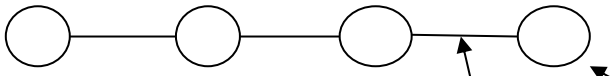
الفصل الثالث

البروتينات PROTEINS

المواد البروتينية : مواد عضوية معقدة التركيب تحتوي على عناصر الكربون والهيدروجين والأوكسجين وأحيانا على الكبريت والفسفور ،

وهي تنتج من اتحاد عدد كبير من الأحماض الامينية مع تكوين آصرة ببتيدية بين كل حامض أميني والحامض الذي يليه .



ويعتبر البروتين المكون الرئيسي للمادة الحية البروتوبلازم ويكون النتروجين (16%)من وزن البروتين .

تقسم المواد البروتينية إلى ما يلي :-

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

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 ، ببتونات، ببتيدات ، الجلاتين.

ترسيب البروتينات

1-الترسيب بواسطة المعادن الثقيلة

تترسب البروتينات بواسطة المعادن الثقيلة وقد استخدمت هذه الطريقة في معالجة حالات التسمم بالمعادن الثقيلة حيث انه عند حدوث تسمم بواسطة المعدن الثقيل يمكن استخدام زلال البيض كترياق حيث يترسب المعدن الثقيل على شكل البومينات الفلز الثقيل الذي يخرج مع البراز دون امتصاصه وبذلك يفقد المعدن الثقيل سميته .

إذن هناك عدد كبير من البروتينات تترسب بواسطة ايونات المعادن الثقيلة عن طريق تكوين الأملاح البروتينية لهذه المعادن الثقيلة وهي مركبات غير ذائبة . ويمكن استخدام البيض النيئ وخاصة بياض البيض الذي يرسب المعدن الثقيل . وصناعيا تستخدم بعض المعادن في ترسيب البروتينات كما في حالة دباغة الجلود مثل الكروم وتسمى هذه الحالة بالدباغة المعدنية .

2-الترسيب باستخدام الأحماض العضوية وغير العضوية

أ- استخدام حامض السالسلبك (20%) حيث يتكون راسب ابيض ويعتبر هذا كشف عن وجود الألبومين في الإدرار .

ب-استخدام كاشف أسباخ (حامض الكبريتيك +حامض الستريك) حيث يتكون راسب اصفر ويستخدم هذا الاختبار لتحديد كمية الألبومين في الإدرار

جـ-استخدام حامض البكريك المشبع .

د-استخدام تنكستات الصوديوم (10%)

هـ- استخدام حامض التانيك .

و- استخدام حامض الخليك في صناعة الجبن

3-ترسيب البروتينات باستخدام الاملاح المعدنية

كبريتات الامونيوم :-

تعتبر كبريتات الامونيوم من المرسبات القوية للبروتينات أكثر من كلوريد الصوديوم أو كبريتات المغنيسيوم . عند إضافة كميات مناسبة من الملح إلى محلول البروتين مثل كبريتات الامونيوم الجاف أو محلولة فيقال حدوث ترسيب بالتشبع النصفي بواسطة كبريتات الامونيوم إذا حدث الترسيب بإضافة حجم من محلول كبريتات الامونيوم المشبع إلى حجم من محلول البروتين وفي هذه الحالة الراشح لا يعطي اختبار بيوريت لانفصال البروتين على ورق الترشيح .

أما الترسيب بالتشبع الكامل يحدث بإضافة كبريتات الامونيوم الصلبة حتى تبقى كميات غير ذائبة وأيضا في هذه الحالة لا يعطي الراشح اختبار بيوريت لانفصال البروتين على ورق الترشيح .

في هذا النوع من الترسيب (الأملاح المعدنية) لا يحدث تغير في جزيء البروتين فنلاحظ إن البروتين المترسب يذوب مرة أخرى في مذيباته مثل الماء . أما البروتين المترسب بالكحول أو بالتجلط الحراري لا يذوب في مذيباته التي كان ذائبا فيها لان الترسيب بها يحدث تغير في طبيعة البروتين .

4-الترسيب باستخدام الكحول الاثيلي

الكحول لايرسب البروتينات ترسيبا كاملا والراسب المتكون لا يذوب في المذيب الأصلي لان الكحول يغير من طبيعة جزيء البروتين لذا يعتبر ترسيب البروتينات باستخدام الكحول غير كفوء مقارنة بالأملاح المعدنية الثقيلة لكونه يكون جزيئا.

5-الترسيب باستخدام الأحماض المعدنية المركزة

حامض الكبريتيك، حامض النتريك

يرسب حامض النتريك المركز البروتين (الألبومين) ويستفاد من هذه الخاصية في الكشف عن وجود البروتين في البول حيث تتكون عند سطح الانفصال عند إضافة حامض النتريك المركز على جدران الأنبوبة حلقة بيضاء نتيجة لترسيب الألبومين ويسمى هذا الاختبار باختبار هيلر ، والراسب المتكون يصعب اذابتة في الزيادة من الحامض . أما حامض الكبريتيك والهيدروكلوريك فترسب البروتين ولكن الراسب يذوب بإضافة زيادة من الحامض المركز.

الاختبارات اللونية للمواد البروتينية

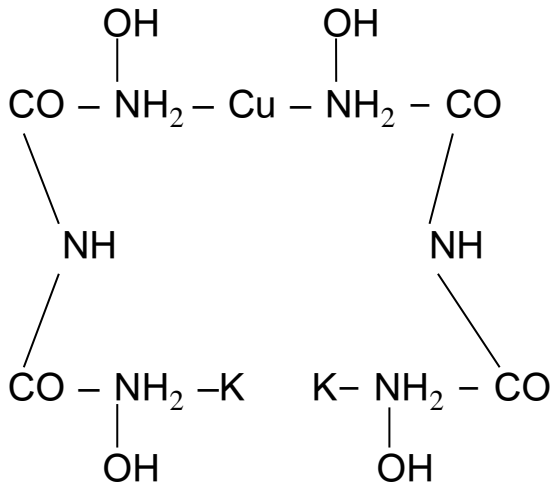
تعتمد الاختبارات اللونية للمواد البروتينية على وجود الأواصر الببتيدية أو وجود مجاميع كيمياوية مميزة في تركيب الأحماض الامينية المكونة للسلسلة البروتينية.

1-**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 آصرة ببتيدية والببتيدات الثنائية تحتوي على آصرة ببتيدية واحدة النتيجة الموجبة لاختبار بيوريت هي تكون مركب معقد يسمى

Copper– Potasium (or sodium) – Complex

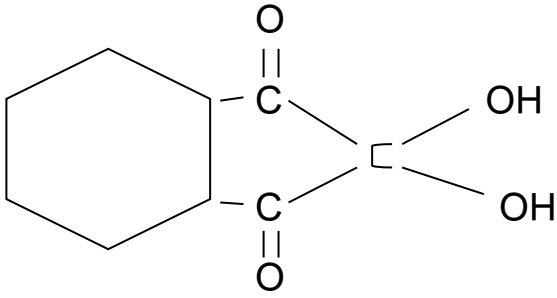
الذي يكون بنفسجي اللون .



Copper– Potasium (or sodium) – Complex

2 – اختبار النـنهيدرين Ninhydrine

يعتبر هذا الاختبار عام لجميع البروتينات والأحماض الامينية حيث يتفاعل مركب النـنهيدرين مع الأحماض الامينية بالتسخين فيتصاعد غاز CO_2 ويتلون المحلول بلون ازرق أو بنفسجي .



الصيغة البنائية لـ Ninhydrin

3 – اختبار الزانثوبروتين

يعتمد هذا الاختبار على وجود حلقة البنزين في تركيب الحامض الاميني فهو كشف خاص بالأحماض الامينية الاوروماتية مثل التايروسين، فينيل النين، التربتوفان ، حيث يعتمد هذا الاختبار على نيترة حلقة البنزين (إدخال مجموعة النترو NO_2 في حلقة البنزين) الموجودة في هذه الأحماض الامينية ، كما يعطي الاختبار نتيجة موجبة مع جميع المركبات الاروماتية .

النتيجة الموجبة هي تكون اللون الأصفر عند غلي البروتين مع حامض النتريك الذي يتحول إلى اللون البرتقالي عند إضافة هيدروكسيد الصوديوم.

وهذا ما يفسر تلون الجلد باللون الأصفر عند ملامسته لحامض النتريك لتفاعله مع الأحماض الامينية الاروماتية الداخلة في تكوين الجلد،

ملاحظة:- يظهر راسب ابيض عند إضافة حامض النتريك إلى محلول البروتين نتيجة لترسيب الميتابروتين في حالة الألبومين. كما يلاحظ بأن الجيلاتين لا يعطي نتيجة موجبة مع الكشف لعدم احتوائه على الأحماض الامينية الاروماتية .

4-اختبار ميلون Millons Test

يستخدم هذا الاختبار للكشف عن وجود الحامض الاميني التايروسين لكونة الحامض الاميني الوحيد الذي يحتوي على مجموعة الفينول كما يعطي الاختبار نتيجة موجبة مع البروتينات الحاوية على هذا الحامض الاميني كما يعتبر هذا الاختبار كشف عام عن جميع الفينولات مثل حامض السالسليك .

النتيجة الموجبة للاختبار هو تكون اللون الأحمر أو الراسب الأحمر.

لا يعطي الجيلاتين نتيجة موجبة مع الاختبار لعدم احتوائه على الحامض الاميني الفايروسين .

عدم إضافة كمية زائدة من محلول ميلون لانه يؤدي إلى اختفاء اللون الأحمر بالغليان.

5 - اختبار هوبكنز كول

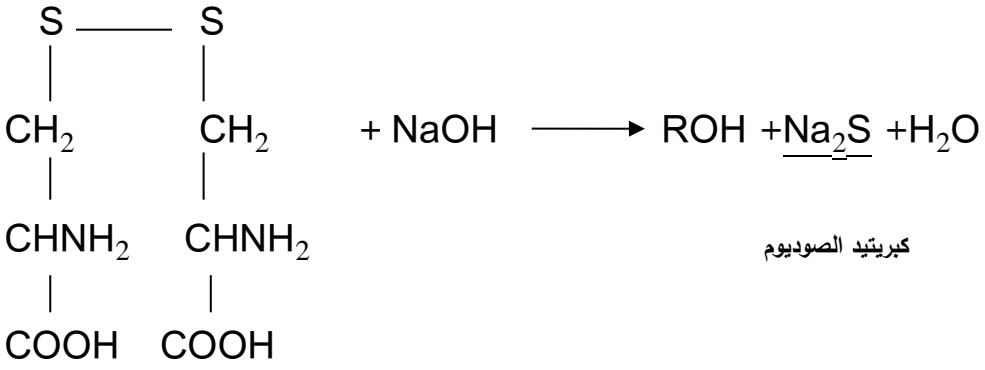
يستخدم هذا الاختبار للتعرف على وجود الحامض الاميني التربتوفان لكونه الحامض الاميني الذي يحتوي على حلقة الاندول في تركيبة.

لا يعطي الجيلاتين نتيجة موجبة مع الاختبار لعدم احتوائه على التربتوفان والنتيجة الموجبة هي تكون حلقة بنفسجية بين طبقتي البروتين والحامض.

6 – اختبار الكبريت (خلات الرصاص)

يستخدم هذا الاختبار للتعرف على وجود الأحماض الامينية الحاوية على الكبريت مثل الحامض الاميني السستين و السستئين . وطريقة التفاعل كالآتي :-

1-يتفاعل البروتين مع (NaOH) ، إن الكبريت الموجود في الأحماض الامينية يتفاعل مع القاعدة مكونا كبريتيد الصوديوم .



$$R-SH + NaOH \longrightarrow ROH + Na_2S + H_2O$$

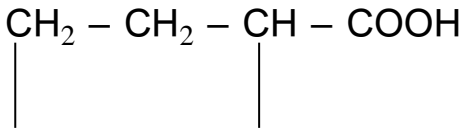
2 – يتفاعل كبريتيد الصوديوم مع خلات الرصاص مكونا كبريتيد الرصاص الأسود اللون

$$Na_2S + (CH_3COOH)_2Pb \rightleftharpoons \underline{PbS} + 2CH_3COONa$$

كبريتيد الرصاص راسب أسود أو رمادي خلات الرصاص

إذن النتيجة الموجبة لكشف الكبريت هو ظهور راسب اسود أو رمادي الذي يدل على وجود الكبريت.

ملاحظة :- الميثيونين يحتوي على الكبريت إلا انه لا يعطي نتيجة موجبة مع اختبار الكبريت كما في الكازين لكون الكبريت غير طرفي في هذا الحامض الاميني .



الصيغة البنائية لـ Methaionine

إذن اختبار الكبريت يعطي نتيجة موجبة في حالة وجود مجموعة

(– S – S –) أو المجموعة (– SH) .

6-اختبار باولي (جاولي)

يستخدم هذا الاختبار للتعرف على وجود الحامض الاميني التايروسين أو الحامض الاميني الهستدين حيث إن الأول يحتوي على مجموعة الفينول والثاني يحتوي على مجموعة الاميدازول والنتيجة الموجبة للكشف هو ظهور اللون الأحمر المكتوم أو الغامق الذي يدل على وجود هذه الأحماض الامينية.