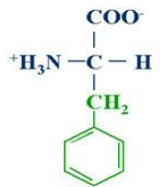


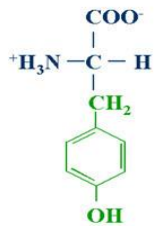
(5)
البروتينات -2-
proteins

التقدير الكمي للبروتين (Quantitative estimation of proteins) :

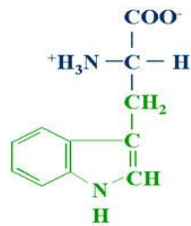
- تقدير البروتينات كمياً يساعد على معرفة التراكيز القياسية لبروتينات معينة كما أن له دلالات تشخيصية عند ارتفاع أو انخفاض تركيز البروتينات عن المستوى الطبيعي، وله أهمية في معرفة المحتوى البروتيني للعينات الغذائية.
- تعتبر مقدرة الجزيئات على امتصاص أطيايف الضوء من أكثر الطرق الكيموحيوية المستخدمة في تقدير كميات الجزيئات في محاليلها، ومن هذه الجزيئات المهمة على مستوى الخلية الحية هي البروتينات التي لها القدرة على الإمتصاص الضوئي لوجود بعض الأحماض الأمينية الحلقية العطرية (**فينايل ألانين - تيروسين - تربتوفان**).
- هناك أجهزة خاصة لقياس امتصاص الطيف الضوئي تسمى سبكتروفوتوميتر (spectrophotometer) يمكن من خلالها تقدير البروتينات عند طول موجي معين.



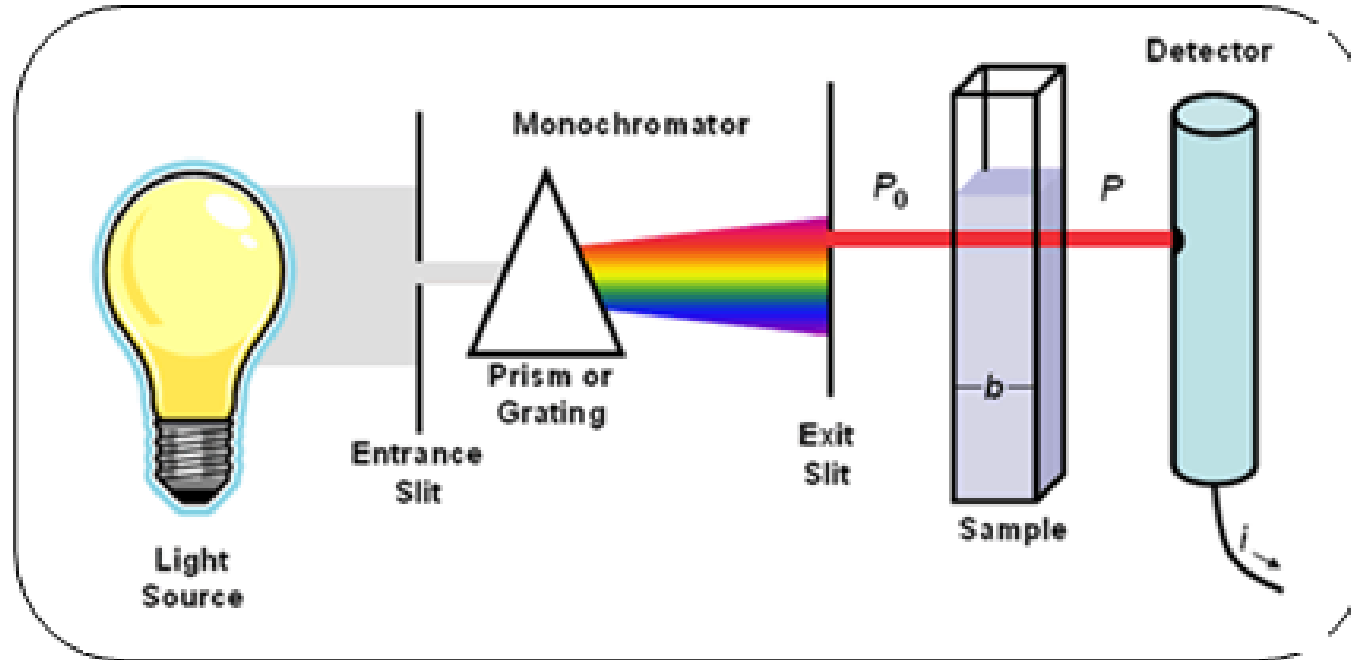
Phenylalanine



Tyrosine



Tryptophan



طريقة بيوريت لتقدير تركيز البروتين (Biuret test) :

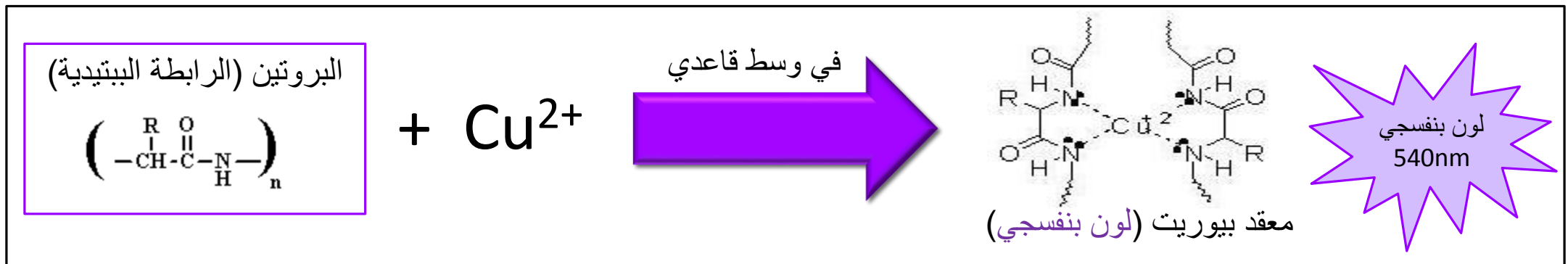
- إختبار عام على البروتينات، يهدف هذا الاختبار للكشف عن وجود البروتينات في العينة ويمكن استخدامه كاختبار كمي لأنواع البروتينات.

النظرية العلمية للاختبار:

عند معالجة البروتين بمحلول كبريتات النحاس في وسط قاعدي فإن أيون النحاسيك يكون معقداً بنفسجياً مع الرابطة الببتيدية في البروتين ويسمى معقد بيوريت و يمكن قياس الإمتصاص الضوئي له عند 540nm .

ملاحظة:

العينات ذات التراكيز العالية ← اللون الأعمق ← تمتلك قيمة امتصاص عالية



الجزء العملي

الأهداف:

1. التقدير الكمي للبروتينات باستخدام اختبار بيوريت.
2. إيجاد تركيز عينة مجهولة باستخدام المنحنى القياسي للتركيز (بدلالة قيمة الامتصاص).

تخفيفات لبروتين
تركيزه
(5g/L)

طريقة العمل:

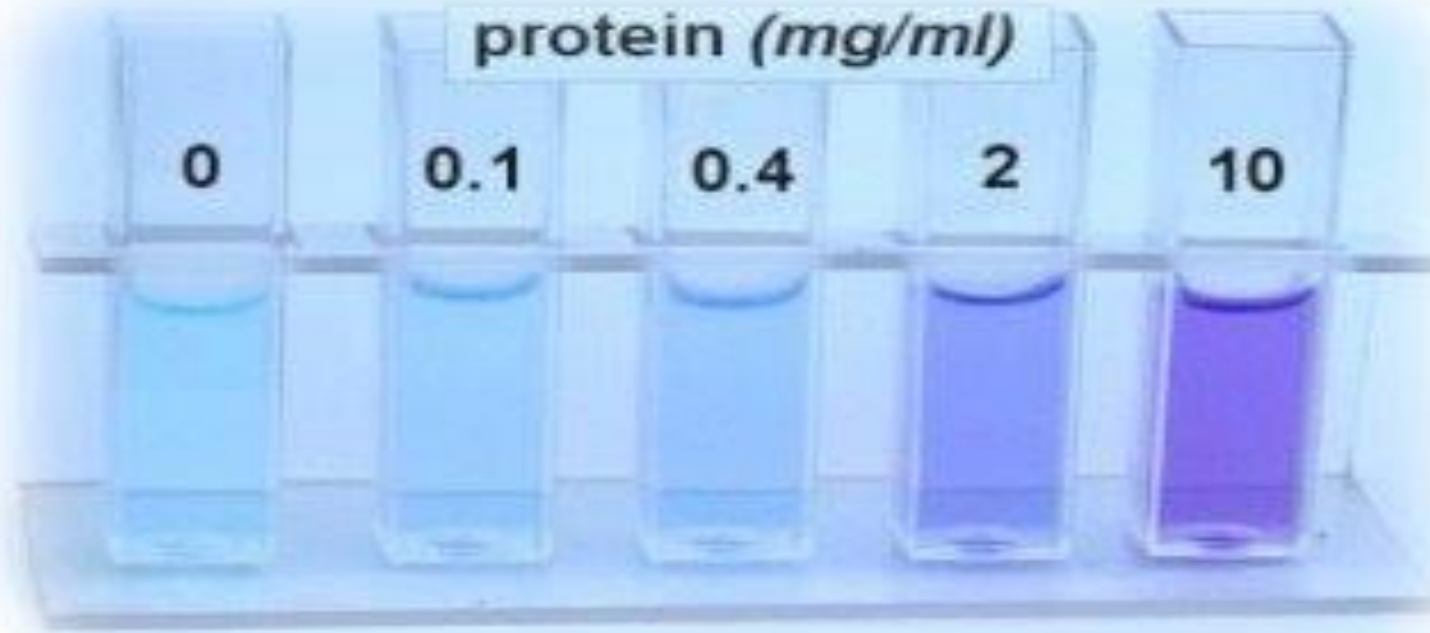
جهزي 8 أنابيب اختبار واتبعي الجدول التالي :

كاشف بيوريت (مل)	حجم العينة المجهولة (مل)	ماء مقطر (مل)	حجم المحلول القياسي (الألبومين) (مل) (5g/L)	الأنبوبة
3 ml	-	2	-	Blank
	-	1.6	0.4	1
	-	1.2	0.8	2
	-	1	1	3
	-	0.8	1.2	4
	-	0.6	1.4	5
	-	0.4	1.6	6
	2	-	-	العينة ذات التركيز المجهول

- دعي الأنابيب في الحامل لمدة عشر دقائق.

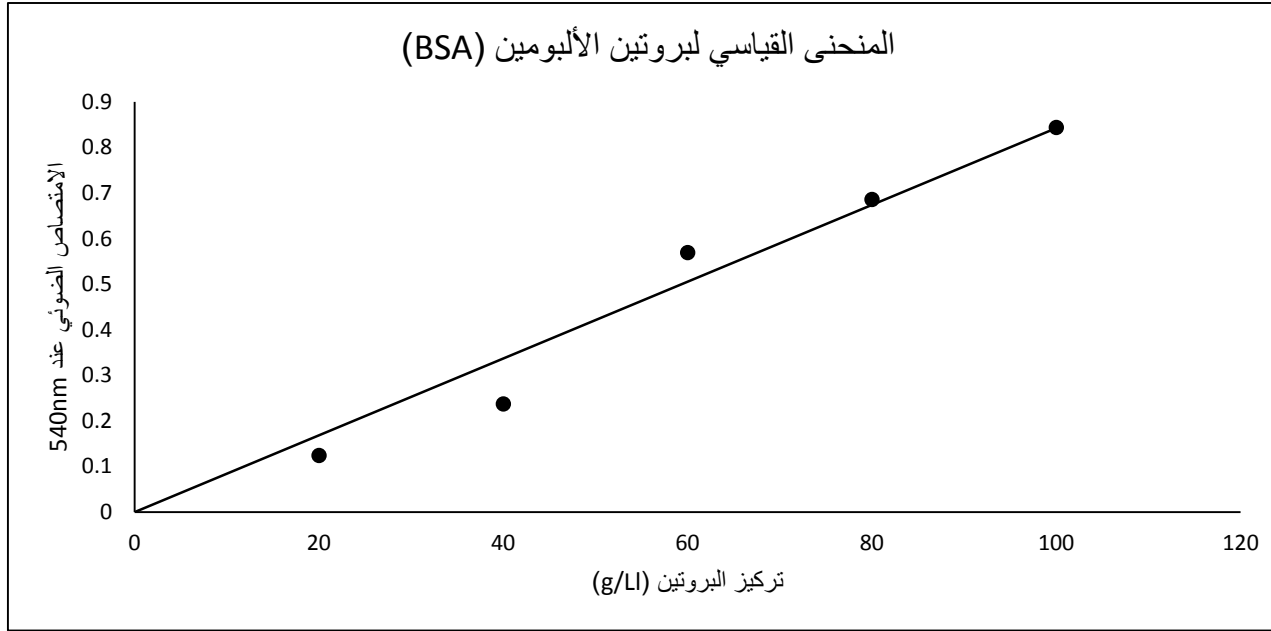
- اقرئي الامتصاص عند 540 nm .

تدرج الألوان يبدأ من اللون **الأخف** (التركيز الأقل) وينتهي باللون **الغامق** (التركيز الأعلى)



التركيز الأقل \longrightarrow التركيز الأعلى

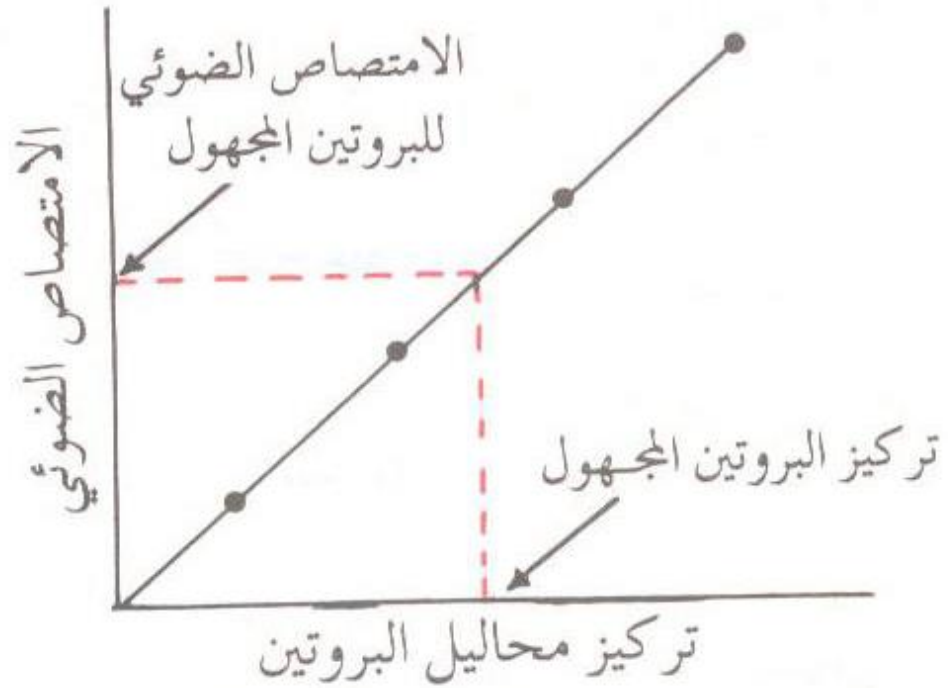
- يجب إجراء **منحنى قياسي** (standard curve) لبروتينات معلومة التراكيز وذلك لإستخدامه في تقدير البروتينات مجهولة التراكيز.
- **المنحنى القياسي** : هو منحنى يعكس العلاقة بين تراكيز معلومة لمادة (بروتين) و الإمتصاص الضوئي لهذه التراكيز عند طول موجي معين.
- يمكن من المنحنى القياسي حساب تركيز البروتينات المجهولة بمعرفة مقدار الإمتصاص الضوئي لها .



يظهر المنحنى علاقة طردية (خطية) بين تركيز البروتين و الامتصاص الضوئي. كلما زاد التركيز ، كلما زاد الامتصاص-

النتائج:

- ارسمي منحنى قياسي يوضح العلاقة بين تركيز البروتين (المحور السيني) و الإمتصاص الضوئي (المحور الصادي) وذلك على ورقة رسم بياني.
- استنتجي من الرسم البياني تركيز محلول البروتين المجهول وذلك بمعلومية الامتصاص الضوئي له.



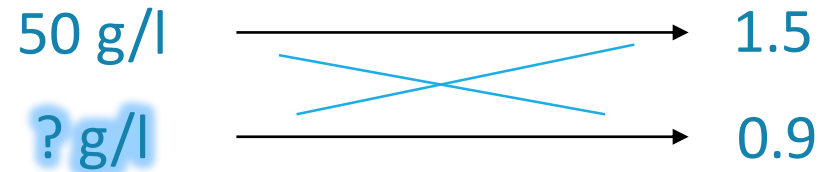
تركيز البروتين (g/l)	الامتصاص الضوئي عند 540nm	الأنبوبة
$C1 \times V1 = C2 \times V2$ $5 \times 0.4 = ? \times 2$ $? = 1$		1
2		2
2.5		3
3		4
3.5		5
4		6
?		العينة المجهولة

ملاحظة:

- إذا لم يرد عمل منحنى قياسي (وهي طريقة غير دقيقة) نكتفي بتحضير محلول بروتيني قياسي واحد فقط ثم نستخدم المعادلة الحسابية التالية لحساب تركيز محلول بروتيني مجهول:

• مثال:

نفرض أن المحلول القياسي تركيزه (50 g/l) وامتصاصه الضوئي 1.5 والامتصاص الضوئي للعيينة المجهولة 0.9 ، كم تركيز العينة المجهولة؟



$$\underline{30 \text{ g/l}} = \frac{50 \times 0.9}{1.5} = \text{تركيز العينة المجهولة} \leftarrow$$

الأسئلة:

1- ما نوع العلاقة بين تركيز البروتين و الامتصاص الضوئي له ؟

2- قارني بين قيمة تركيز البروتين المجهول المستنتجة بواسطة المنحنى القياسي و المعادلة الحسابية؟ و أيهما أدق في النتيجة؟ ولماذا؟