ترسيب البروتينات Protein's Precipitation

ان قابلية ذوبان البروتينات تعتمد على عاملين:

1-وجود الشحنة التي يتحكم بها الPH .

2-وجود الماء، مع قليل من التسخين في اغلب الاحيان.

وبدون احدهما لايمكن للبروتين ان يكون بصورة ذائبة او مستحلبة .

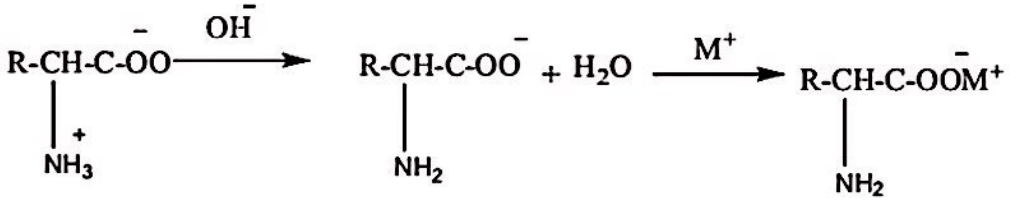
نقطة التعادل الكهربائي: Iso Electric Point(I EP)

هي عبارة عن الPH التي يكون فيها البروتين حاملا لعدد متساوي من الشحنات الموجبة والسالبة.
وعليه فالبروتينات في نقطة تعادلها الكهربائي لاتتحد مع الحامض او القاعدة.اما فوق(-) او تحت(+)نقطة التعادل الكهربائي فالبروتينات تكون غير متعادلة (مشحونه)ولذلك فهي تتحد مع الايونات المعاكسة لها مكونة املاح يكون كثير منها غير ذائب(راسب)مع البروتين.
مماتقدم فان البروتين يكون غير ذائب في نقطة التعادل الكهربائي(راسب).

طرق ترسيب البروتينات:

اولا /الترسيب بواسطة املاح الفلزات الثقيلة {الايونات الموجبة (+)}:

تعتمد فكرة الترسيب على اضافة محلول فلز ثقيل مثل(Pb^{+2},Zn^{+2},Hg^{+2},Fe^{+3},Ag^{+})الى محلول البروتين الحامل لشحنة سالبة(نتيجة معاملته بالقاعدة) وترسيبه على شكل بروتينات الفلز (Metal Protein) , حيث يُعادل الايون الموجب الشحنة السالبة على جزيئة البروتين فيرسبها.



Metal Proteinate

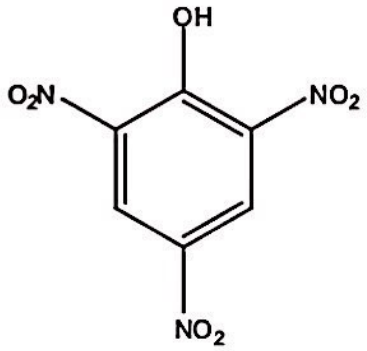
Procedure:يوضع (3مل) من محلول زلال البيض في انبوبة اختبار ونضيف قطرة من محلول NaOH.ثم نضيف(1مل) من احد املاح الايونات الموجبة($FeCl_3$) ثم نكرر التجربة مع كل من $HgCl_2, CuSO_4, (CH_3COO)_2Pb, AgNO_3$.ونسجل ونلاحظ تكون الراسب ولونه في كل مرة.

ملاحظات(1) عند اضافة كمية كبيرة من محاليل املاح الفلزات الثقيلة فان الراسب يصبح ذائبا؛ وذلك لاكتساب جزيئات الراسب للشحنة الموجبة.(البروتين يكون ذائب عندمايكون غير متعادل).

(2)لترسيب البروتينات بواسطة المعادن الثقيلة اهمية خاصة(صحياً)؛ اذ انه عند حدوث تسمم بواسطة هذه المعادن يمكن استخدام زلال البيض او الكازئين(الحليب)كترياق (Anti dot)،حيث يترسب المعدن الثقيل على شكل بروتينات الفلز الثقيل, وهنا نؤكد على وجوب التقيء مباشرةً حيث ان البروتينات تتحلل ثانية داخل المعدة.

ثانياً /ترسيب البروتينات بواسطة الكواشف القلويدية{الايونات السالبة (-)}:

بالامكان ترسيب البروتينات عندما تحمل شحنة موجبة بواسطة الايونات السالبةAn ions لبعض الحوامض مثل TCA,Picric Acid وتعرف هذه الحوامض بالكواشف القلويدية لانها استخدمت اصلا في ترسيب مجموعة من المركبات العضوية التي تعرف بالقلويدات alkaloids .هذه الطريقة تجد استعمالا واسع النطاق في ازالة البروتينات Deproteinization من الدم قبل اجراء بعض التحاليل عليه. وتعتبر هذه الطريقة اساس للكشف عن البروتينات في الادرار والتقدير الكمي لها في المصل Serum وفي الادرارUrine.



picric acid

$Na^+WO^-_4$ Sodium Tungstate

CCl_3COOH TCA(Tri Chloro Acetic acid)

ان البروتينات في المحيط الحامضي, تحمل شحنة موجبة , وتتحد مع الايونات السالبة مكونة رواسب وكمايلي في ادناه:

Procedure: يُحمض زلال البيض بقطرات من حامض الخليك ويضاف اليه(1مل) من الايونات السالبة المذكورة في اعلاه ويلاحظ لون الراسب المتكون في كل مرة.سجل ملاحظاتك....

ثالثاً /ترسيب البروتينات عند نقطة التعادل الكهربائي(IEP):

تكون البروتينات ذائبة فوق نقطة تعادلها الكهربائي (عندما تحمل شحنة سالبة في المحيط القاعدي)،وكذلك تحت نقطة تعادله الكهربائي(عندما تحمل شحنة موجبة في المحيط الحامضي).اما في نقطة التعادل الكهربائي فيكون عدد الشحنات الموجبة والسالبة متساوٍ ،وبذا يكون البروتين اقل ذوبانا في هذه الPH(راسب).

Procedure:ضع(1مل)من البروتين وليكن كازئين الحليب في T.T(نقطة تعادله الكهربائي+5.4) ثم اضف له بضع قطرات من صبغة البروموكريزول الاخضر(Green Bromocressol) فاذا ظهر لون ازرق دَلّ ذلك على ان المحيط قاعدي فيجب اضافة قطرة من حامض HCl مع الرج المستمر الى ان يصبح اللون اخضر مزرق مع تكون راسب كثيف دلاله على الوصول الىIEP لكازئين الحليب في (PH 5.4).

اما اذا ظهر اللون الاصفر دَلّ ذلك على ان الوسط حامضي فيجب اضافة قطرة...قطرة من NaOH مع الرج المستمر الى ان يصبح اللون اخضر مزرق مع تكون راسب كثيف , دلالة على الوصول الى نقطة التعادل الكهربائي لكازئين الحليب (PH 5.4).

ملاحظة: تجنب اضافة كمية كبيرة من الحامض او القاعدة دفعة واحدة ، لان ذلك يؤدي الى تغيير المحيط بسرعه(تغير IEP) ممايؤدي اويمنع ظهور اللون الاخضر المزرق وعدم تكون الراسب.

س/لماذا يترسب محلول بياض البيض عند التسخين؟

ج/ اذا سخناه كماهو في حالته الطبيعية (PH=4.7)(نقطة تعادله الكهربائي) يترسب كمافي سلق البيض.لكن اذا اضفنا قليل من HClاو NaOH اي نغير نقطة تعادله الكهربائي (جعل الPH أكثر اواقل من 4.7)سنلاحظ ان لايترسب بالتسخين مهما رفعنا درجة الحرارة او اطلنا زمن التسخين.