تقدير البروتين الخام فى مواد العلف

يقصد بالبروتين الخام البروتين الحقيقي والمواد النيتروجينية الغير بروتينية (البروتين الغير حقيقي) مثل أملاح الامونيوم واليوريا والأحماض الامينية الحرة والببتيدات .

فكرت التقدير :

هناك عدة طرق لتقدير البروتين الخام إلا أن أوسع الطرق انتشارا هي طريقة كلداهل والفكرة الأساسية بها هضم المواد الغذائية بها بحامض الكبريتيك المركز الذي يحولها إلي CO_2 و O_2 و H الذي يتأكسد جزء منه بواسطة الأكسجين ويتحول إلي ماء ، أما الازوت فيتحول مع الجزء الباقي من الهيدروجين إلي امونيا وهذه تتفاعل مع حامض الكبريتيك مكونتا كبريتات امونيوم ، وبطبيعة الحال فان جميع المواد الغير عضوية الموجودة في المادة الغذائية تتحول إلي أملاح كبريتات . بعد عملية الهضم تقطر كبريتات الامونيوم الناتجة مع إضافة زيادة من محلول الصودا الكاوية ٤٠ % أي كمية كافية لمعادلة حامض الكبريتيك المركز المضاف سابقا وتتحول كبريتات الامونيوم عند التسخين إلي امونيا فتتصاعد وتستقبل في قابلة تحتوي علي كمية معلومة من حامض الكبريتيك المخفف الذي يتفاعل جزء منه معها مكونا كبريتات امونيوم . والجزء الذائب من الحامض يمكن معادلتة بمحلول صودا كاوية مخفف وبذلك نستطيع معرفة الكمية من حامض الكبريتيك المخفف التي تعادلت مع الامونيا المنفردة من المادة الغذائية .

بعض العوامل المساعدة التي تستخدم عند تقدير البروتين الخام :

تحتاج عملية الهضم إلي عامل مساعد للإسراع في إكمالها علي الوجة الأكمل وتستعمل عدة مواد أهمها :

١- كبريتات النحاس وهي تستعمل بكثرة ولكن عيبها الوحيد إذا استعملت بتركيز عالي فأنها تتحد مع الامونيا الناتجة مكونة معقد يصعب تحللة (كبريتات امونيوم) .

٢- الزئبق من أحسن المواد خاصتا لو استعمل مع كبريتات النحاس وهو أيضا يتحد مع الامونيا مكونا معقدات لذلك عند استعماله في الهضم يضاف بعد عملية الهضم ثيو كبريتات الامونيوم لتكسير المعقدات .

٣- السلينيم يعتبر أحسن العوامل المساعدة لو استعمل بنسب مضبوطة مع كبريتات النحاس وله عيب واحد أنة إذا طالت مدة الهضم يؤدي إلي فقد الامونيا في صورة نيتروجين .

٤- مخلوط الهضم وهو مخلوط من كبريتات نحاس و كبريتات بوتاسيوم نبسبة ١ : ٤ ويضاف ٠,٥٧ جرام أكسيد سيلينم -أو ١,٨ سيلينات صوديوم لكل ٤٠٠ جرام من هذا المخلوط .

فائدة كبريتات البوتاسيوم :

بطبيعة الحال فان كبريتات النحاس وأكسيد السيلينيوم هي العوامل المساعدة الموجودة في المخلوط أما كبريتات البوتاسيوم ففائدتها رفع درجة غليان التفاعل وهذا من شأنة الإسراع من عمليات الهضم .

عيوب طريقة كلداهل :

تعتبر طريقة كلداهل طريقة أساسية تقارن بها الطرق الاخري إلا أنها لا تخلو من العيوب وأهمها

١- أن حساب البروتين علي أنة النيتروجين مضروبا في ٦,٢٥ فية خطا قد يكون كبير في بعض الأحيان فالمواد الغذائية تحتوي علي مواد ازوتية غير بروتينية مثل الامونيا والأحماض الامنية قد تحتوي علي ٨٠ % نيتروجين وبهذا قد يختل تقدير البروتين بطريقة كلداهل لمثل هذه المواد .

٢- البروتينات المختلفة لا تحتوي علي ١٦ نيتروجين بل تختلف النسبة اختلافا كبيرا في أنواع البروتينات المختلفة فالبروتين الحيواني يحتوي علي ١٦,٦٧ % نيتروجين والكازين يحتوي علي ١٥ % نيتروجين أما البروتينات النباتية فقد تحتوي علي ١٦,٤ إلي ١٨,٧ % نيتروجين وحتى البروتين الواحد تختلف نسبة البروتين فية ففي الكازين تختلف النسبة من ١٤,٧ إلي ١٦,٠٤ % علي حسب تصحيح التقدير بالنسبة للرطوبة أو الرماد .

٣- يعتري تقدير البروتين الكلي بطريقة كلداهل صعوبات جوهرية أهمها تحديد أحسن العوامل المساعدة وبأفضل النسب وأفضل مده للهضم بحيث لا تؤدي إلي أخطا ء كبيرة .

المحاليل المطلوبة :

١- حامض كبرتيك مركز ٣٧ع.

٢- مخلوط هضم

٣- محلول صودا كاوية ٤٠ %

٤- محلول حامض كبرتيك مخفف ٠,١ع

٥- محلول صودا كاوية مخفف ٠,١ع

خطوات العمل :

تنقسم عملية تقدير البروتين بطريقة كلداهل إلي طريقتين(ماكرو كلداهل – ميكروكلداهل) حسب نوع العينة وتنقسم كل طريقة إلي ٣ مراحل هي علي الترتيب الهضم – التقطير (وحدة الهضم أو وحدة المار كهام) – المعايرة .

وجة المقارنة	ماكرو كلداهل	ماكرو كلداهل
١- نوع العينة	العينات الصلبة مثل (عينات العلف التي تحتوي علي نسبة عالية من البروتين)	العينات السائلة مثل (اللبن – البول – الدم – المحاليل البيولوجية الاخري) أو العينات التي لا يزيد محتواه من البروتين عن ٠,٢ – ٠,٨ %
٢- وزن العينة	٠,٥ جرام	٠,١ جرام أو ٠,٢ مل محلول
٣- مرحلة الهضم	٢٠مل حامض H_2SO_4 مركز + ٥ جرام مخلوط هضم	٢ مل حامض H_2SO_4 مركز +٠,٥ جرام مخلوط هضم
٤- مرحلة التقطير	٧٠-٩٠ مل صودا كاوية ٤٠ % تضاف إلى العينة بوحدة التقطير و ٢٠ مل H_2SO_4 مخفف ٠,١ع و ٣ نقطه من دليل MR في	٧مل صودا كاوية ٥٠ % تضاف إلى العينة بوحدة التقطير و ٢٠ مل دليل حمض البوريك في دورق الاستقبال

	دورق الاستقبال	
٥- مرحلة المعايرة	تعاير الزيادة من الحامض باستخدام صودا كاوية ٠,١ع	تعاير الامونيا باستخدام H_2SO_4 0.1ع
٦- نقطة نهاية التفاعل	زوال اللون الوردي	الوصول إلى اللون البنفسجي
٧- خطوات الحساب	ملي مكافئات الحامض الكلية = ٢٠× ٠,١ =٢ ملي مكافئ ملي مكافئات الحامض المتفاعلة = ملي مكافئات الحامض الكلية – ملي مكافئات الحامض الزيادة ملي مكافئات الحامض الزيادة = ملي مكافئات القاعدة = القراءة × العيارية الفعلية للقاعدة % للبروتين =(ملي مكافئات الحامض المتفاعلة × ٠,٠١٤ × ٦,٢٥) / وزن العينة × ١٠٠	% للبروتين =(القراءة × العيارية × ٠,٠١٤ × ٦,٢٥) / وزن العينة × ١٠٠

ملاحظة :

١- يتكون محلول دليل حمض البوريك من ٢٠ مجم من MR و ٦٠ مجم من دليل أخضر البرومو كريز ول مذابة في ١٠٠ مل كحول إثيلى و ٤٠ جم من بلورات حمض البوريك مذابة في ٤٠٠ مل ماء مقطر ثم يكمل الحجم النهائي إلى ٢ لتر بواسطة الكحول الإثيلى.

٢- كل واحد ملى من حمض الكبريتك يزن ٠,٠١٤ جم نيتروجين . على أساس أن كل ١٠٠٠ ملى مكافئ من حمض الكبريتيك = ذرة واحدة من النيتروجين أي ١٤ جم نيتروجين .

٣- كيفية تحضير كلا من :

أ- H2SO4 عياري 0.1

مثال :

لتحضير ١ لتر 0.1ع H2SO4

الوزن الجزائي الجرامى ٩٨ جم (١٦+٣٢+٢ × ٤)

تكافئ الحمض ثنائي إذا الوزن المكافئ له = ٩٨ /٢ = ٤٩ وهذا لتحضير 1ع H2SO4

ولذي لتحضير 0.1ع H2SO4 لابد من القسمة على ١٠ أي أن الوزن لابد أن يكون ٤,٩ ولكن الحامض في صورة سائلة إذا لابد من تحويل الوزن إلى حجم عن طريق العلاقة بين الكثافة والكتلة والحجم .

حجم الحامض الواجب إستخدامة = ٤,٩/١,٨٤ = ٢,٦٦ مل اى يؤخذ ٢,٦٦ مل حمض H2SO4 ويكمل الحجم إلى لتر باستخدام الماء المقطر.

ب- NaOH عياري 0.1

مثال :

لتحضير ١ لتر 0.1 ع NaOH

الوزن الجزائي الجرامى ٤٠جم (٢٣+١٦+١)

تكافئ الصودا أحادى إذا الوزن المكافئ له = ٤٠ /١ = ٤٠ وهذا لتحضير 1ع NaOH

ولذي لتحضير 0.1 ع NaOH لابد من القسمة على ١٠ أي أن الوزن لابد أن يكون ٤ جم تذاب فى لتر ماء مقطر.

ج- %50 NaOH

لتحضير ١ لتر %50 NaOH

أي أن كل ١٠٠ مل من المحلول بها ٥٠ جم NaOH

إذا كل ١٠٠٠ مل من المحلول بها ٥٠٠ جم NaOH

أي يؤخذ ٥٠٠ NaOH وتذاب في لتر ماء مقطر.