

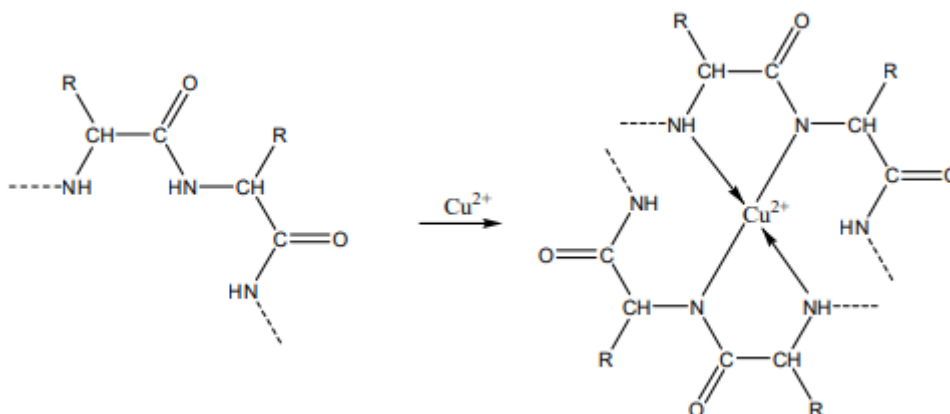
Skład aminokwasy białek

Reakcja biuretowa Piotrowskiego (na wiązanie peptydowe)

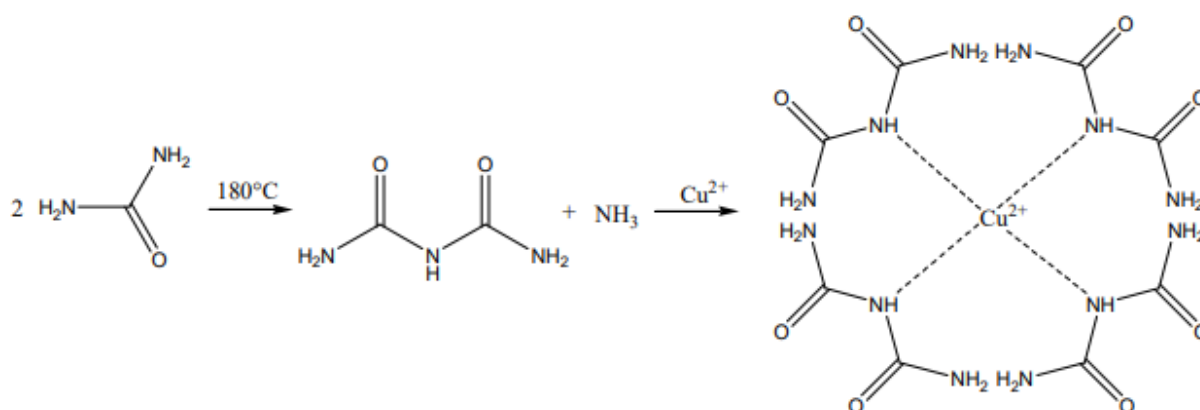
Jest to jedna z najczęściej wykonywanych reakcji w analizie białek, pozwalająca na wykrycie białka i na jego oznaczenie ilościowe. Powyższą reakcję dają wszystkie połączenia, zawierające w cząsteczce co najmniej 2 grupy $-\text{CO}-\text{NH}-$, połączone ze sobą: bezpośrednio (w dwuamidzie kwasu szczawowego $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{CO}-\text{NH}_2$, przez azot (w biurecie) lub przez atom węgla (w dwuamidzie kwasu malonowego, bursztynowego czy w produktach hydrolizy białek).

Dodatniego odczynu w reakcji biuretowej nie dają wolne aminokwasy i dwupeptydy.

W wyniku utworzenia koordynacyjnego połączenia miedzi z 2 przyległymi wiązaniami $-\text{CO}-\text{NH}-$, powstaje barwny produkt soli kompleksowej.



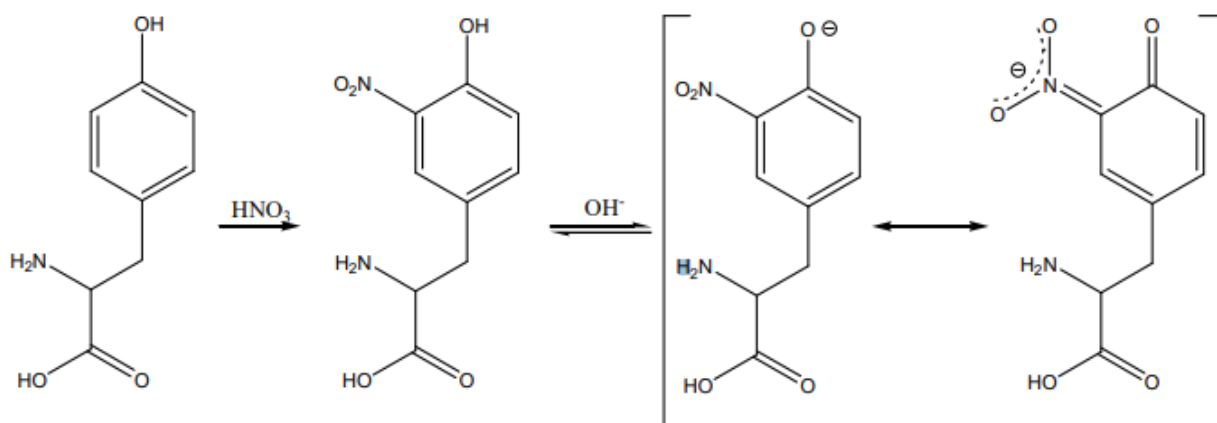
Nazwa próby pochodzi od biuretu, związku powstającego przy ogrzewaniu mocznika do 180°C . Jest to zarazem jeden z najprostszych związków dających pozytywny wynik tej próby.



Próba biuretowa jest też ważną metodą ilościowego oznaczania białek. W tym przypadku wykorzystuje się liniową zależność zmiany barwy od stężenia protein, a ściślej biorąc od liczby podwójnych wiązań peptydowych, którą ustala się za pomocą kolorymetrii, w odniesieniu do odpowiedniej krzywej wzorcowej.

Próba ksantoproteinowa

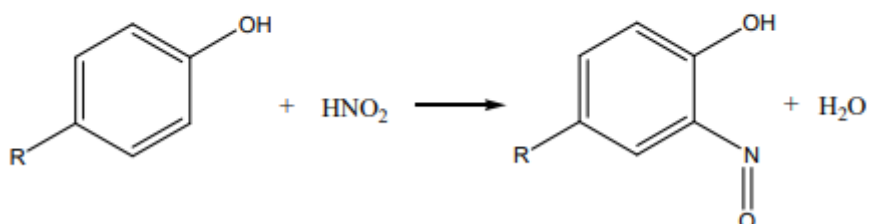
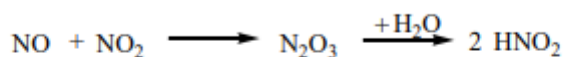
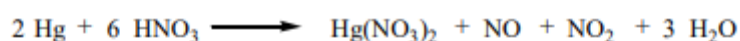
Dodatni odczyn ksantoproteinowy dają aminokwasy aromatyczne: tyrozyna, tryptofan, fenyloalanina oraz białka zawierające te aminokwasy. Związki te ulegają reakcji nitrowania w czasie ogrzewania ze stężonym roztworem HNO_3 , dając żółto zabarwione nitrowe pochodne (fenyloalanina wymaga do nitrowania dodatku H_2SO_4 . Po zalkalizowaniu powstałe nitrozwiązki przyjmują zabarwienie pomarańczowe:

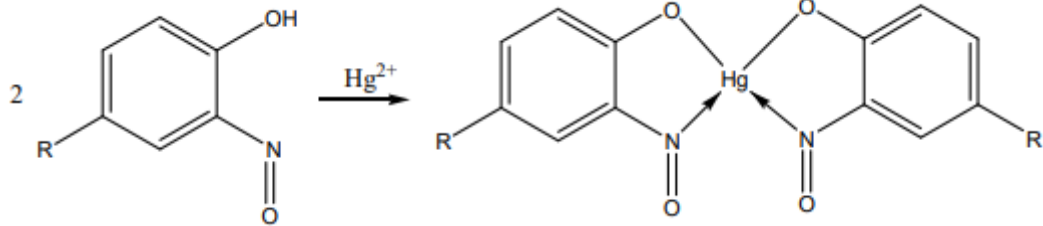


Rys. 1. Próba ksantoproteinowa jest przykładem sposobu odróżnienia związków aromatycznych od niearomatycznych. Daje pozytywny wynik ze wszystkimi związkami zawierającymi pierścień aromatyczny (w przypadku obecności tylko jednego podstawnika w pierścieniu lub jego braku, niezbędny jest dodatek kwasu siarkowego (VI) do mieszaniny nitrującej).

Próba Millona

Próba Millona służy do wykrywania tyrozyny oraz białek zawierających tyrozinę. Tyrozyna ulega pod wpływem odczynnika Millona nitrowaniu w pozycji orto pierścienia aromatycznego. Powstała pochodna –o-nitrozopochodna– tworzy barwny kompleks z jonami miedzi Hg^{2+} .

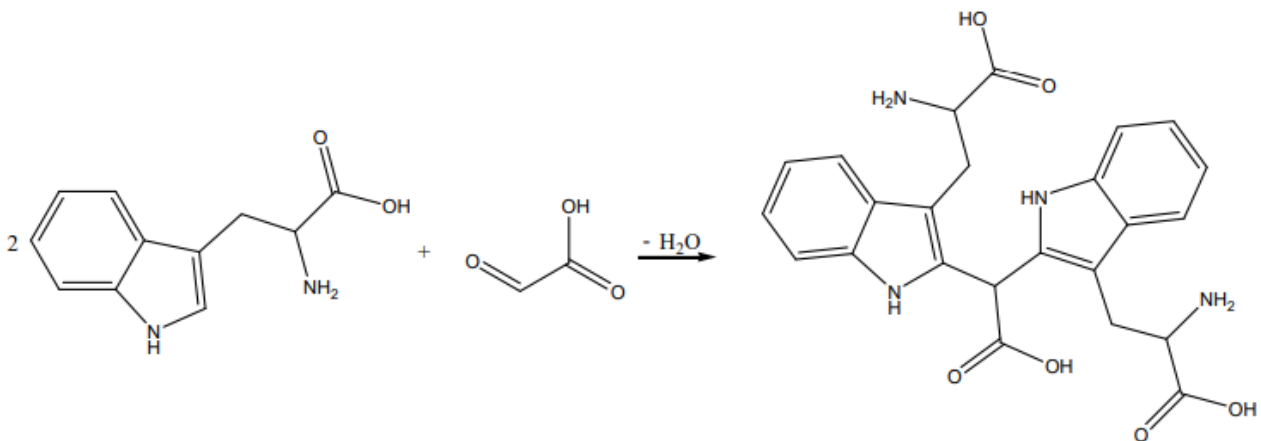




Próba Millona jest charakterystyczna dla fenoli o co najmniej jednej nie podstawionej pozycji orto. Jest też często wykorzystywana w chemii organicznej do wykrywania fenoli o wolnej pozycji orto i podstawniku w pozycji para (tak jak ma to miejsce w tyrozynie), które nie dają pozytywnego wyniku innych reakcji wykrywania fenoli.

Próba Adamkiewicza-Hopkinsa

Próba na wykrywanie tryptofanu i białek, w których skład wchodzi tryptofan. W środowisku kwaśnym pierścienie indolowe dwóch cząsteczek tryptofanu kondensują z kwasem glikosalowym, dając barwny produkt:



Próba cysteinowa

Związki posiadające grupy hydrosulfidowe (utlenione lub zredukowane), jak cysteina i cystyna, ogrzewane w środowisku zasadowym ulegają rozpadowi. Zawarta w nich siarka ulega uwolnieniu w postaci jonów siarczkowych, które z jonami Pb^{2+} dają czarny osad PbS . Inny aminokwas siarkowy, metionina, nie daje dodatniego wyniku w tej reakcji.

Pojęcie doborowości białek

Białka stanowiące składniki pożywienia człowieka mają bardzo różnorodny skład aminokwasowy. Na ogół można je podzielić na 3 grupy:

- białka pełnowartościowe (białka doborowe) zawierające wszystkie aminokwasy niezbędne w stosunku ilościowym, zapewniającym właściwe pokrycie zapotrzebowania ustroju człowieka. Tego rodzaju białka występują w mleku, jajach, serze itp.)
- białka częściowo niepełnowartościowe (względnie niedoborowe), tj. takie, w których wprawdzie obecne są wszystkie aminokwasy niezbędne, lecz co najmniej jeden w ilości niewystarczającej. Tego rodzaju białka występują w przetworach zbożowych (mąka, kasze).
- białka niepełnowartościowe (białka niedoborowe) zawierają bardzo mało aminokwasów niezbędnych lub mogą w ogóle nie zawierać jednego albo kilku z nich. Typowym białkiem niedoborowym jest żelatyna pozbawiona tryptofanu oraz białka ściągieni nie zawierające tryptofanu i tylko znikome ilości aminokwasów o łańcuchach węglowych rozgałęzionych.

Crystallographic Studies of the Biuret Reaction, Freeman, H. C.; Smith, J. E. W. L.; Taylor, J. C., Nature, Volume 184, Issue 4687, pp. 707-710 (1959).