جامعة تكريت

كلية التربية للبنات

قسم الكيمياء

الكيمياء الحياتية عملي

المرحلة الثالثة

محاضرة

{ كشف الزانثوبروتك ، كشف هوبكنز- كول ، كشف الكبريت غير المستقر قلويا ، الكشف عن السستائين }

مدرس المادة

م.م. ايات جاسم محمد

ayat.mohammed@tu.edu.iq

تجربة (5)

كشف الزانثوبروتك Xanthoproteic test

يتعلق هذا الكشف بنترتة (nitration) حلقة البنزين في جزيئة البروتين لذا فهو يعطي نتيجة موجبة مع البروتينات المحتوية على الاحماض الامينية او فنيل الانين كما ان الحامض الاميني التربتوفان يعطي ايضا نتيجة موجبة مع هذا الكشف و لان مركبات النترو الناتجة تكون صفراء اللون لهذا سمي الكشف بالزانثوبروتك.

المواد و الكواشف The Reagents

1- محلول زلال البيض 5%

2- حامض النتريك المركز

3- هيدروكسيد الصوديوم

طريقة العمل The Method

اضف بضع قطرات من حامض النتريك المركز الى محلول البروتين. سخن لدرجة الغليان و لاحظ الراسب الاصفر المتكون ، برد الانبوبة ثم أضف لها القليل من محلول هيدروكسيد الصوديوم و لاحظ اللون البرتقالي المتكون.

تجربة (6)

كشف هوبكنز- كول Hopkins-Cole test

يمكن بوساطته الكشف عن وجود مجموعة الاندول في الحامض الاميني تربتوفان حيث تتفاعل هذه المجموعة مع حامض الكلايوكسليك (و هو حامض الديهايدي) بوجود حامض الكبريتيك المركز، يتكون مركب ملون (بشكل حلقة بنفسجية) بين الحامض الاميني و مجموعة الالديهايد.

المواد الكواشف The Reagents

1- عينة من احد البروتينات الاتية: زلال البيض ، الجيلاتين ، الكازائين...الخ .

2- كاشف هوبكنز- كول يحضر كالاتي

يوضع 10 غم من مسحوق المغنسيوم في دورق كبير ثم تضاف كمية من الماء المقطر تكفي لتغطية هذا المسحوق. يضاف بعد ذلك مع الرج المستمر بعد كل اضافة 250 مل من محلول مشبع لحامض الكلايوكسليك مع ملاحظة تبريد الدورق اذا لزم الامر، رشح المحلول و حمضه بحامض الخليلك ثم اكمل الحجم الى لتر واحد.

طريقة العمل The Method

اضف 2 مل من كاشف هوبكنز-كول الى 2 مل من محلول البروتين، امزج جيدا ثم اضف باحتراس حوالي 5 مل من حامض الكبريتيك المركز بحيث ينزلق الحامض على جدران الانبوبة الداخلية ببطئ و لاحظ تكون حلقة بنفسجية بين طبقة الحامض و محلول البروتين.

تجربة (7)

كشف الكبريت غير المستقر قلويا Alkali labile sulfer test

يعتمد هذا الكشف على تسخين محلول البروتين (الحاوي على كبريت) مع هيدروكسيد الصوديوم 40% حيث يتفاعل الكبريت العضوي في السستائين Cysteine و السستين Cystine مع هيدروكسيد الصوديوم مكونا كبريتيد الصوديوم (كبريت غير عضوي) و الذي تفاعل بدوره مع خلات الرصاص مكونا كبريتيد الرصاص الاسود اللون. و يمكن تمثيل ما سبق بالمعادلات الاتية :-

$$R{-}SH + 2NaOH \longrightarrow Na_2S + R{-}OH + H2O$$

$$Na_2S + (CH_3COO)_2Pb \longrightarrow PbS + 2CH_3COONa$$

و عليه يمكن القول بأن الكبريت الموجود في الحامضيين الامينيين السستائين و السستين هو كبريت غير مستقر قلويا . اما الكبريت الموجود في الحامض الاميني التربتوفان فهو كبريت مستقر قلويا و لا يعطي راسب اسود اللون من كبريتيد الرصاص عند تسخينه مع 40% هيدروكسيد الصوديوم.

المواد و الكواشف The Reagents

1- محلول البروتين

2- محلول هيدروكسيد الصوديوم 40%

3- مجلول خلات الرصاص 2%

طريقة العمل The Method

امزج قليلا من محلول البروتين 1 مل مع 1 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم 40%. اغلي المحلول ثم برده ثم اضف له حامض الخليك 10 قطرات ثم اضف قليل من محلول خلات الرصاص و لاحظ تكون الراسب الاسود دلالة على ان البروتينات تحتوي في تركيبها على احماض امينية حاوية على كبريت غير مستقر قلويا.

تجربة (8)

الكشف عن السستائين Cysteine test

(كشف النتروبروسيد (Nitro prusside test

هو كشف مميز لمجموعة SH– و عليه فالحامض الاميني السستائين Cysteine في الحالة الحرة يعطي اختبارا موجب ، اما البروتينات التي تحتوي على –S–S– (كما في السستين Cystine) فانها لا تعطي الكشف الا اذا اختزلت هذه المجموعة و تحولت الى SH بأضافة سيانيد البوتاسيوم، او استعمال الهيدروجين الناتج من تفاعل الزنك مع حامض الهيدروكلوريك.

المواد و الكواشف The Reagents

1- محلول البروتين

2- محلول نتروبروسيد الصوديوم

3- محلول الامونيا المركز

4- محلول كبريتات الامونيوم المركز

5- مسحوق الزنك

6- حامض الهيدروكلوريك

طريقة العمل The Method

اذب بضع بلورات من هيدروكلوريد السستائين في 5 مل من الماء و اضف اليه 0.5 مل من محلول نتروبروسيد الصوديوم 1% و 0.5 مل محلول الامونيا و لاحظ ظهور اللون البنفسجي دلالة على وجود السستائين.