**МБОУ СОШ №2 города Кузнецка.**

Научно – исследовательская работа по химии

на тему:

«Определение альфа-аминокислот в молочных продуктах»

**Выполнили**: обучающиеся 9 «б» класса

Солодова Екатерина, Плеханова Марина

**Руководитель**: учитель химии

Кабакова Марина Валерьевна

2016

**План**

1. Актуальность выбранной темы………………………………………..2
2. Номенклатура и классификация аминокислот……………………….3
3. Химические свойства……………………………………………….….7
4. Практическая часть…………………………………………………...14
5. Выводы…………………………………………………………………19
6. Литература……………………………………………………………..20

**Жизнь – это способ существования белковых тел.**

**Ф.Энгельс**

*Аминокислотами называют бифункциональные производные углеводородов, которые содержат карбоксильную группу −COOH и аминогруппу −NH2*

 **Цель работы**:

выяснить химизм качественных реакций на альфа-аминокислоты, входящие в состав молочных продуктов, указать роль отдельных ученых в исследовании белков.

 **Задачи:**

1) изучить и систематизировать имеющиеся литературные данные по качественным реакциям на белковые аминокислоты, составить базу данных о качественных, в том числе цветных, реакциях на белки;
2) научиться практически осуществлять качественные реакции;
3) выделить альфа – аминокислоты в молочных продуктах

 **Гипотеза**: мы предполагаем, что в молочных продуктах содержаться альфа – аминокислоты.

 **Объект исследования:** молочные продукты, такие как молоко, сливочное масло и творог.

 Для аминокислот, постоянно встречающихся в составе белков, разработано множество цветных (в том числе именных) реакций. Многие из них высокоспецифичны, что позволяет определять ничтожные количества той или иной аминокислоты.

 Надо помнить, что все качественные реакции – это реакции не собственно на белки, а на определенные аминокислоты, входящие в их состав.

 Потребление молока и молочных продуктов в России зависит от уровня доходов населения. Наблюдается планомерное снижение их потребления ввиду дороговизны. Однако, даже то, что покупается, не всегда является традиционным молоком.

**Актуальность выбранной темы** заключается в том, что молочные продукты являются насущной необходимостью организма, как незаменимый источник натурального белка и кальция

Номенклатура

По систематической номенклатуре аминокислоты называют, по соответствующей карбоновой кислоте добавляя приставку *амино-*. Положение аминогруппы в углеродной цепи указывают цифрой:



В зависимости от положения аминогруппы по отношению к карбоксильной группе различают α, β, γ и так далее аминокислоты:

Все природные аминокислоты содержат аминогруппу только в
α-положении и имеют общую формулу:

Помимо систематической, для природных аминокислот широко распространена тривиальная номенклатура (аланин, валин, лизин и т.д.). Иногда запись аминокислот осуществляют, используя трёх- буквенные сокращения (Ala, Val , Lys и др.).

**Классификация аминокислот**

В настоящее время единой классификации аминокислот не существует.

Аминокислоты делят на природные (содержатся в растительных и животных организмах) и синтетические – получены искусственным путем.

Организм синтезирует аминокислоты главным образом из пищевых белков. Но есть целая группа аминокислот, которых организм сам синтезировать не может. Эти аминокислоты называют ***незаменимыми.*** К ним относятся (***валин, лейцин, изолейцин, лизин, треонин, метионин, фенилаланин и триптофан)*** Такие аминокислоты должны поступать в организм извне.

В настоящее время известно свыше 150 аминокислот, но только 20 из них входят в состав белков.

По природе радикала аминокислоты делят на:

***1. Моноаминомонокарбоновые.***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Строение радикала кислоты−R | Название | Условное обозначение |
| Тривиальное | Cистематическое |
| −H | Глицин | аминоэтановая | ГлиGly |
| −CH3 | Аланин | 2-аминопропановая  | АлаAla |
|  | Валин | 2-амино-3-метил-бутановая | ВалVal  |
|  | Лейцин | 2-амино-4-метил-пентановая  | ЛейLeu |
|  | Изолейцин | 2-амино-3-метил-пентановая  | ИлеIle  |

***2.Гидроксилсодержащие:***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Строение радикала кислоты−R | Название | Условное обозначение |
| Тривиальное | Cистематическое |
|  | Серин | 2-амино-3-гидрокси-пропановая | СерSer |
|  | Треонин | 2-амино-3-гидрокси-бутановая | ТреThr |
|  | Тирозин | 2-амино-3-(4-гидро-ксифенил)пропановая | ТирTyr  |

***3. Серусодержащие:***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Строение радикала кислоты−R | Название | Условное обозначение |
| Тривиальное | Cистематическое |
|  | Цистеин | 2-амино-3-мер-каптопропановая | ЦисCys |
|  | Метионин | 2-амино-4-метил-тиобутановая | МетMet  |

***4. Аминокислоты, содержащие в радикале дополнительную аминогруппу.***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Строение радикала кислоты−R | Название | Условное обозначение |
| Тривиальное | Cистематическое |
|  | Лизин | 2,6-диамино-гексановая | ЛизLys  |
|  | Аргинин (содержит гунидиновуюгруппу) | 2-амино-5-гуанидил-пентановая | АргArg |

***5. Аминокислоты, которые содержат в радикале дополнительную карбоксильную или амидную группы:***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Строение радикала кислоты−R | Название | Условное обозначение |
| Тривиальное | Cистематическое |
|  | Аспарагиновая | 2-аминобутан-диовая | АспAsp  |
|  | Глутаминовая | 2-аминопентан-диовая | ГлуGlu |
|  | Аспарагин | 2-амино-3-карбоксамидо-пропановая | АснAsn |
|  | Глутамин | 2-амино-4-карбоксамидо-бутановая | ГлнGln |

***6. Ароматические и гетероциклические аминокислоты:***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Строение радикала кислоты−R | Название | Условное обозначение |
| Тривиальное | Cистематическое |
|  | Фенилаланин | 2-амино-3-фенил-пропановая  | ФенPhe |
|  | Триптофан | 2-амино-3-индол-илпропановая | ТриTrp |
|  | Гистидин (иминокислота) | 2-амино-3-имидо-золилпропановая | ГисHis  |
|  | Пролин (полная форма) | 2-пирролидин-карбоновая | ПроPro  |

Современная рациональная классификация основана на полярности радикалов. Полярность радикала во многом определяет такое важное свойство аминокислот как растворимость в воде и в других полярных растворителях. Полярные группы радикала (−COOH, −NH2, −OH и др.) притягивают воду и тем самым повышают растворимость аминокислот в воде, неполярные радикалы, наоборот, отталкивают воду и снижают растворимость аминокислот в воде.

**Химические свойства аминокислот**

**Амфотерность аминокислот**

Наличие в молекуле аминокислоты функциональных групп кислотного и основного характера обусловливает амфотерность аминокислот. Подобно любому амфотерному соединению, аминокислоты образуют соли как при действии кислоты, так и при действии щелочи.

Аминокислоты, будучи гетерофункциональными соединениями, должны проявлять свойства как одной, так и другой функциональной группы.

**Реакции карбоксильной группы**

***1. Образование внутрикомплексных солей. ( Биуретовая реакция)***

С катионами тяжелых металлов α-аминокислоты образуют внутрикомплексные соли. Так, со свежеприготовленным гидроксидом меди (II) α-аминокислоты образуют хорошо кристаллизующиеся хелатные соли меди (II), окрашенные в синий цвет:

***2. Образование сложных эфиров***.

Так как реакция этерификации протекает в кислой среде, сложные эфиры аминокислот образуются в виде солей по аминогруппе:

Образовавшиеся эфиры не могут существовать в виде биполярных ионов, поэтому, в отличие от исходных аминокислот, они растворяются в органических растворителях и имеют более низкие температуры кипения. Это даёт возможность разделить смесь эфиров аминокислот перегонкой.

***3. Образование хлорангидридов.***

Эту реакцию часто называют реакцией «активации» карбоксильной группы. Хлорангидридыα-аминокислот получают действием на аминокислоты тионилхлорида (SOCl2) или хлорида фосфора (V) (PCl5). Полученныехлорангидридынеустойчивы и существуют только в виде солей:

Поэтому реакцию обычно проводят, предварительно защитив аминогруппу ацилированием.

***4. Образование амидов аминокислот.***

Такие амиды получают действием аммиака или первичных аминов на хлорангидриды с защищённой аминогруппой. В случае использования реакции с аминами получают замещённые по азоту амиды аминокислот:

***5. Декарбоксилирование аминокислот.***

В лабораторных условиях эта реакция протекает при нагревании аминокислоты с Ba(OH)2. В результате получается первичный амин:

**Реакции аминогруппы**

***1. Реакция ацилирования. Образование N-замещённых амидов.***

N-замещенные амиды часто рассматривают как N-ацильные производные. Эта реакция была отмечена ранее как реакция защиты аминогруппы. Её можно рассматривать как процесс ацилирования аминогруппы хлорангидридами или ангидридами кислот:

Реакция протекает лучше в щелочной среде. Примером может служить получение N-бензоилаланина в присутствии водного раствора гидроксида натрия. Этот метод получения N-ацильных производных называют ацилированием по Шоттен-Бауману:

Щёлочь необходима для связывания выделяющегося хлороводорода, т.к. в кислой среде N-ацильные производные легко гидролизуются, освобождая исходную аминокислоту:

Это общепринятый способ удаления защитной группы.

***2. Алкилирование аминокислот.***

Аминокислоты можно алкилировать по аминогруппе галоидными алкилами (обычно иодистыми алкилами). Например, алкилированием глицина можно получить метиламиноуксусную кислоту −саркозин, которая в связанном виде содержится в некоторых белках.

При избытке иодистого метила образуется четвертичная аммонийная соль:

***3. Действие азотистой кислоты (дезаминированиеinvitro).***

Реакция протекает так же, как и при взаимодействии с азотистой кислотой алифатических первичных аминов − выделяется азот, а аминогруппа замещается на гидроксильную группу:

Таким образом можно установить структурное родство аминокислот с соответствующими оксикислотами. По объёму выделившегося азота определяют количество α-аминокислоты, вступившей в реакцию (метод Ван-Слайка)***.***

***4. Взаимодействие с альдегидами.***

α-Аминокислоты, подобно первичным аминам, реагируют с альдегидами, образуя замещенные имины (основания Шиффа). Реакция протекает через стадию образования карбиноламинов.

При взаимодействии α-аминокислот с формальдегидом образуются относительно устойчивые карбиноламины−N-метилольные производные, свободная карбоксильная группа которых может быть оттитрована щелочью.

Формальдегид, взятый в избытке, способствует отщеплению протона от NH3+ группы биполярного иона и легко соединяется со свободной (непротонированной) аминогруппой, образуя устойчивоеметилольное производное.

Титрование аминокислоты в избытке формальдегида (формольное титрование) представляет собой аналитический метод (метод Серенсена), при помощи которого прослеживается, в частности, образование свободных аминокислот в процессе гидролиза белков.

***5. Взаимодейстивие с динитрофторбензолом (ДНФБ).***

Важной реакцией α-аминогруппы является её реакция с
2,4-динитрофторбензолом (ДНФБ) в слабощелочном растворе, которую впервые использовал Фредерик Сенгер для количественного введения метки в аминогруппы аминокислот и пептидов. Эта реакция протекает по механизму нуклеофильного замещения.

Продукт реакции окрашен в интенсивно желтый цвет. Эта реакция представляет исключительную ценность для идентификации N-концевых аминокислот полипептидных цепей.

***6. Ксантопротеиновая реакция*** используется для обнаружения *α*-аминокислот, содержащих в радикале ароматический цикл.

Существует ряд частных реакций на отдельные аминокислоты. Например, цистеин (серосодержащая аминокислота) обнаруживают по реакции с ацетатом свинца при нагревании. В щелочной среде образуется осадок сульфида свинца*PbS* чёрного цвета.

**Реакции функциональных групп, содержащихся в радикалах аминокислот**

Аминокислоты вступают также в реакции, типичные для функциональных групп, присутствующих в их радикалах. Например, для SH-групп цистеина, гидроксильной группы тирозина и треонина, гуанидиновой группы аргинина.

***1. Реакции сульфгидрильной (тиоловой) группы.***

Для сульфгидрильной группы характерна исключительно высокая реакционная способность. Например, при действии на цистеин незначительных концентраций ионов некоторых тяжелых металлов образуются меркаптиды.

В щелочных растворах цистеин легко теряет атом серы. Так, при нагревании цистеина с ацетатом свинца в щелочном растворе образуется черный осадок сульфида свинца. Эта реакция применяется для обнаружения сульфгидрильной группы в пептидах и белках.

Тиоловая группа цистеина легко подвергается окислению с образованием дисульфида. Этот процесс можно отразить следующей схемой:

Дисульфидные связи, присоединяя два атома водорода, переходят в сульфгидрильные (тиоловые) группы:

Рассмотрим этот процесс на примере превращения цистеина в цистин:

В цистине при действии восстановителей дисульфидная связь разрывается и образуется две молекулы цистеина:

Дисульфидная связь может также подвергаться окислению под действием таких жестких окислителей, как, например, надмуравьиная кислота. В результате образуется цистеиновая кислота:

***2. Реакции гидроксильной группы – реакции элиминирования.***

Эти реакции характерны для аминокислот, содержащих в радикале гидроксильную группу в β-положении по отношению к карбоксильной группе (серин и треонин).

В результате ряда последовательных реакций аминокислота превращается в кетокислоту. Рассмотрим этот процесс на примере превращения треонина в 2-оксобутановую кислоту.

***3. Реакции гуанидильной группы.***

Гуанидильная группа содержится в радикале аргинина:

Гуанидильная группа аргинина легко отщепляется при гидролизе в избытке гидроксида бария при 1000С с образованием мочевины и орнитина:

Орнитин**−**α-аминокислота, содержащая в радикале вторую аминогруппу, в состав белков не входит. Появляется в организме в результате гидролитического расщепления аргинина с участием фермента аргиназы. Аргиназа в значительных количествах содержится в печени и в малых количествах в почках и селезенке млекопитающих животных.

 ***4.Отношение моноаминомонокарбоновых кислот к индикаторам***. Окраска индикаторов (метилового оранжевого, фенолфталеин, лакмуса) в водных растворах аминокислот (моноаминомонокарбоновых) не меняется. Объясняется это тем, что аминокислоты амфотерны, они существуют в виде биполярных ионов (внутренних солей), причём основность аминогруппы и кислотность карбоксильной группы примерно равны, поэтому водные растворы моноаминомонокарбоновых кислот имеют нейтральную реакцию:

**5.*****Нингидриновая реакция ( реакция Руэманна)***

a-Аминокислоты реагируют с нингидрином, образуя сине-фиолетовый комплекс (пурпур Руэманна), интенсивность окраски которого пропорциональна количеству аминокислоты.

Реакция идет по схеме:

Реакция с нингидрином используется для визуального обнаружения a-аминокислот, а также для колориметрического определения концентрации аминокислот по интенсивности окраски продукта.

.

**Практическая часть**.

Для определения аминокислот в молочных продуктах, мы приобрели 3 сорта молока, 3 сорта сливочного масла и 3 сорта творога и провели следующие реакции:

1. ***Нингидриновая реакция***

Описание опыта. В пробирку наливают 1 мл 1%-го раствора белка и 0,5 мл 1%-го раствора нингидрина. Содержимое пробирки осторожно нагревают до появления сине-фиолетового окрашивания.

***2. Образование внутрикомплексных солей ( Биуретовая реакция).***

Описание опыта. В пробирку наливаем 3 мл раствора белка и 2-3 мл раствора гидроксида натрия, затем 1-2 мл раствора медного купороса. Появляется сине – фиолетовое окрашивание.

***3. Ксантопротеиновая реакция***

Описание опыта: В пробирку наливаем 2-3 мл раствора белка и прибавляем несколько капель концентрированной азотной кислоты. Нагреваем содержимое пробирки, при этом образуется желтый осадок.

***4. Действие азотистой кислоты (дезаминирование in vitro).***

Описание опыта: В пробирку наливаем 1 мл раствора белка и равный объем 5% -го раствора нитрита натрия. Добавляют 0,5 мл концентрированной уксусной кислоты и осторожно взбалтывают смесь. Наблюдается выделение пузырьков газа.

 ***5. Отношение к индикаторам***

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Характеристика процесса | Молоко С. Неверкино | Молоко С. Каменка | МолокоС. Вадинск |
| **Нингидриновая реакция** |  |  |  |
|  | Бледно- розовая окраска | Бледная розово – фиолетовая окраска | Насыщенная розово – фиолетовая окраска |
| **Биуретовая****реакция** |  |  |  |
|  | Насыщенный синий цвет | Насыщенный синий цвет | Насыщенный синий цвет |
| **Ксантопротеиновая реакция**  |  |  |  |
|  | Бледно желтый | Желтый | Желтый |
|  **Реакция с азотистой кислотой**  |  |  |  |
|  | Пузырьки газа | Пузырьки газа | Пузырьки газа |
| **Отношение к индикаторам****(фенолфталеин, метиловый оранжевый, лакмус)** | Изменение окраски индикаторов не происходит | Изменение окраски индикаторов не происходит | Изменение окраски индикаторов не происходит |
| **Стоимость** | 36 руб. | 34 руб | 50 руб. |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Характеристика процесса | Сливочное масло Простоквашино | Сливочное масло72,5% Неверкино | Сливочное масло Домик в деревне |
| **Нингидриновая реакция** | Насыщенная розово – фиолетовая окраска | Насыщенная розово – фиолетовая окраска | Насыщенная розово – фиолетовая окраска |
|  |  |  |  |
| **Биуретовая****реакция** |  |  |  |
|  | Сине- фиолетовое окрашивание | Синий | Сине – фиолетовое окрашивание |
| **Ксантопротеиновая реакция**  |  |  |  |
|  | Желтый  | Бледно - желтый | Желтый |
|  **Реакция с азотистой кислотой**  |  |  |  |
|  | Пузырьки газа | Пузырьки газа | Пузырьки газа |
| **Отношение к индикаторам****(фенолфталеин, метиловый оранжевый, лакмус)** | Изменение окраски индикаторов не происходит | Изменение окраски индикаторов не происходит | Изменение окраски индикаторов не происходит |
| **Стоимость** | 82 руб | 68 руб | 86 руб. |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Характеристика процесса | ТворогМолком | Творог Простоквашино | Творог С.Каменка |
| **Нингидриновая реакция** | Насыщенная розово – фиолетовая окраска | Насыщенная розово – фиолетовая окраска | Окрашивания нет |
|  |  |  |  |
| **Биуретовая****реакция** |  |  |  |
|  | Сине- фиолетовое окрашивание | Синий | Окрашивания не происходит |
| **Ксантопротеиновая реакция**  |  |  |  |
|  | Желтый  | Бледно - желтый | - |
|  **Реакция с азотистой кислотой**  |  |  |  |
|  | Пузырьки газа | Пузырьки газа | Пузырьки газа |
| **Отношение к индикаторам****(фенолфталеин, метиловый оранжевый, лакмус)** | Изменение окраски индикаторов не происходит | Изменение окраски индикаторов не происходит | Изменение окраски индикаторов не происходит |
| **Стоимость** | 78 руб | 84 руб | 74 руб. |

Выводы :В ходе нашей работы мы выяснили химизм качественных реакций на альфа –аминокислоты, входящие в состав молочных продуктов, указали роль ученных в исследовании белков. В результате проведенных химических реакций на пробах молочных продуктов, мы обнаружили ,что большинство имеют качественные реакции. Исключением в нашей работе является творог из села Каменка. Соответственно в их состав входят изучаемые нами альфа – аминокислоты. Это дает нам право называть эти продукты качественными, ведь в их состав входят натуральные аминокислоты, которые полезны для нашего организма. Молочные продукты действительно являются незаменимым источником натурального белка и кальция.

Список используемой литературы:

1.О.С. Габриелян, Ф.Н. Маскаев Химия 10 класс Профильный уровень, Москва – Дрофа-2012г.\

2. Б.Д. Степин, Л.Ю. Аликберова, Занимательные задания и эффективные опыты по химии, Москва – Дрофа -2008г.

3.А.И. Артеменко, Удивительный мир органической химии, Москва – Дрофа -2008г.

4. <http://www.alhimik.ru/>

5. <http://hemi.wallst.ru/>