

Лабораторне заняття №7

КОЛЬОРОВІ РЕАКЦІЇ АМІНОКИСЛОТ ТА БІЛКІВ.

При вивченні теми необхідно знати класифікацію, будову та властивості амінокислот. Утворення пептидного зв'язку.

Білки - найважливіша складова частина клітин і тканин кожного живого організму. Вони виконують в організмі численні функції: служать пластичним матеріалом клітин, транспортують речовини, необхідні для процесів життєдіяльності (напр.: гемоглобін транспортує кисень), каталізують всі реакції обміну речовин (ферменти), виконують захисну функцію (антитіла, антигени, фактори зсідання крові) та ін.

Білки поділяють на дві великі групи: прості білки (протеїни) та складні білки (протеїди). Простими називають білки, які при гідролізі (кислотному, лужному, ферментативному) розпадаються тільки на амінокислоти. Складні білки побудовані з простих білків і небілкових компонентів (простетичних груп), якими можуть бути нуклеїнові кислоти, Г Е М і його похідні, вуглеводи, ліпіди та ін.

Наявність білків можна відкрити за допомогою цілого ряду кольорових реакцій, які властиві складовим частинам білка - амінокислотам або угрупованням, утвореним ними. Так, поліпептиди та білки дають біуретову реакцію, характерну для пептидного (кисотно-амідного) зв'язку, який є основним зв'язком білкової молекули. Всі амінокислоти, пептиди та білки дають реакцію з нінгідрином.

Деякі амінокислоти (тирозин, триптофан, фенілаланін, цистин, аргінін, гістидин) та їх залишки дають кольорові реакції, характерні для цих амінокислот.

Контрольні запитання.

1. Що таке білки? їх біологічна роль.
2. Амінокислоти - структурна одиниця білків.
3. Класифікація амінокислот. їх будова та властивості.
4. Замінні та незамінні амінокислоти.
5. Пептидний зв'язок та його утворення.
6. Структура та класифікація білків.
7. Коротка характеристика простих і складних білків.

Завдання для самостійної підготовки:

1. Перелічіть основні функції білків.
2. Відмінність білків від жирів і вуглеводів (за елементарним складом)
3. Сірковмісні амінокислоти. Навести приклади.
4. Циклічні амінокислоти. Навести приклади.
5. Чому за допомогою біуретової реакції не можна виявити вільні амінокислоти?

б. Напишіть рівняння реакції утворення дипептиду.

Рекомендована література:

1. Биохимия. Учебник для институтов физической культуры под общей редакцией В.В.Меньшикова. М., ФиС, 1986. Стр. 65 - 83
2. Биохимия. Учебник для институтов физической культуры под редакцией Н.Н.Яковлева. М., ФиС, 1974. Стр. 47 - 52.
3. Ф.Ф.Боечко. "Біологічна хімія". Посібник для студентів педагогічних інститутів. Київ, "Вища школа", 1989. С. 6-24.
4. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. Учебник для студентов медицинских институтов. М., Медицина, 1983. С. 29 - 41.
5. Ленинджер А. Биохимия. N4., Мир, 1974. С. 77 - 150
6. Яковлев Н.Н., Орещенко Н.И., Чаговец Н.Р. Руководство к практическим занятиям по общей биохимии и биохимии спорта. М., ФиС, 1973. С.18 - 23.

Наочні посібники:

Таблиці:

Класифікація білків.

1. Класифікація амінокислот.
2. Замінні та незамінні амінокислоти.
3. Молекулярні маси деяких білків.

Матеріали дослідження та реактиви:

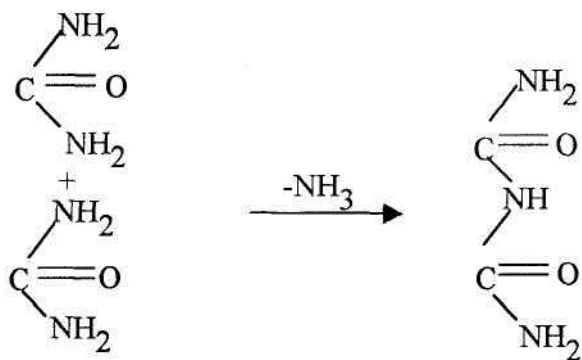
1. Білок яєчний нерозведений і 1% розчин білка.
2. Гідроксид натрію, 10% і 30% розчини.
3. Мідь сірчанооксида, 1% розчин.
4. Азотна кислота концентрована.
5. Желатин, 1% розчин.
6. Оцтова кислота льодяна.
7. Сірчана кислота концентрована.
8. Свинець оцтовокислий, 5% розчин.

Обладнання: 1. Пробірки звичайні.

ХІД РОБОТИ.

1. Біуретова реакція.

У лужному середовищі в присутності солей міді білки дають червоно-фіолетове або синьо-фіолетове забарвлення. Реакція зумовлена присутністю в білку пептидних зв'язків,



які утворюють з іонами міді солеподібні комплексні сполуки. Інтенсивність забарвлення залежить від кількості пептидних зв'язків.

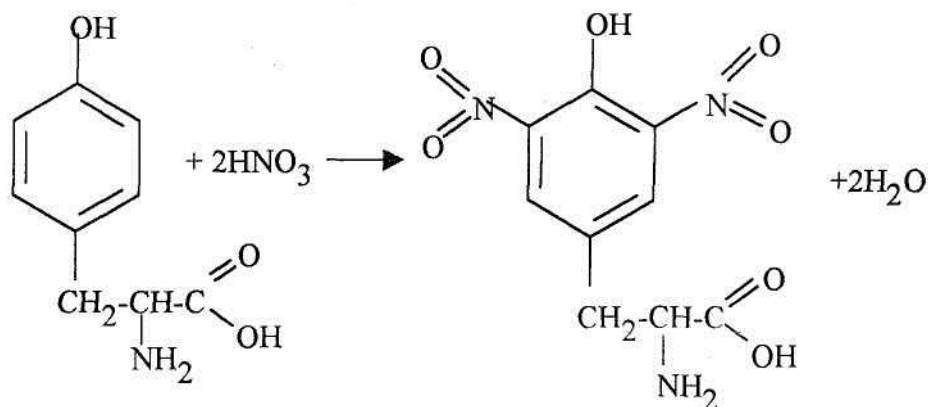
Свою назву біуретова реакція одержала від похідного сечовини - біурету, який також дає реакцію.

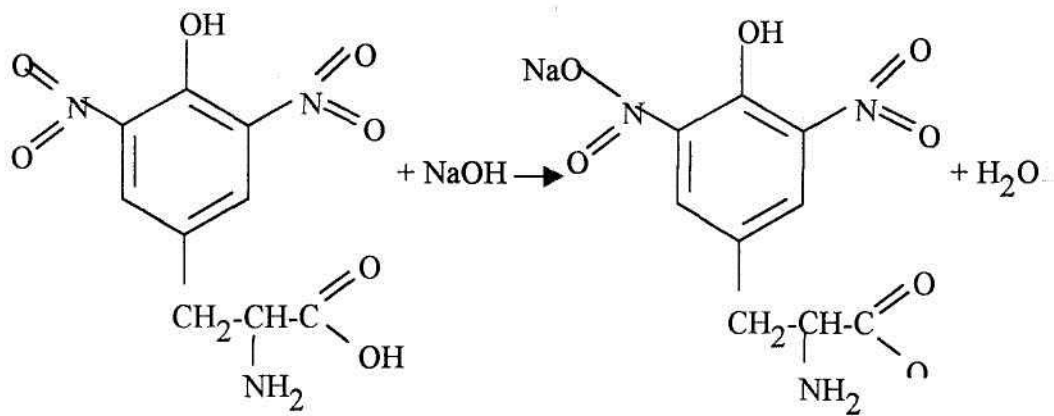
У пробірку наливають 5-6 крапель 1% розчину яєчного білка, рівний об'єм 10% розчину гідроксиду натрію і 1 краплю 1% розчину сірчанокислої міді. Перемішують і спостерігають появу фіалкового забарвлення, що засвідчує про присутність у білковій молекулі пептидних зв'язків.

2. Ксантопротеїнова реакція.

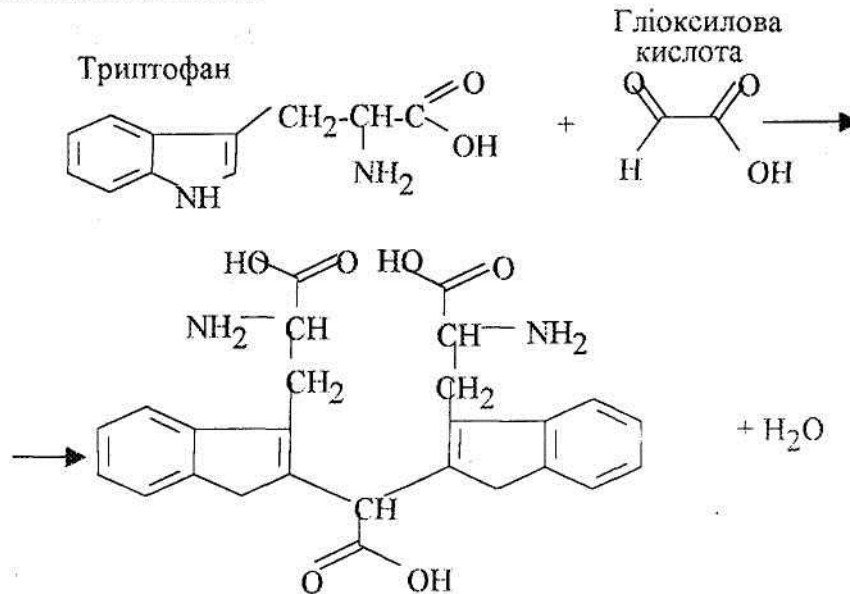
При додаванні до розчину білка концентрованої азотної кислоти білок спочатку випадає в осад, а потім при нагріванні розчиняється і рідина забарвлюється у жовтий колір. Ця реакція підтверджує присутність у білку ароматичних амінокислот (фенілаланіну, тирозину, триптофану) і базується на утворенні нітропохідних цих амінокислот.

У пробірку наливають 5-6 крапель 1% розчину яєчного білка і 2-3 краплі концентрованої азотної кислоти. Обережно! Нагрівають і спостерігають появу жовтого забарвлення. Після охолодження у пробірку додають 10 крапель 30% розчину їдкого натру (NaOH). Жовте забарвлення переходить в оранжеве внаслідок нітрування залишків ароматичних амінокислот білкової молекули з утворенням полінітросполук.





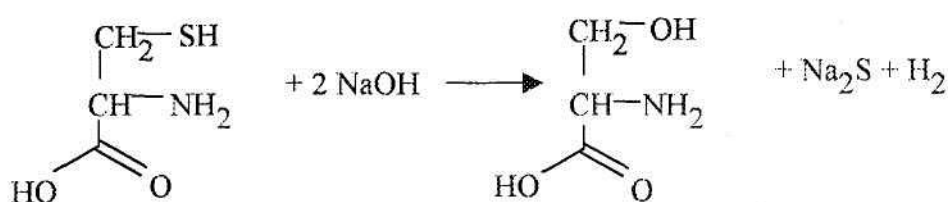
3. Реакція Адамкевича.



Продукт конденсації триптофану з гліоксиловою кислотою

При додаванні до розчину білка незначної кількості гліоксилової кислоти у присутності міцної сірчаної кислоти утворюється червоно-фіолетове забарвлення. Ця реакція зв'язана з присутністю у молекулі білка амінокислоти триптофану і базується на здатності триптофану в кислому середовищі вступати у реакцію з альдегідами, утворюючи при цьому забарвлені продукти конденсації. 4. Реакція Фоля,

При додаванні до розчину білка міцного лугу, оцтовокислого свинцю і з наступним кип'ятінням, розчин починає темніти. Реакція зумовлена присутністю у білку сірковмісних амінокислот: цистину, цистеїну і метіоніну. Ці амінокислоти при нагріванні у присутності міцного лугу руйнуються, утворюючи сірчистий нагрій.

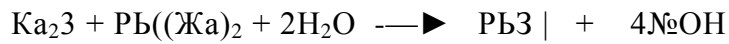


Цистеїн

Серин

Оцтовокислий свинець реагує з лугом, утворюючи плюмбіт натрію: $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb} + 2\text{KOH} \rightarrow \text{Pb}(\text{Ша})_2 + 2\text{CH}_3\text{COOH}$

Сірчистий натрій при взаємодії з плюмбітом утворює чорний осад сірчистого свинцю:



Чорний осад

У дві пробірки наливають: у 1-у - 5 крапель 1% розчину яєчного білка і у 2-у - 5 крапель 1% розчину желатину. В обидві пробірки додають по 5 крапель 30% розчину N30.11 і по 1 краплі 5% розчину оцтовокислого свинцю. Після нагрівання розчин з яєчним білком темніє, у пробірці з розчином желатину забарвлення не з'являється. Чому?