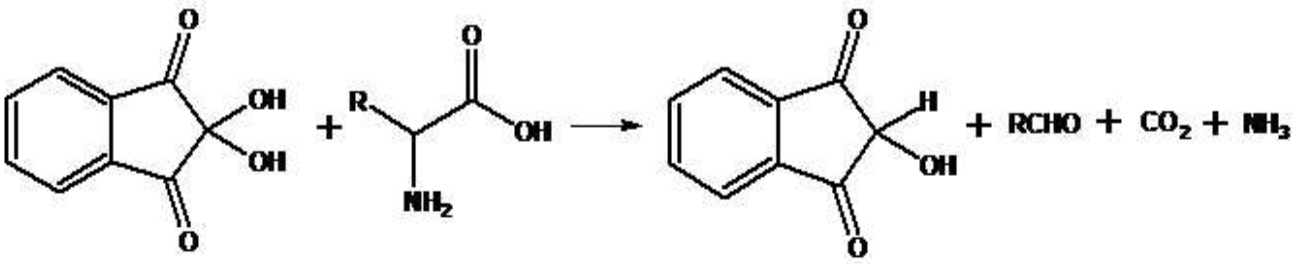
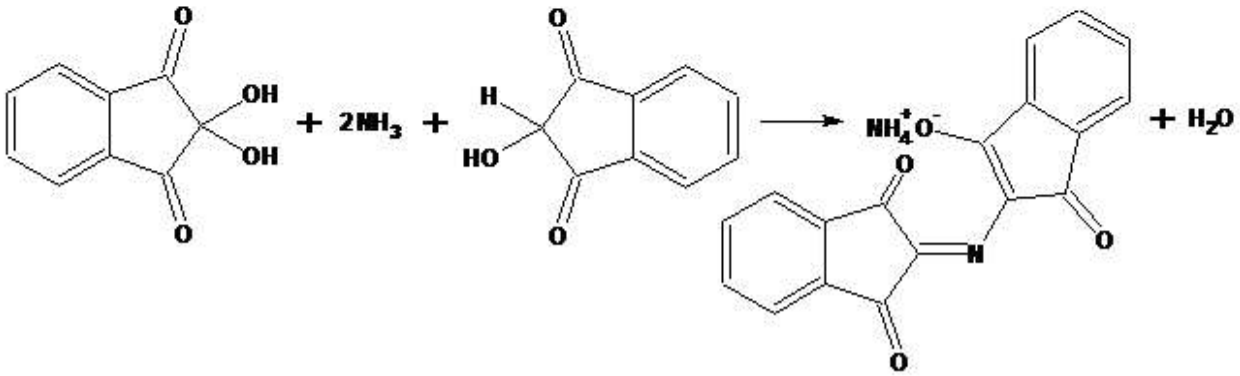
اولاً / كشف النـنهيدرين: Ninhydrin Test

يعتمد هذا الكشف على وجود جذر الامينα-Amine وجذر الكاربوكسيل بصورة حرة، لذا فجميع الاحماض الامينية وبالتالي البروتينات تستجيب لهذا الكشف.

النـنهيدرين:مادة مؤكسدة قوية جداً,تتفاعل مع الاحماض الامينية في (4-8)P^Hلتعطي مركبات ونواتج ملونة.التفاعل حساس جداً ومثالي لكشف الكميات القليلة جداً من الاحماض الامينية في تجارب كروماتوغرافيا الورق.اذن يتفاعل النـنهيدرين مع جميع الاحماض الامينية معطياًالون البنفسجي وفق المعادلة ادناه:





Ruhemauns purple

Reagents:(1)زلال البيض Egg albumin(5%)

(2)محلول النهيدرين(1%){Tri ketoninhyhydrin hydrate}

Procedure: اضف 8 قطرات من محلول النهيدرين الى 2 مل من زلال البيض.سخن لمدة دقيقتين لدرجة الغليان.لاحظ اللون الازرق.

ملاحظات:

(1)يعتبر الكشف عاماً لجميع الاحماض الامينية والبروتينات.
(2)بالامكان تقدير كمية الاحماض الامينية من خلال حساب كميةCO_2 المتحررة.

ثانياً/ تفاعل الزانثوبروتيك: Xanthoproteic Reaction

يعتمد هذا الكشف على وجود المركبات البنزينية حيثُ تحدث عملية النترجة لحلقة البنزين الموجودة بالحامض الاميني ولان مركبات النترو الناتجة تكون صفراء اللون لذا سمي الكشف بالزانثوبروتيك (اصفر=xantho) .

☹**Reagents**(1) محلول زلال البيض او.Tryptophan,Tyrosin

(2)حامض HNO_3 المركز.

(3)هيدروكسيد الامونيوم المركزNH_4OH

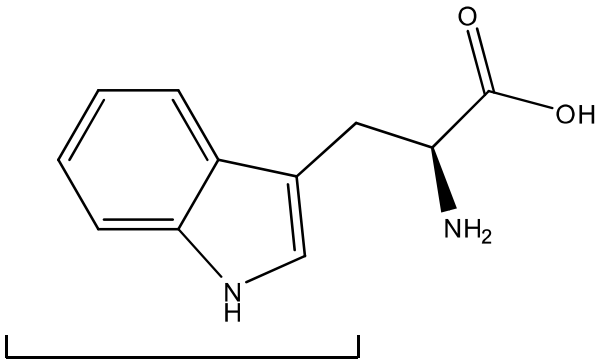
Procedure:اضف بضع قطرات من HNO_3 المركز الى محلول البروتين,سخن لدرجة الغليان(لمدة دقيقة واحدة) لاحظ اللون او الراسب الاصفر المتكون.برد الانبوبة ثم اضف اليها قليل من محلول هيدروكسيد الامونيوم المركز ولاحظ اللون البرتقالي المتكون. ان الاحماض الامينية التي تحوي حلقة اروماتية تكون مشتقات نتروجينية صفراء اللون عندمعاملتها مع HNO3 المركز اما املاح هذه المشتقات فتكون برتقالية اللون.

ملاحظات: (1)يدل هذا الكشف على وجود احماض امينية اروماتية (تايروسين,تربتوفان)في جزيء البروتين. (2) الجلاتين يعطي كشفا سالبا لنقص الاحماض الامينية الاورماتية فيه.

س/لماذا يترك حامض النتريك المركز بقعة صفراء عند سقوطه على الجلد؟

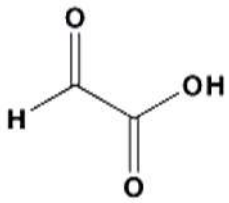
ثالثاً/ كشف هوبكنز كول الخاص بالتربتوفان: Hopkins-col Test

ان حلقة الاندول الموجودة في الحامض الاميني التربتوفان تتفاعل مع حامض الكلايوكسيلك(Glyoxylic acid) بوجود حامض قوي مثل حامض الكبريتيك المركز لتعطي حلقة بنفسجية وهذا دليل على احتواء البروتين على الحامض الاميني التربتوفان.**اذن فهذا الكشف مميز للتربتوفان, لاحتوائه على جذر الاندول.**



Indol Ring

Tryptophan



Glyoxylic acid

Reagntse:(1)عينة من احد البروتينات التالية(زلال البيض ,جلاتين,كازئين الحليب)

(2)كاشف هوبكنزكول(Glyoxylic acid)

(3)حامض الكبريتيك المركزH_2SO_4

Procedure:اضف(2مل) من كاشف هوبكنز كول الى (2مل) من محلول البروتين.امزج جيداً ثم اضف باحتراس حوالي (5مل)من حامض الكبريتيك المركز بحيث ينزلق على جدران الانبوبة الداخلية ولاحظ تكون حلقة وردية او بنفسجية عند سطح الانفصال.

ملاحظات:

(1)يُعد الكشف مميزاً للتربتوفان الحاوي على جذر الاندول.
(2)الجلاتين لايعطي الكشف لانه خالي من حامض التربتوفان.

رابعاً /كشف ميلون: Millon's Test (Tyrosine)

يعتمدهذا الكشف على وجود مجموعة الفينول في الحامض الاميني. وبما أن التايروسين هو الحامض الاميني الوحيد الذي يمتلك هذه المجموعة ، لذا يعتبر هذا الكشف خاصاً بالتايروسين.

Reagents:(1) محلول زلال البيض Egg Albumin(%5)

(2)كاشف ميلونMillons Reagent (نترات الزئبقوز والزئبقيك بوجود حامضي النتروز والنتريك)

Procedure:اضف بضع قطرات من محلول ميلون (حديث التحضير) الى (2مل)من محلول البروتين ، ثم سخن في حمام مائي مغلي ولاحظ ظهور اللون الوردي.

ملاحظة:الجلاتين يعطي كشف ضعيف لاحتوائه على كميات قليلة من التايروسين.