

## 1. Reakcje charakterystyczne aminokwasów/peptydów

### 1. Reakcja ninhydrynowa

Odczynniki i sprzęt laboratoryjny:

1. 1% wodne roztwory: glicyny, L-proliny, peptydu
2. 1% roztwór ninhydryny w etanolu
3. Probówki zwykłe szklane
4. Pipety Pasteura
5. Łaźnia wodna

Wykonanie doświadczenia:

W czterech próbkach umieścić odpowiednio po 1 mL roztworu: glicyny, L-proliny, peptydu oraz wodę. Następnie do każdej z czterech próbek dodać po 1 mL roztworu ninhydryny i ogrzewać we wrzącej łaźni wodnej przez 1 minutę. Zaobserwować zmiany zabarwienia.

### 2. Reakcja z kwasem azotowym(III) van Slyke'a

Odczynniki i sprzęt laboratoryjny:

1. 1% wodne roztwory: glicyny, peptydu
2. 10% roztwór  $\text{NaNO}_2$
3. 2 M roztwór  $\text{CH}_3\text{COOH}$
4. Probówki zwykłe szklane
5. Pipety Pasteura

Wykonanie doświadczenia:

W trzech próbkach umieścić po 2 mL 10% roztworu  $\text{NaNO}_2$ , dodać po 2 mL 2 M roztworu  $\text{CH}_3\text{COOH}$  i wymieszać zawartość próbek. Następnie do próbek dodać odpowiednio po 1 mL roztworu glicyny, peptydu oraz wody. Zaobserwować zachodzące procesy.

### 3. Reakcja biuretowa Piotrowskiego

Odczynniki i sprzęt laboratoryjny:

1. 1% wodne roztwory: glicyny, peptydu
2. 6 M roztwór  $\text{NaOH}$
3. 0,5% roztwór  $\text{CuSO}_4$
4. Probówki zwykłe szklane
5. Pipety Pasteura

Wykonanie doświadczenia:

W trzech próbkach umieścić odpowiednio po 1 mL roztworu: glicyny, peptydu oraz wodę. Do każdej próbki dodać po 2 mL 6 M roztworu  $\text{NaOH}$  i jednej kropli 0,5% roztworu  $\text{CuSO}_4$  – zawartość próbek dobrze wymieszać. Następnie do próbek dodać kroplami 0,5 mL roztworu  $\text{CuSO}_4$ . Zaobserwować zmiany zabarwienia.

### 4. Wykrywanie obecności siarki w cysteinie i cystynie (reakcja cystynowa)

Odczynniki i sprzęt laboratoryjny:

1. 1% wodne roztwory: glicyny, L-cysteiny, cystyny, L-metioniny, peptydu
2. 6 M roztwór  $\text{NaOH}$
3. 1% roztwór  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$
4. Probówki zwykłe szklane
5. Pipety Pasteura
6. Łaźnia wodna

Wykonanie doświadczenia:

W sześciu probówkach umieścić odpowiednio po 1 mL roztworu glicyny, L-cysteiny, cystyny, L-metioniny, badanego peptydu oraz wody. Następnie do każdej probówki dodać po 2 mL 6 M roztworu NaOH i 0,5 mL 1% roztworu  $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$ . Probówki ogrzewać kilkanaście minut we wrzącej łaźni wodnej i zaobserwować zmiany.

#### 5. Reakcja z nitroprusydkiem sodu na obecność cysteiny

Odczynniki i sprzęt laboratoryjny:

1. 1% wodne roztwory: glicyny, L-cysteiny, cystyny, L-metioniny, peptydu
2. 1% roztwór nitroprusydku sodu
3.  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
4. Stężony wodny roztwór amoniaku
5. Probówki zwykłe szklane
6. Pipety Pasteura
7. Łopatka metalowa

Wykonanie doświadczenia:

W sześciu probówkach umieścić odpowiednio po 1 mL roztworu: glicyny, L-cysteiny, cystyny, L-metioniny, peptydu oraz wody. Następnie do każdej probówki dodać po 1 mL roztworu nitroprusydku, nasycić roztwory  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  i wkropić stężony roztwór amoniaku. Zaobserwować zmiany zabarwienia.

#### 6. Wykrywanie metioniny metodą McCarthy-Sullivana

Odczynniki i sprzęt laboratoryjny:

1. 1% wodne roztwory: glicyny, L-metioniny, L-cysteiny, peptydu
2. 40% roztwór NaOH
3. 10% roztwór nitroprusydku sodu
4. Stężony roztwór HCl
5. Probówki zwykłe szklane
6. Pipety Pasteura
7. Zlewka

Wykonanie doświadczenia:

W czterech probówkach umieścić odpowiednio po 2,5 mL roztworu L-metioniny, L-cysteiny, peptydu oraz wody. Następnie do każdej probówki dodać po 0,5 mL 40% roztworu NaOH (wymieszać), 0,5 mL 1% roztworu glicyny (wymieszać) i 0,3 mL 10% roztworu nitroprusydku sodu (wymieszać). Probówki ogrzewać przez 10 minut w temperaturze 40-80°C (zlewka z ciepłą wodą), nie dopuszczając do wrzenia. Następnie probówki oziębić pod strumieniem zimnej wody z kranu i do każdej z nich dodać po około 0,5 mL stężonego roztworu HCl. Zaobserwować zmiany zabarwienia.

#### 7. Reakcja ksantoproteinowa

Odczynniki i sprzęt laboratoryjny:

1. 1% wodne roztwory: glicyny, L-tyrozyny, L-tryptofanu, peptydu
2. Stężony roztwór  $\text{HNO}_3$
3. 6 M roztwór NaOH
4. Probówki zwykłe szklane
5. Pipety Pasteura
6. Łaźnia wodna

Wykonanie doświadczenia:

W pięciu probówkach umieścić odpowiednio po 1 mL roztworu: glicyny, L-tyrozyny, L-tryptofanu, peptydu oraz wodę. Do każdej probówki dodać po 1 mL stężonego roztworu kwasu azotowego i probówki ogrzewać przez kilka minut we wrzącej łaźni wodnej. Następnie probówki ostudzić pod strumieniem zimnej wody z kranu i do każdej z nich ostrożnie\* dodać po 3 mL 6 M roztworu NaOH. Zaobserwować zmiany zabarwienia.

\* Uwaga! Reakcja silnie egzotermiczna!

#### 8. Reakcja Pauly'ego na obecność histydyny i tyrozyny

Odczynniki i sprzęt laboratoryjny:

1. 1% wodne roztwory: glicyny, L-histydyny, L-tyrozyny, peptydu
2. 1% roztwór kwasu sulfanilowego w 1 M roztworze HCl
3. 5% roztwór NaNO<sub>2</sub>
4. 10% roztwór Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>
5. Probówki zwykłe szklane
6. Pipety Pasteura

Wykonanie doświadczenia:

Do probówki z 2 mL 1% roztworu kwasu sulfanilowego dodać 2 mL 5% roztworu NaNO<sub>2</sub>. Zawartość probówki wytrząsać przez kilka minut, jednocześnie chłodząc ją pod strumieniem zimnej wody z kranu. Następnie w sześciu probówkach umieścić po 0,5 mL otrzymanego odczynnika, dodać po 1 mL 10% roztworu CaCO<sub>3</sub> i po 0,5 mL odpowiednio roztworów: glicyny, L-histydyny, L-tyrozyny, peptydu oraz wodę. Zaobserwować zmiany zabarwienia (mogą wystąpić dopiero po kilku minutach).

#### 9. Reakcja Voiseneta na obecność tryptofanu

Odczynniki i sprzęt laboratoryjny:

1. 1% wodne roztwory: glicyny, L-tryptofanu, peptydu
2. 2,5% roztwór aldehydu mrówkowego
3. Stężony roztwór HCl
4. 0,05% roztwór NaNO<sub>2</sub>
5. Probówki zwykłe szklane
6. Pipety Pasteura

Wykonanie doświadczenia:

W czterech probówkach umieścić odpowiednio po 1 mL roztworu: glicyny, L-tryptofanu, peptydu oraz wodę. Następnie do każdej probówki dodać kroplę 2,5% roztworu aldehydu mrówkowego oraz 4 mL stężonego roztworu HCl i pozostawić na około 5 minut. Po tym czasie do probówek dodać powoli kroplami 0,05% roztwór NaNO<sub>2</sub>. Zaobserwować zmiany zabarwienia.

#### 10. Reakcja Sakaguchi'ego na obecność argininy

Odczynniki i sprzęt laboratoryjny:

1. 1% wodne roztwory: glicyny, L-argininy, peptydu
2. 10% roztwór NaOH
3. 1% roztwór  $\alpha$ -naftolu w etanolu
4. Roztwór NaOBr
5. Probówki zwykłe szklane
6. Pipety Pasteura

Wykonanie doświadczenia:

W czterech probówkach umieścić odpowiednio po 1 mL roztworu: glicyny, L-argininy, peptydu oraz wodę. Następnie do probówek dodać kolejno po 0,5 mL 10% roztworu NaOH, 2-3 krople roztworu naftolu i kroplę roztworu NaOBr. Zaobserwować zmiany zabarwienia.

**Sprawozdanie z ćwiczenia powinno zawierać:** omówienie wykonywanych reakcji według następującego schematu: zasada, na której opiera się próba (+ równanie reakcji, tam gdzie jest to możliwe), obserwacje, wnioski (dotyczące związków, dla których była wykonywana próba oraz aminokwasu, otrzymanego do identyfikacji), propozycję schematu identyfikacji związku w próbie (peptyd, aminokwasy) w oparciu o wykonywane reakcje barwne.