الجامعة	**الانبار**
الكلية	**التربية للبنات**
القسم	**الكيمياء**
المرحلة	**الرابعة**
اسم المادة باللغة **العربية**	**Practical Biochemistry**
اسم المادة باللغة الانكليزية	**الكيمياء الحياتية العملي**
اسم التدريسي	**م.م. بيداء حسين عيدة**
عنوان المحاضرة باللغة العربية	**تشخيص الاحماض الامينية بواسطة كروموتوغرافيا الورق**
عنوان المحاضرة باللغة الانكليزية	**Identification of Amino acids by paper chromatography**
رقم المحاضرة	**10**
المصادر والمراجع	**كتاب الكيمياء الحياتية العملي**

بالدنترة (denaturation)وهو تحوير(مسخ) في جزيئة البروتين بما يؤدي الى تغير في خصائص البروتين الفيزياوية والبايولوجية.

ويحدث التغيير في التركيب الثانوي والثالثي ولايتاثر التركيب الاولي.(السلسلة الببتيدية).

تشخيص الاحماض الامينية بواسطة كروماتوغرافيا الورق:

Identification of Amino acids by paper chromatography

تعتمد هذه الطريقة بصورة رئيسية على مدى اختلاف سرعة انتقال جزئيات الحوامض الامينية المختلفة على ورق خاص وبواسطة خليط من المحاليل المذيبة التي تسير بفعل الخاصية الشعرية للورق، حيث تختلف سرعة انتقال هذه الحوامض المذابة بالنسبة لنوعية خليط المحاليل المذيبة فتنفصل مكونات الخليط عن بعضها في صورة بُقع (spots)وتُعرف الورقة بماعليها من بقع بأسم الكروماتوغرام chromatogram.

ان حركة المذيب تُعرف بأسم الجبهة (Front) والمسافة التي يتحركها مركب من مكونات الخليط تقاس من خط البداية حتى مركز البقعة ويعبر عنها برمز Rf:

$$\mathbf{Rf} = \frac{\text{المسافة التي يقطعها المركب المجهول}}{\text{المسافه التي يقطعها المذيب}} = \frac{\mathbf{A}}{\mathbf{B}}$$

Rf: **R**etardation **F**actor (عامل الاعاقة)

ان مقدار Rf يعبر عن صفة مميزة لكل مركب عند تثبيت ظروف التجربة .هناك نوعان من كروماتوغرافيا الورق:

(1) الكروماتوغرافيا الهابطة: Descending chromatography

وفيها ينتقل المذيب على الورق بفعل الجاذبية (والخاصية الشعرية) اي من الاعلى الى الاسفل.

(2) الكروماتوغرافيا الصاعدة: Ascending chromatography

فيها ينتقل المذيب على الورق بفعل الخاصية الشعرية من الاسفل الى الاعلى وهي الطريقة المفضلة.

Procedure:

اقطع ورقة ترشيح(No 1)بشكل شريط عرضه أقل من عرض انبوبة الاختبار ثم أشر بقلم الرصاص(لاتستخدم قلم حبر او جاف)خط على بُعد (2Cm)من أحد حافتيها وضع نقطة في منتصف الخط ، بعد ذلك خذ بواسطة انبوبة شعرية محلول الحامض الاميني وضعهُ على النقطة بحيث تكون البقعة على اصغرها.جفف واعد العملية حتى تنقل كمية مناسبة من المحلول في اصغر بقعة ممكنة.ضع قليل من خليط محلول المذيب (1-2ml) في قعر انبوبة الاختبار ثم اغمر الجزء الاسفل من الشريط المحمل بالنموذج في محلول المذيب في الانبوبة (بحيث تكون بقعة النموذج فوق مستوى سطح المذيب).سد الانبوبة بواسطة فلينه واتركها لمدة نصف ساعة (الى ان يصعد المذيب اكثر من نصف المسافة)ومن ثم ارفع الشريط وأشر بالقلم الرصاص الحد الذي وصل اليه المذيب ثم جفف الشريط في فرن درجة حرارته(110c°)وبعد ذلك رُشه بواسطة رشاش يحتوي على محلول النهيدرين(كاشف عام عن جميع الاحماض الامينية حيث يلون الحامض الاميني) ،جفف ثانية فتظهر بقعة الحامض الاميني في موقعها المناسب على الشريط بعد ذلك احسب قيمة Rf واستدل منها على الحامض الاميني المجهول.