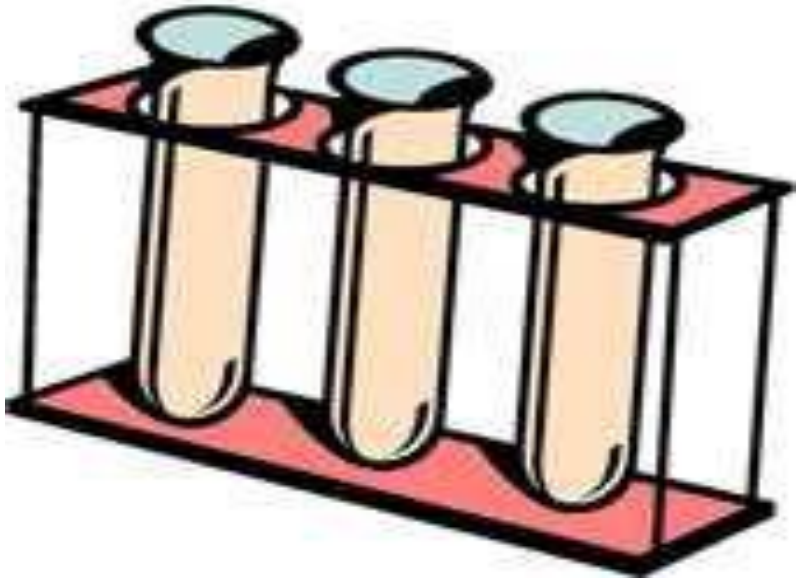
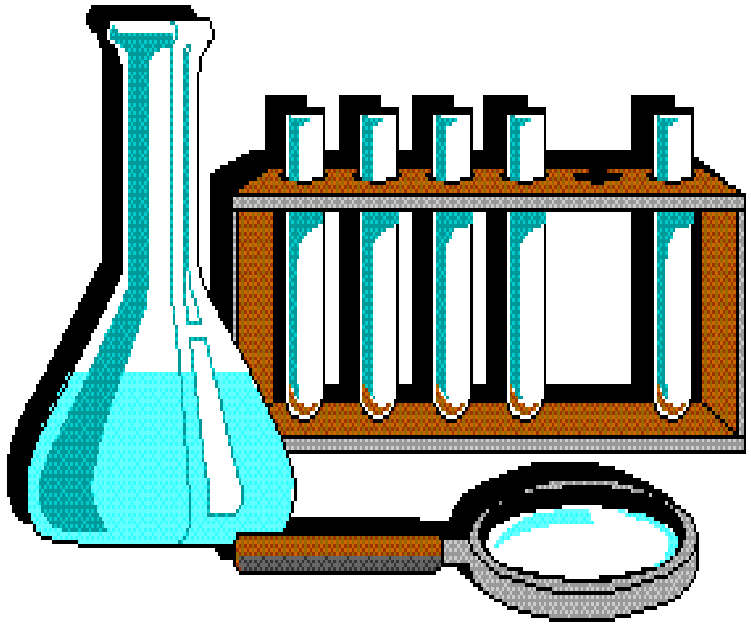
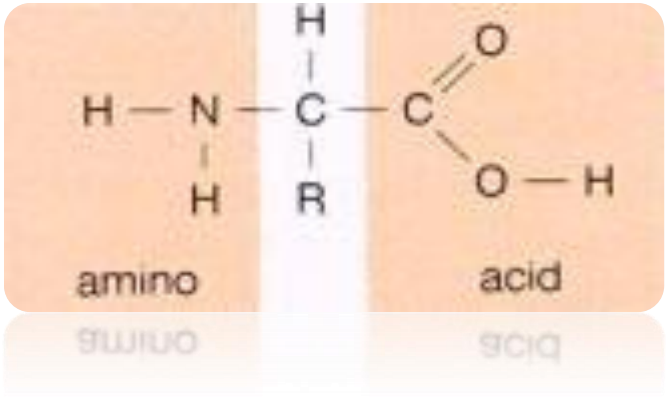
الكيمياء الحيوية العملية

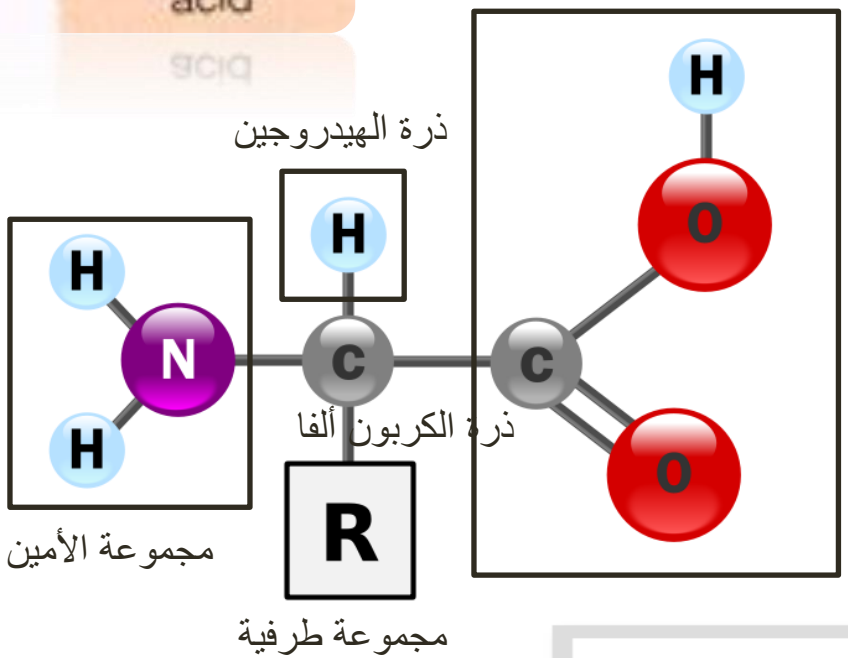


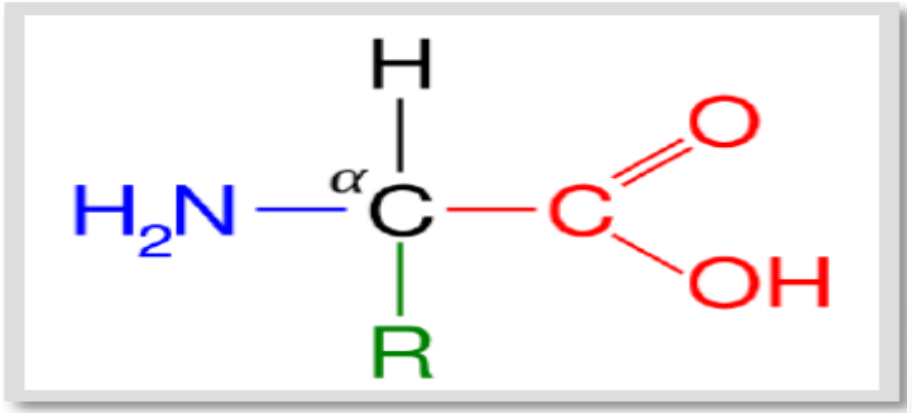


السكشن الرابع
التحليل الوصفى للأحماض الامينية والبروتينات

الأحماض الأمينية
Amino Acids



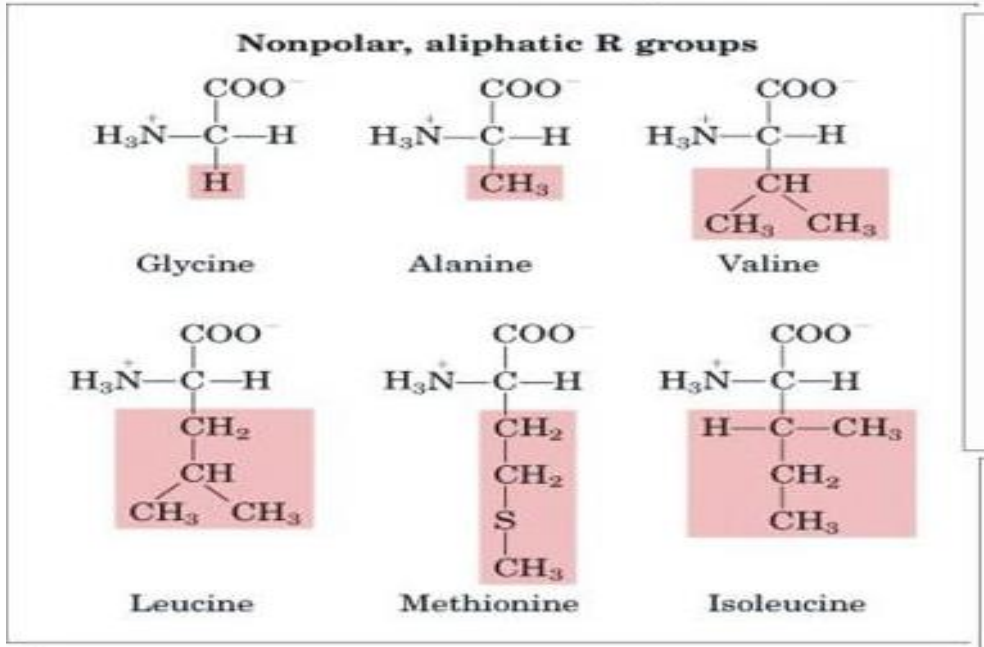


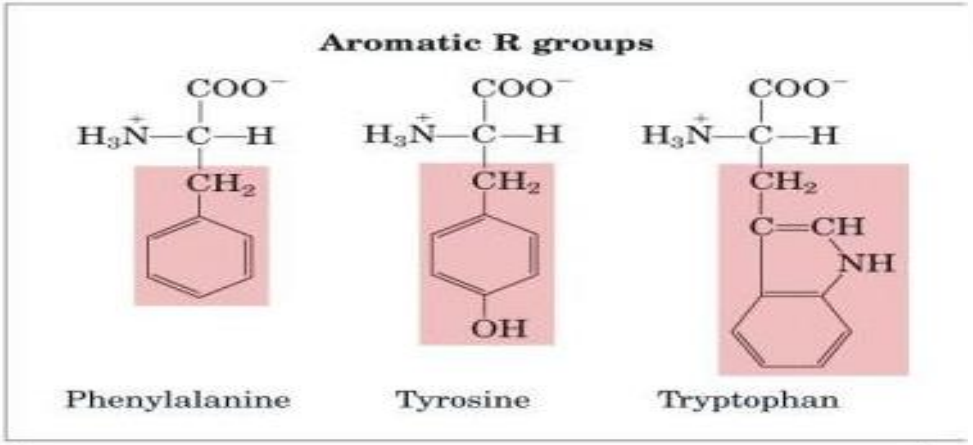


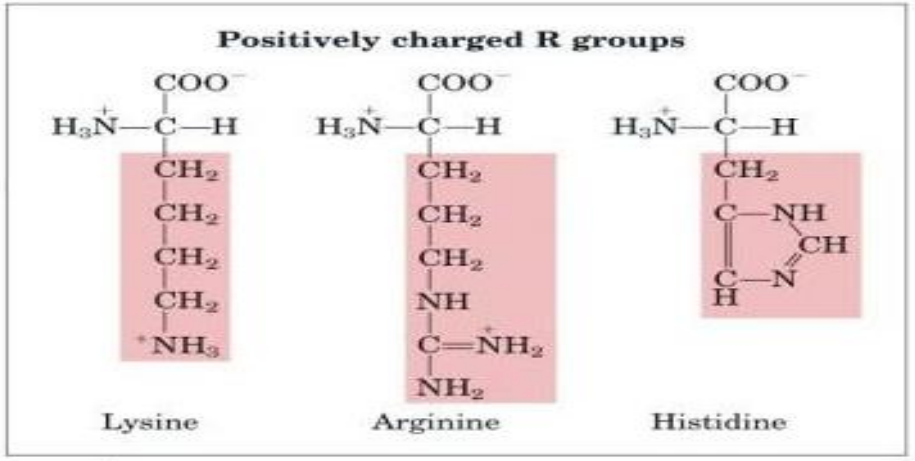
الأحماض الأمينية

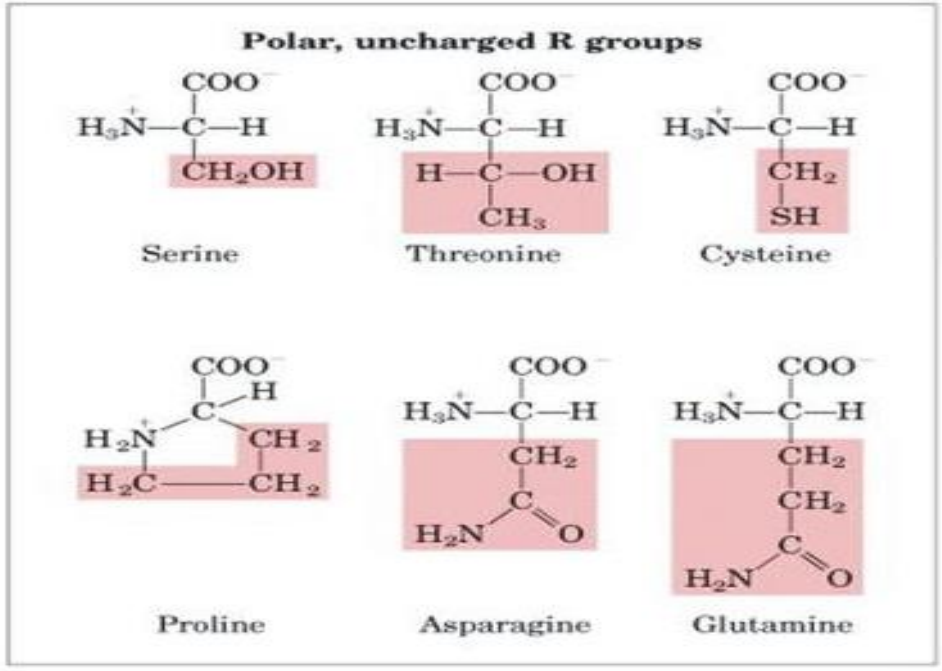
- هي الوحدة الأساسية لبناء البروتين والبيبتيد. وهي مجموعة من المركبات العضوية (أحماض عضوية) التى تتميز بوجود مجموعة أمين ومجموعة كربوكسيل.
- تنقسم إلى:
- أحماض أمينية ضرورية: وهى التى لا يمكن للجسم تخليقها وعددها 8 أحماض مثل ليوسين و مثيونين.
- أحماض أمينية شبه ضرورية: وهى التى يقوم الجسم بتخليقها ولكن بكميات محدودة مثل الهستيدين وارجنين.
- أحماض أمينية غير ضرورية: يمكن تخليقها داخل الجسم، بشرط التغذية السليمة مثل الجليسين و سيستئين.

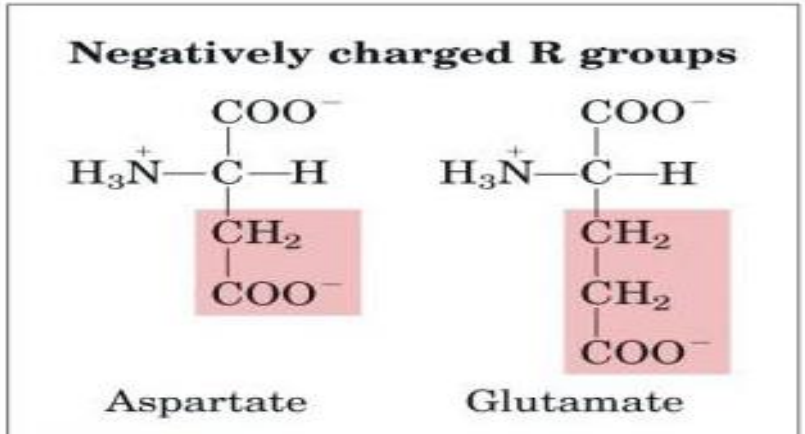
Twenty standard Amino Acids





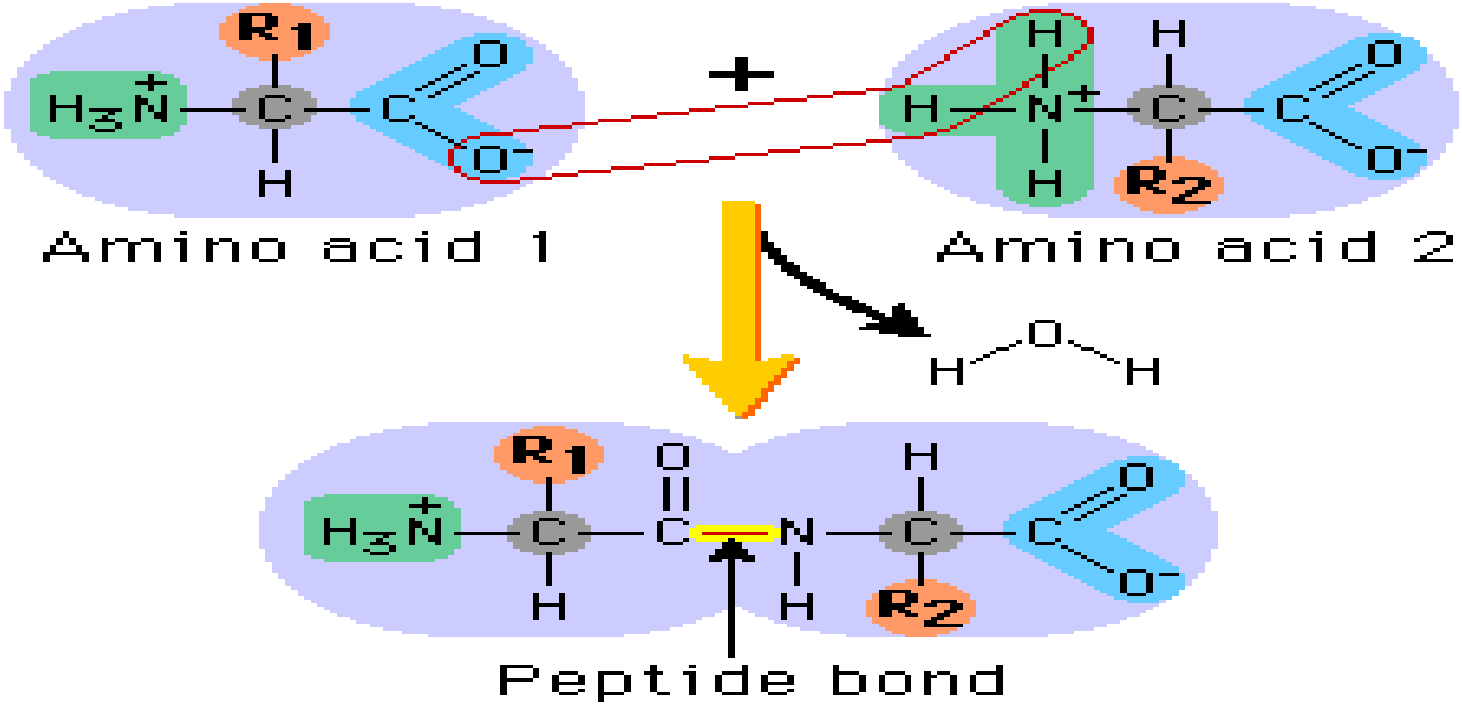






الرابطة الببتيدية:

- ترتبط الأحماض الأمينية مع بعضها بروابط **ببتيدية** ، بتفاعل مجموعة الكربوكسيل لأحد الأحماض الأمينية مع مجموعة أمين لحمض أميني آخر و يصاحب ذلك فقدان جزئ ماء.

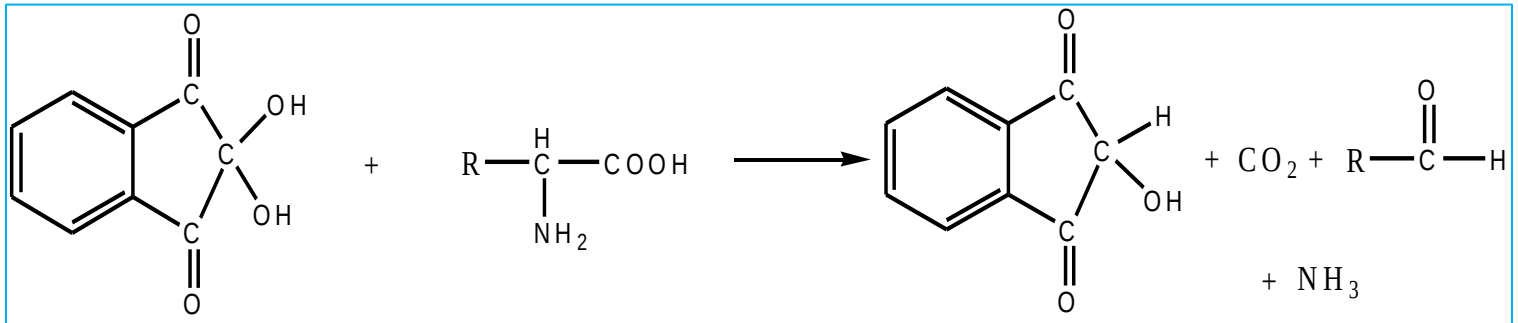


التقدير الوصفي للأحماض الأمينية

أولاً: الإختبار العام

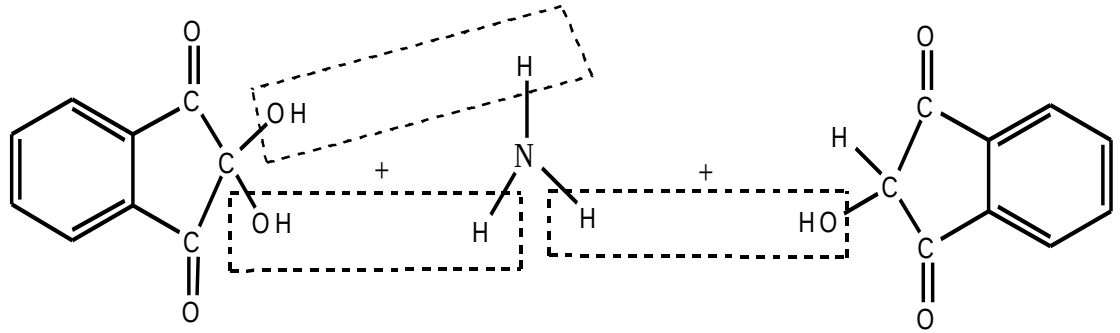
إختبار النـنهيدرين Ninhydrine test

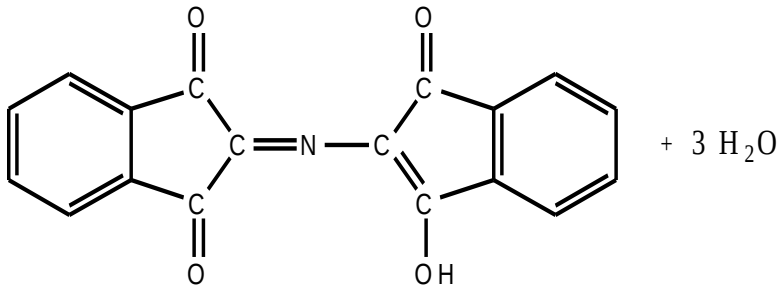
- ويعطى النـنهيدرين معقد بنفسجي مع جميع الاحماض الامينية ما عدا الحمض الأميني البرولين وهيدروكسى برولين يعطي لون أصفر لأن مجموعة الأمين في البرولين غير حرة
- ويستخدم فى التقدير الكمى للاحماض الامينية



Ninhydrin

Reduced Ninhydrin





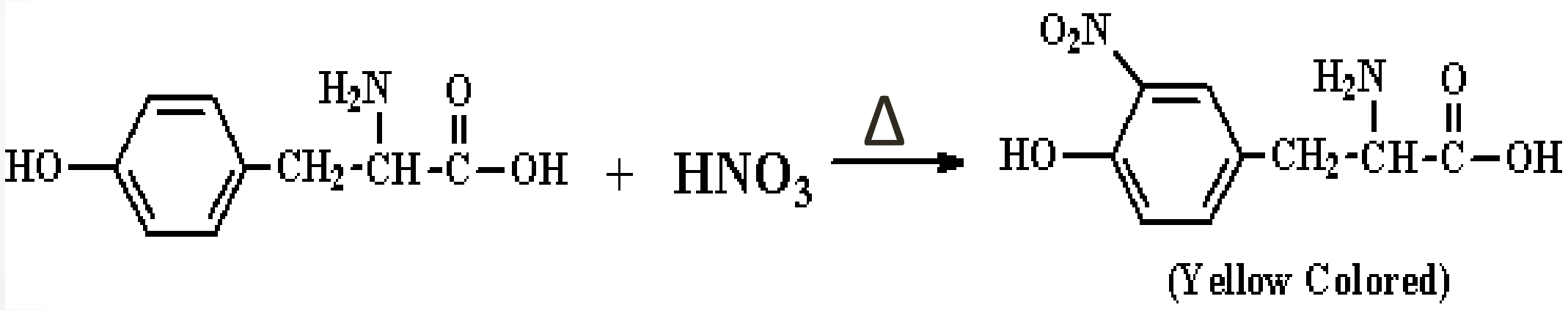
Blue-coloured complex

ثانياً: الإختبارات المتخصصة

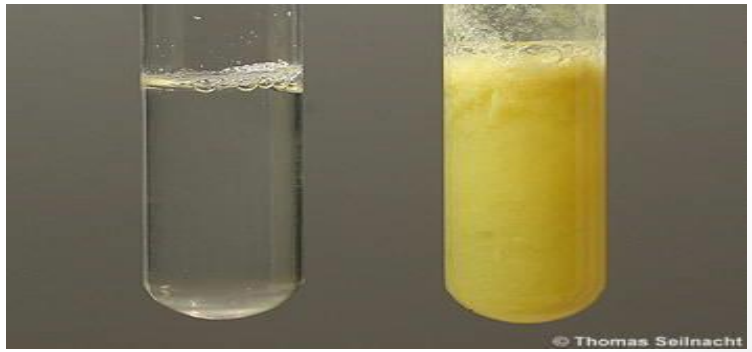
إختبار الزانثوبروتيك Xanthoproteic test

مميز للأحماض الأمينية العطرية

(تربتوفان، تيروزين و فينايل ألانين)



(Yellow Colored)



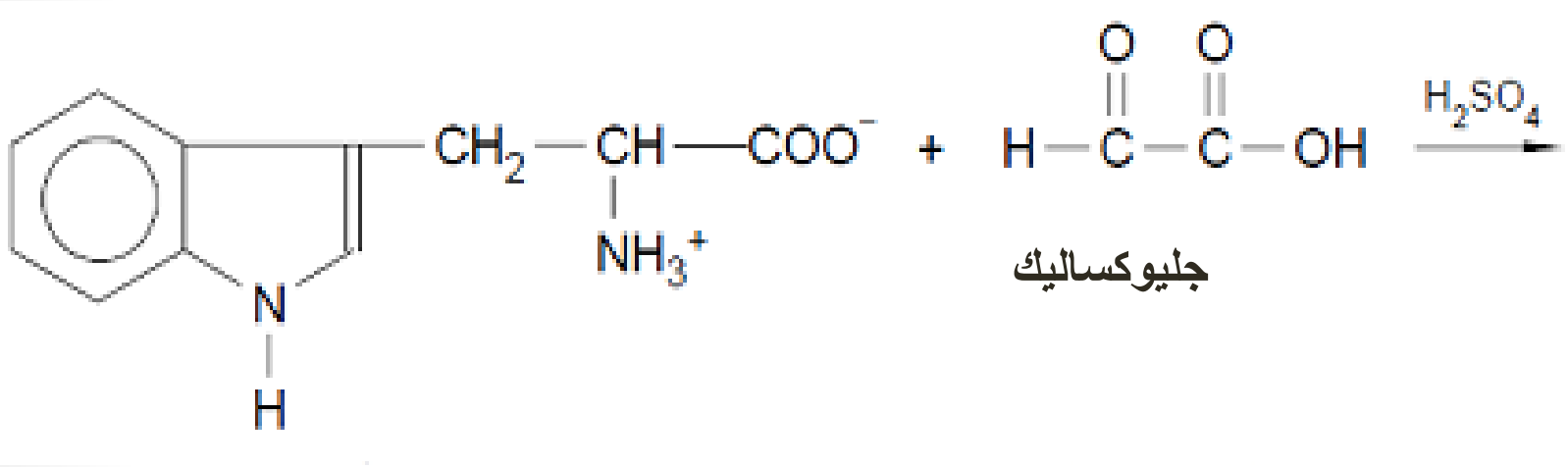
إختبار ميلون Millon’s test

- متخصص للحمض الأميني تيروزين.
- نفس الأساس النظري للزانثوبروتيك ماعدا أنه يتم استخدام الزئبق Hg بدلا من النيتريك المركز.
- النتيجة الموجبة تكون راسب أبيض يتحول بالتسخين إلى لون أحمر.

إختبار هوبكنزكول Hopkins-cole test

مميز لمجموعة الإندول

(التربتوفان)



تربتوفان

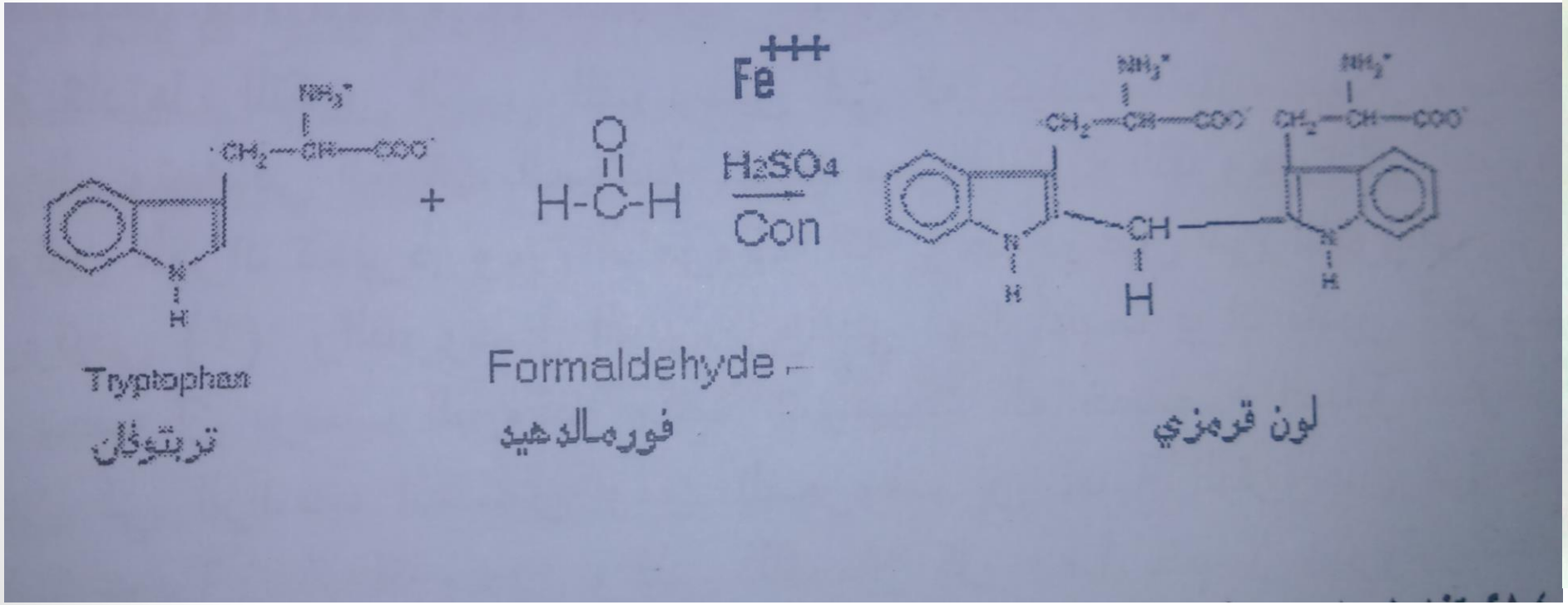
جليوكساليك

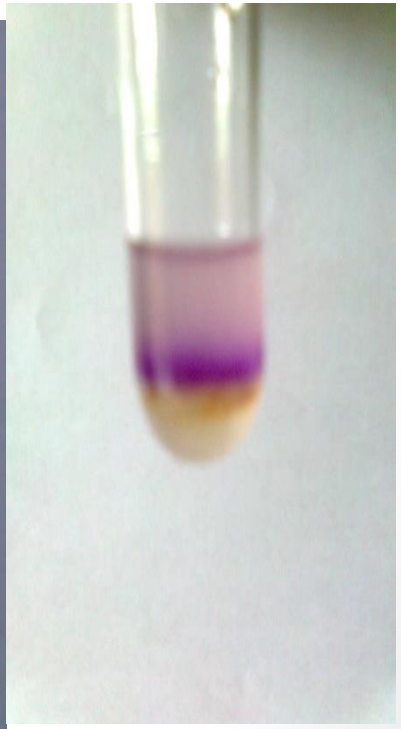
Purple or Violet ring



إختبار روزنهيم Rosenheim test

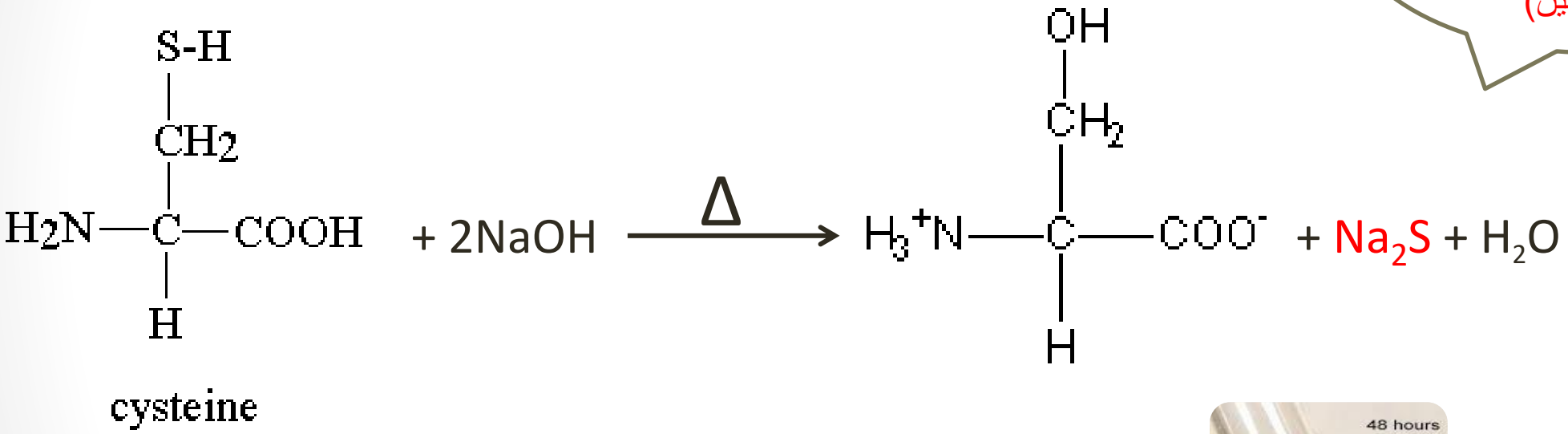
- يشبه تماما إختبار هوبكنز كول في التخصص و النتيجة الموجبة و يختلف في الجواهر الكشافة المستخدمة :
- متخصص للأحماض الأمينية العطرية المحتوية على مجموعة إندول





إختبار فوليا Folia test
(متخصص للسيستئين)

ينجح مع رابطة ثنائى الكبريتيد الضعيفة (السيستئين)
ولاينجح مع القوية (المثيونين)



cysteine

$Na_2S + Na_2PbO_2 \longrightarrow PbS\downarrow + 4NaOH$

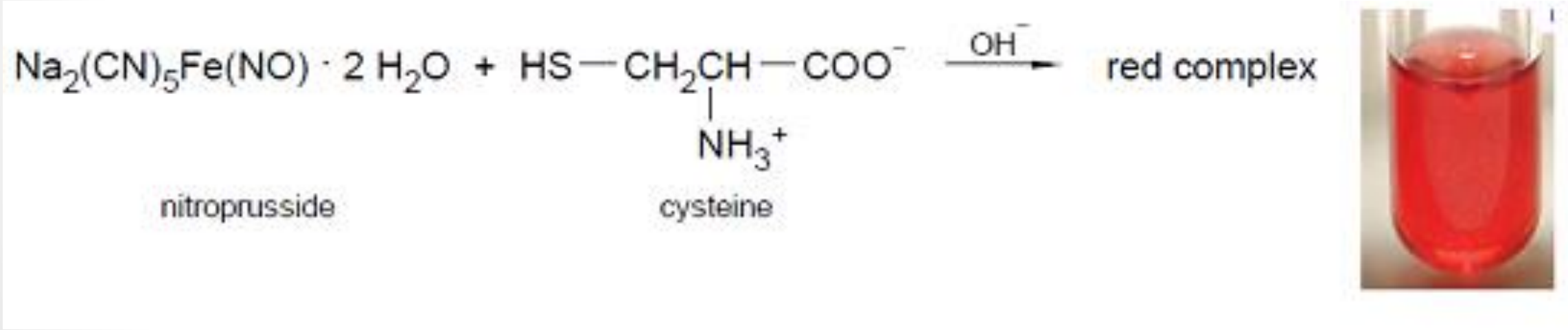
Black ppt.



Sodium nitroprusside test

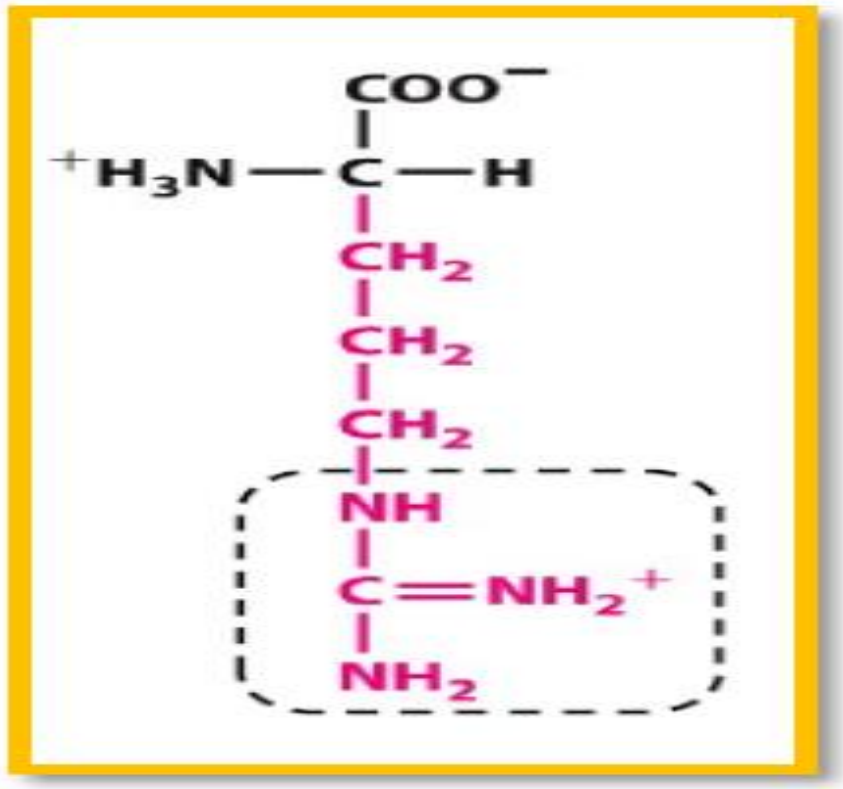
إختبار نيتروبروسيد الصوديوم

مميز للسلفاهيدريل SH-



إختبار سكاجوش (Sakaguchi test)

- مميز للحمض امينى الارجينين لاحتوائه على مجموعة الجوانيدين.
- النتيجة الموجبة للاختبار لون احمر



الإختبارات الوصفية للبروتينات

التحليل الوصفي للبروتينات

- **ذوبان البروتينات**

تختلف البروتينات فى درجة ذوبانها فى المذيبات المختلفة فعلى سبيل المثال

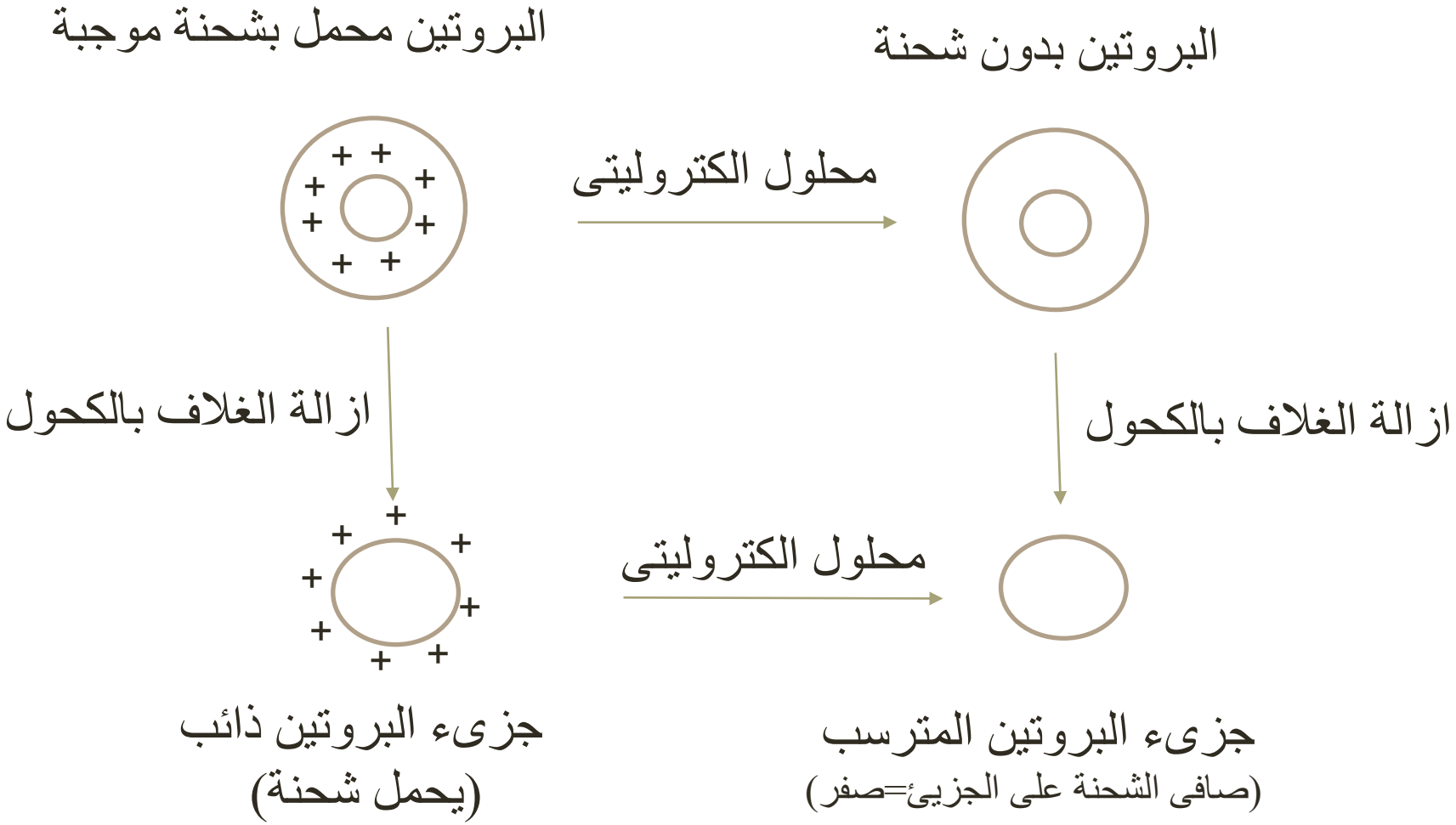
الالبيومين (بياض البيض) يذوب فى الماء

الجلوبيولين (صفار البيض) يذوب فى المحاليل الملحية

الكازين (بروتين اللبن) يذوب فى المحاليل القلوية المخففة

ترسيب البروتين

ميكانيكة ترسيب البروتين



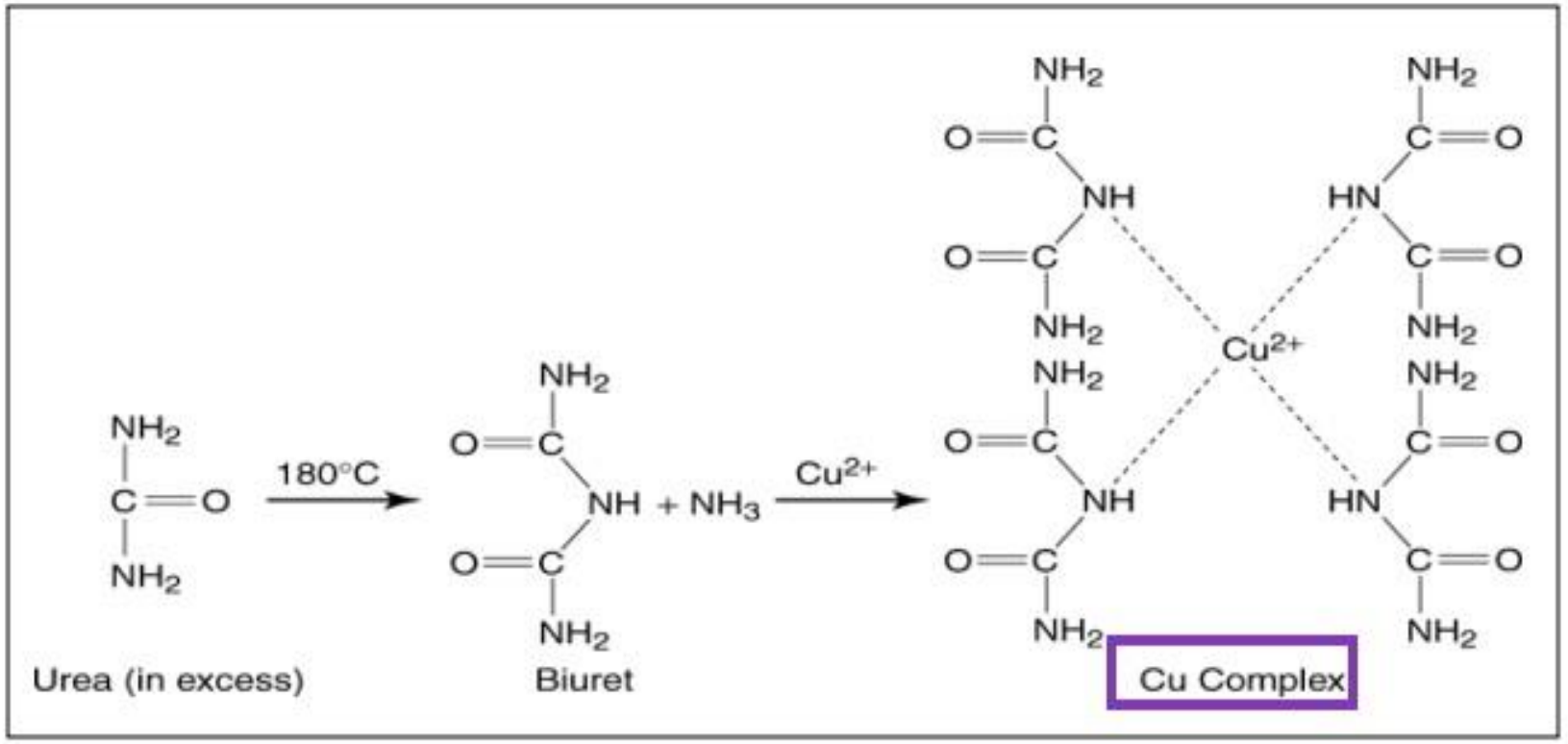
انواع الترسيب

عكسي	غير عكسي
يحتفظ البروتين بكل خواصه: a) الطبيعية b) الكيميائية c) الإنزيمية	يتغير تركيب البروتين تماما بسبب حدوث تخثر (Denaturation) و بالتالى تتغير طبيعته والتي تحدث بسبب الترسيب.
أمثلة: Sod. Sulfate Mag. Sulfate Amm. Sulfate NaCl المذيبات العضوية: الكحولات:(إيثانول, ميثانول, أيزوبروبانول) الأسيتون (لمدة طويلة)	أمثلة: 1. المعادن الثقيلة : الرصاص, النحاس, الفضة, و الزئبق ..... إلخ 2. الأحماض غير العضوية المركزة: حمض النيتريك 3. التسخين 4. الأحماض العضوية: TCA
يمكن استعادة البروتين بخواصه عن طريق تخفيض تركيز الملح	لا يمكن استعادة البروتين طبيعيا مرة أخرى

أولاً: الإختبار العام

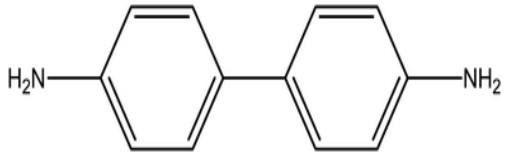
إختبار البيوريت Biuret test

إختبار عام للبروتينات و الببتيدات «على الأقل رابطتين ببتيديتين»



ثانياً: الإختبارات المتخصصة

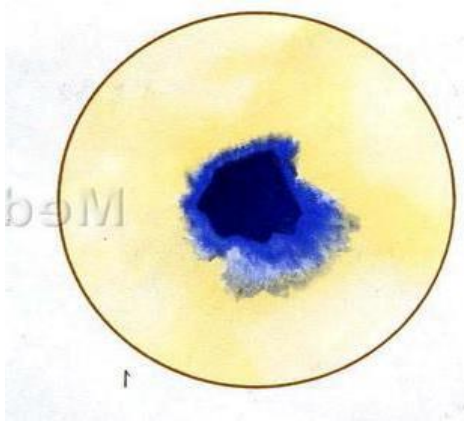
1. Benzidine test إختبار البنزيدين
(Hemoprotein)

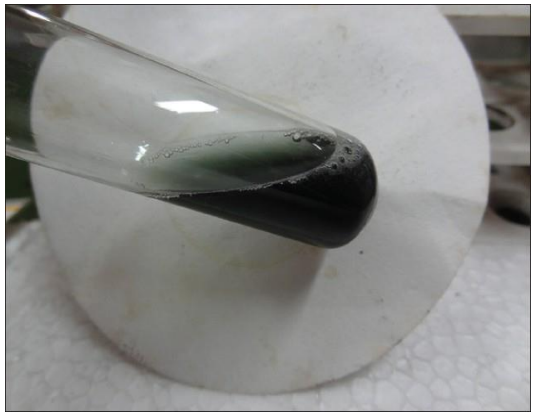


Benzidine

$$+ \quad H_2O_2 \xrightarrow{\text{Hemoglobin}} \text{Benzidine diimine}$$

أخضر – أزرق





2. Neumann's test إختبار نيومان (Phosphoproteins)

Phosphoproteins $\xrightarrow{\text{تحلل مائى}}$ PO_4^{-3} $\xrightarrow{HNO_3}$ H_3PO_4

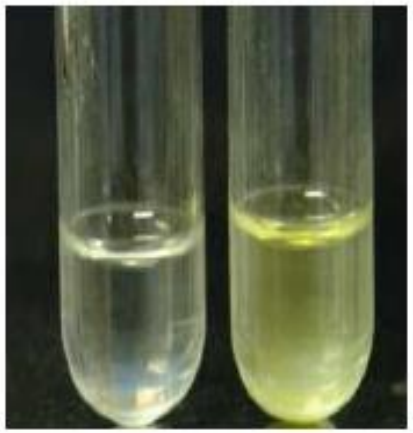
$\downarrow$ $(NH_4)_2MoO_4$

Ammonium molybdate

$(NH_4)_3PMo_{12}O_{40}$

فوسفومولبيبدات الامونيوم

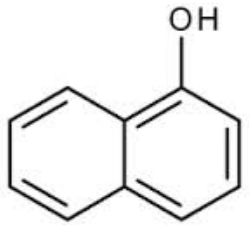
yellow precipitate



Neumann's Test

3. Molisch's test إختبار موليش (Glycoprotein)

إختبار موليش يستخدم للكشف عن وجود شق كربوهيدراتى مرتبط بالبروتين، لذلك الجليكوبروتينات تعطى نتيجة موجبة مع هذا الإختبار.

Glycoprotein+ 

$\xrightarrow{H_2SO_4\ Conc.}$ Purple Complex

α - naphthol

بالإضافة إلى جميع الإختبارات المتخصصة للأحماض الأمينية و التى تتواجد بالبروتينات المختلفة

الاختبارات المتخصصة للبروتينات

اختبار	الاساس النظرى	النتيجة الموجبة
نيومان	مميز للفوسفوبروتين مثل الكازين	اصفر كنارى
البنزيدين	ينجح مع الهيموبروتين مثل الهيموجلوبين	اخضر الى ازرق
ثنائى فينايل الانين	البروتينات النووية	ازرق
موليش	الجليكوبروتينات	بنفسجى

Practical العملي



- **البيوريت**

5 نقط (حمض امينى او بروتين) + 10 نقط NaOH ⟵ نقطة كبريتات النحاس النتيجة الموجبة بنفسجى

- **فوليا**

5 نقط (حمض امينى او بروتين) + 5 نقط NaOH $\xleftarrow[\nabla]{\Delta}$ 2- 4 نقط خلات رصاص ⟵

النتيجة الموجبة راسب أسود

- **هوبكنزكول**

5 نقط (حمض امينى او بروتين) + 3 نقط جليوكساليك ⟵ (نقط من حمض كبريتيك مركز على الجدار الداخلى للأنبوبة) ⟵ النتيجة الموجبة حلقة قرمزية

التقرير العملى

	جليسين	تربتوفان	جيلاتين	كازين
إختبار البيوريت				
إختبار هوبكنز- كول				
فوليا				


Thank you!