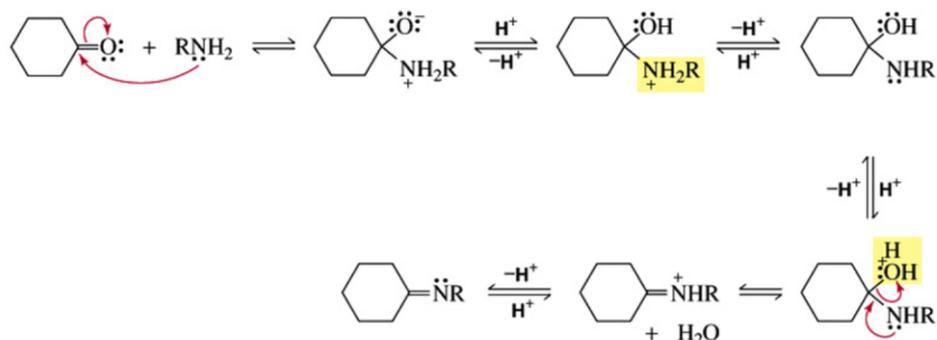
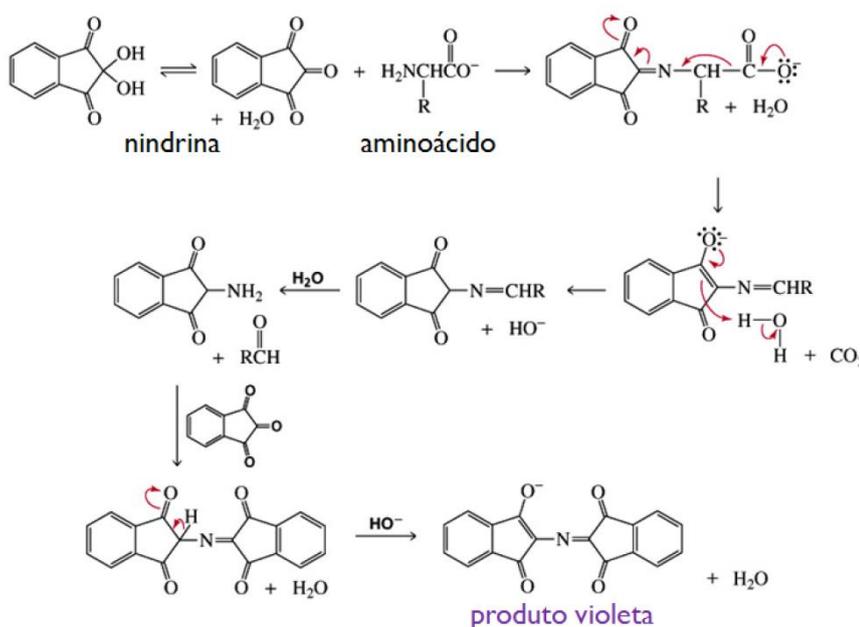


TESTE DA NINHIDRINA

A reação da ninhidrina detecta a presença do grupo α -amino livre dos aminoácidos, do grupo amino terminal de peptídeos e proteínas e do grupo ϵ -amino da lisina. Ela segue o mecanismo de adição do nitrogênio nucleofílico à aldeídos e cetonas, onde é formada uma imina (Figura 1). No caso da prolina que é uma amina secundária a reação é um pouco diferente, formando uma enamina ao invés de formar a imina.

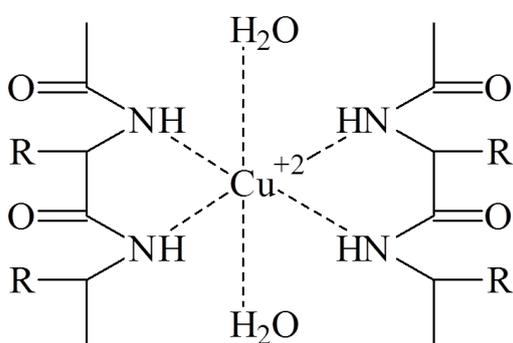


Em seguida ocorre uma descarboxilação devido à presença do grupo carboxilato ligado ao C- α , gerando uma nova imina, que hidrolisa formando um derivado da ninhidrina aminado. Esse derivado da ninhidrina adiciona à outra molécula de ninhidrina formando como produto uma imina de coloração violeta (Figura 2), sendo que a cor é proporcional à concentração. Iminoácidos prolina e 4-hidroxiprolina formam produtos amarelos, pois a enamina é amarela e não sofre a reação com outra molécula de ninhidrina



TESTE DO BIURETO

O *Teste do Biureto* é um teste geral para proteínas e peptídeos com mais de dois aminoácidos. A reação do Biureto é o resultado da formação de um complexo entre Cu^{2+} e as proteínas ou peptídeos com mais de dois aminoácidos. As ligações peptídicas são ligações amida, e o par de elétrons dos átomos de nitrogênio das amidas encontram-se disponíveis, podendo servir de ligante para o átomo de cobre II. O sulfato de cobre II em meio alcalino apresenta coloração azul clara, na presença de proteínas ou peptídeos forma produto violeta caracterizando a formação do complexo de coordenação entre o cobre e os átomos de nitrogênio das ligações peptídicas adjacentes, agindo como um ligante bidentado (Figura 4). Os dipeptídeos dão reação negativa por apresentarem apenas uma ligação peptídica. Os aminoácidos também dão reação negativa por não apresentarem ligação peptídica. Os grupos amino livres não coordenam com o cobre, pois em pH 7,0 encontram-se protonados na forma de $-\text{NH}_3^+$, não tendo elétrons disponíveis para doar.



TESTE DE HELLER

Este teste serve para identificar a presença de proteínas por desnaturação devido à acidez do meio. As proteínas globulares podem ser solúveis em água desde que em sua estrutura terciária seus grupos hidrofílicos estejam posicionados para fora e seus grupos hidrofóbicos posicionados para o interior da proteína. Uma das forças que mantém a estrutura terciária da proteína é a atração eletrostática entre os íons positivos de aminoácidos como Lys e Arg e os íons negativos de aminoácidos como Glu e Asp. Ao acidificar o meio os íons carboxilato de Asp e Glu são protonados ($-\text{COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow -\text{COOH}$), perdendo sua carga negativa. Isto quebra as interações eletrostáticas, desorganizando a estrutura terciária da proteína e expondo dessa maneira os grupos hidrofóbicos, tornando a proteína insolúvel em água. O meio ácido também hidrolisa as ligações peptídicas quebrando a estrutura primária. A adição de ácido nítrico concentrado portanto desnatura a proteína formando um anel branco de proteína precipitada na interface entre a solução e o ácido.