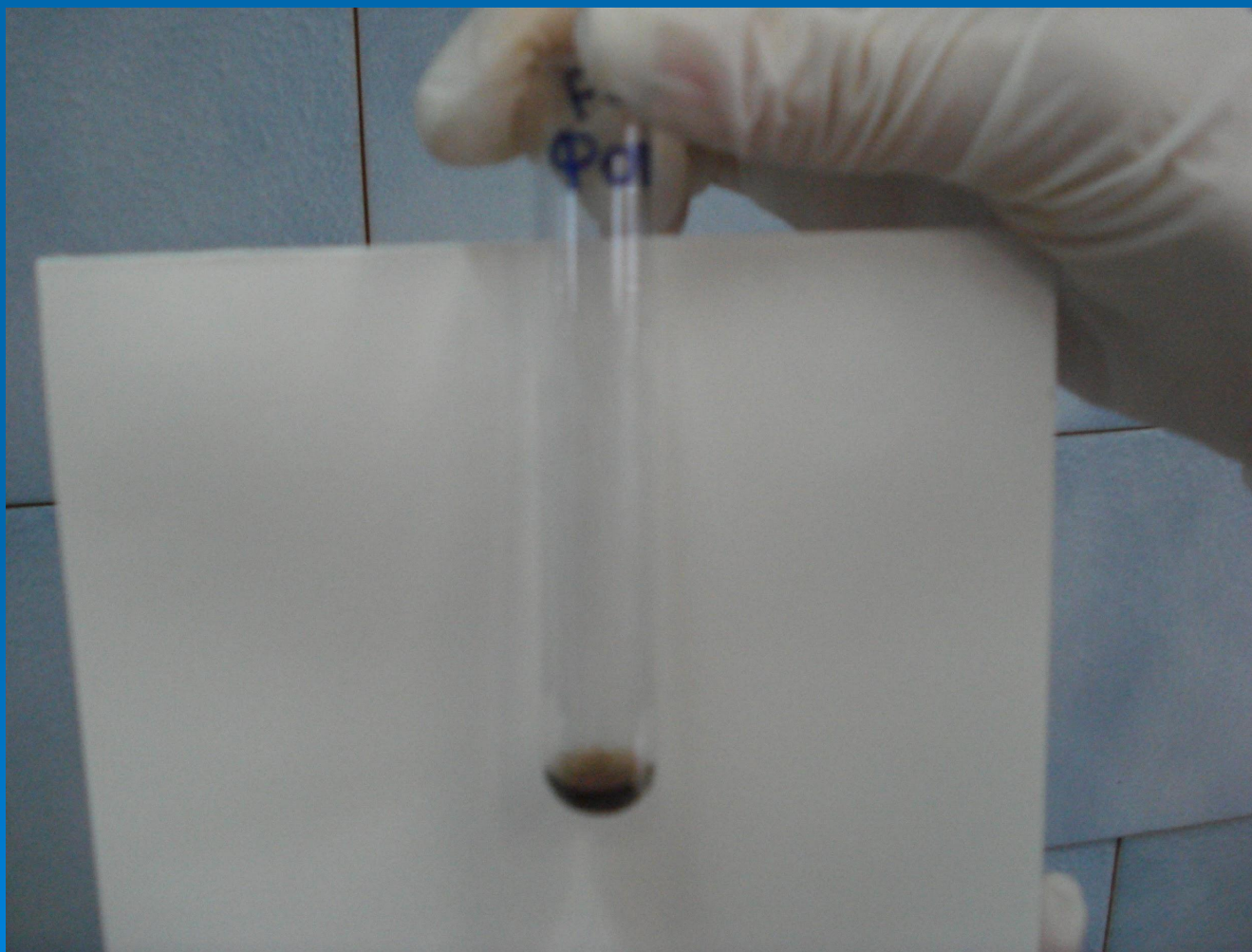
Добавляют 5 капель реактива Фолья



Пробирку ставят на водяную баню и кипятят 2-3 минуты



После отстаивания 1-2 минуты появляется
черный или бурый осадок.



Надеемся, что наша
инструкция поможет вам не
сделать ошибок в
практической работе.

Желаем удачи!

Составитель: Кузнецова Т.Н. –
преподаватель дисциплины
«Основы биохимии с методами
клинико-биохимических
исследований»

Москва
2007 год