

البروتينات PROTEINS

المواد البروتينية : هي مواد عضوية معقدة التركيب تحتوي على عناصر الكربون والهيدروجين والأكسجين وأحياناً على الكبريت والفسفور وهي تنتج من اتحاد عدد كبير من الأحماض الأمينية مع تكوين أصرة ببتيدية بين كل حامض أميني والحامض الذي يليه. وتكون على صيغتين مثل الفا الكلايسين وبيتا او تكون اروماتية مثل فينيل الاينين

ويعتبر البروتين المكون الرئيسي للمادة الحية البروتوبلازم ويكون النروجين 16% (من وزن البروتين ترجع اهمية الاحماض الامينية لكونها تدخل في تركيب الخلايا الحية لجميع الكائنات

تنقسم الاحماض الامينية الى اربعة أقسام حسب عدد مجاميع الامين والكاربوكسيل ايهما اكثر قد يكون حامضياً أو قاعدياً أو متعادلاً كاره للماء وقسم يحتوي على مجموعة الهيدروكسيد OH والسلفاهيدريل SH تسمى محبة للماء

للبروتين ثلاث تراكيب اولي وثانوي وثلاثي

تقسم المواد البروتينية إلى ما يلي :-

1- بروتينات بسيطة : وهي البروتينات التي عند تحللها المائي تعطي أحماض - امينية فقط مثل الالبومينات ،الكلوبولينات .

2- البروتينات المركبة : وهي البروتينات التي عند تحللها المائي تعطي أحماض - امينية ومجموعات كيميائية ليس لها صلة بالبروتين مثل الفوسفوبروتينات،كلوكوبروتينات ،كروموبروتينات .

3- البروتينات المشتقة : وهي البروتينات التي تنتج من التحلل المائي للبروتينات -البسيطة مثل ميتابروتين ، بيتونات، ببتيدات ، الجلوتين

الاختبار التي تستخدم للكشف عن البروتينات والاحماض الامينية

1- اختبار الننهايدرن Ninhydrintest

الهدف: يعد أهم الاختبارات اللونية العامة للكشف عن الأحماض الأمينية من النوع ألفا α .

الاساس العلمي للاختبار:

يتفاعل الننهايدرن مع جميع الأحماض الأمينية من النوع ألفا (α) المحتوية على مجموعة أمين حره (حيث أن مجموعة الأمين مرتبطة بذرة الكربون α) عند درجات حرارة عالية لتكوين المركب الوسطي هيدرين-دانتين والنشادر ويتصاعد ثاني أكسيد الكربون. ثم يتفاعل الهيدرين دانتين والنشادر مع جزئ آخر من الننهايدرين معطياً معقداً بنفسجي/أزرق اللون (blueviolet). يستثنى من ذلك الحمض الأميني برولين حيث يعطي لون أصفر

طريقة العمل

اضف في كل أنبوبة 1مل من محلول الحامض الاميني

• أضف 1 مل على كل أنبوبة من محلول الننهدرين.

• رج جيداً ثم ضعها في حمام مائي 5 دقائق ثم دَوّن ملاحظات



2 - اختبار الزانثوبروتين Xanthoprotintest

الهدف: يستخدم هذا الاختبار للكشف عن حلقة البنزين الموجودة في الأحماض الأمينية العطرية (الأروماتية-) التايروسين و التريبتوفان .

الاساس العلمي للاختبار:

تتفاعل الأحماض الأمينية العطرية المحتوية على حلقة بنزين مع حمض النيتريك المركز (عند درجات حرارة عالية) خاصة التايروسين ودرجة أقل التريبتوفان (مانحا إياه مجموعة) NO₂ (ترتبط مع حلقة البنزين، وتسمى هذه العملية النيترة) Nitration (

التي ينتج عنها ظهور لون أصفر واضح .

قوة التامل:

1- ضع في كل أنبوبة 3 مل من محلول الحمض الأميني .

٢ - أضف 1 مل من حمض النتريك المركز (بحدز) ورج جيداً ثم سخن الأنبوبة لمدة دقيقة (لون أصفر)

3- أضف 5 قطرات من هيدروكسيد الصوديوم المركز 1 • مولار.

ملاحظات:

1 -على الرغم من ان الفينيل ألانين (Phenylalanine) حمض اروماتي إلا أنه لا يعطي نتيجة إيجابية لأن حلقة البنزين غير نشطة . -جميع الفينولات تعطي نتيجة إيجابية في هذا الاختبار



3- اختبار ساكاجوتشي Sakaguchitest

الهدف: هو اختبار خاص يكشف عن (مجموعة الكوانيديين) Guanidine (و التي تشكل جزء من الحمض الأميني Arginine .) التعرف على حامض الأرجينين و تمييزه عن باقي الأحماض الأمينية

الاساس العلمي للاختبار:

تتفاعل مجموعة الكوانيديين الموجودة في حامض الأرجينين مع ألفا- نافتول في وجود الهيبوبرومايت كعامل مؤكسد فيعطي معقد ذولون أحمر غامق يدل على وجود هذه المجموعة وبالتالي وجود الحامض الأميني Arginine

تعتمد الاختبارات اللونية للمواد البروتينية على وجود الأواصر الببتيدية أو وجود مجاميع كيميائية مميزة في تركيب الأحماض الامينية المكونة للسلسلة البروتينية .

طريقة العمل

- 1- ضع في أنبوبة ٢ مل من محلول الحمض الأميني .
- 2- أضف ٢ مل من هيدروكسيد الصود يوم ثم رج جيداً.
- 3- أضف ٢ مل من ألفا - نافتول.
- 4- أضف 5 قطرات من هيبوبرومات الصود يوم (ماء البروم) ثم رج جيداً.
- 5- اللون الاحمر الغامق (نتجته ايجابية) بينما اللون الاصفر و البن (نتجه سلبية



4- اختبار بيوريت Buret Test

يعتبر كشف عام عن جميع المواد البروتينية لذا يكون موجب مع جميع المركبات البروتينية التي تحتوي على اصرتين من الأواصر الببتيدية على الأقل كما يعطي نتيجة موجبة مع نواتج التحلل المائي للبروتينات حتى مرحلة الببتيدات الثلاثية Tripeptides

أما الببتيدات الثنائية والأحماض الامينية فلا تعطي هذا الاختبار لكون الأحماض الامينية لا تحتوي على أصرة ببتيدية والببتيدات الثنائية تحتوي على أصرة ببتيدية واحدة النتيجة الموجبة لاختبار بيوريت هي تكون مركب معقد يسمى – Copper- Potasium (or sodium) Complex الذي يكون بنفسجي اللون .

5- الكشف عن الأحماض الأمينية التي تحتوي على الكبريت

الهدف: هذا الإختبار مميز للأحماض الأمينية المحتوية على مجموعة الكبريت في المجموعة الطريفية مثل: السيستين، الميثونين

الاساس العلمي للاختبار:

تسخين الأحماض الأمينية التي تحتوي على كبريت مع هيدروكسيد الصوديوم (قاعدة) يحول الكبريت العضوي الى كبريت غير عضوي و الذي يتفاعل مع أسيتات الرصاص معطيا راسب أسود من كبريتيد الرصاص.



6- ترسيب البروتينات بالفلزات الثقيلة

تتفاعل البروتينات مع الفلزات الثقيلة وتكون مركبات معقدة لا تذوب في الماء وتترسب (مثل كلوريد الزئبقيك و نترات الفضة و خلات الرصاص

طريقة العمل

ضع 1مل من المحلول البروتيني في انبوبة اختبار و اضف 1مل من كلوريد الزئبق و لاحظ ماذا يحدث في الانبوبة

7- ترسيب البروتينات بالقلويات مثل حامض البكريك

طريقة العمل

ضع 1مل من المحلول البروتيني في انبوبة اختبار و اضف اليه 1مل من حامض البكريك المشبع

8- أختبار ميلون Million test

الهدف: هو اختبار خاص للكشف عن مجموعة الهيدروكسي فينايل.

الاساس العلمي للاختبار:

تفاعل مجموعة الهيدروكسي فينايل في الحمض الأميني التيروسين مع كاشف ميلون (هو عبارة عن أيونات الزئبق مذابة في أحماض النترات) في تكون راسب بني مُحَمَّر من أملاح الزئبق.

طريقة العمل: ضع 2مل من المحلول البروتيني في انبوبة اختبار و اضيف اليه 3-5 قطرات من كاشف ميلون و لاحظ ظهور راسب ابيض يتحول بني محمر بالغليان.

هذا الكاشف إيجابي أيضا مع مركبات الفينول



9- اختبار ارليش للهستدين (الكشف عن الهستدين)

يعتمد هذا الاختبار على تفاعل حامض السلفونيك مع الفينولات او الاميدازولات ولهذ السبب الاختبار يعطي نتيجة موجبة مع التايروسين او الهستدين ولكنه خاص بالهستدين او يعطي لوناً ورديا واضحا

10- اختبار الذوبانية solubility of amino acid

الهدف: اختبار ذوبان الأحماض الأمينية في المحاليل القطبية و الغير قطبية و الأحماض و القواعد للاستدلال على السلوك القطبي و الخاصية الأمفوتيرية.

الاساس العلمي للاختبار:

تذوب الأحماض الأمينية في الماء لارتباط جزيئاتها المستقطبة بجزيئات الماء القطبية، ووجود المجموعات القاعدية ($+NH_3$) و الحامضية ($-COO$) تسهل ذوبان الأحماض الأمينية في القواعد و الأحماض

11- تفاعل سانجر

إذا كان لدينا محلول لنوع واحد أو أكثر من الأحماض الأمينية وأردنا معرفة هوية هذه الأحماض الأمينية، فإننا نلجأ (A.A). إلى تفاعل سانجر الذي يمكننا من معرفة هذه الأحماض الأمينية المجهولة. يعتمد هذا التفاعل على تفاعل مادة $(-2,4\text{-Fluoro-1-FDNB})$ dinitrobenzene

مع مجموعة الأمين (Sanger reagent) ، كاشف سانجر الطرفية للألفا أحماض أمينية)

تفاعل كاشف سانجر مع (α) مجموعة الأمين لحمض أميني طرفي يعطيني مشتق أصفر هو



يمكن أن نستخلص و نتعرف على هذا الحمض الأميني عن (DNP – AA) الموجود على هيئة (DNP المرتبط ببقية الأحماض الأمينية الأخرى الموجودة حرة في المحلول بواسطة الكروماتوجرافي (DNP) (الغير مرتبطة بال و ذلك بسبب إختلاف ذوبانية عن ذوبانية بقية DNP هذا الحمض الأميني المرتبط بالأحماض الأمينية الأخرى الموجودة في المحلول