جامعة تكريت

كلية التربية للبنات

قسم الكيمياء

الكيمياء الحياتية عملي

المرحلة الثالثة

محاضرة

{ الترسيب بواسطة التمليح ، الترسيب بوساطة المذيبات العضوية،
فصل بروتينات البيض }

مدرس المادة

م.م. ايات جاسم محمد

ayat.mohammed@tu.edu.iq

تجربة (12)

الترسيب بواسطة التمليح Salting precipitation

يحدث هذا النوع من الترسيب عند أضافة كمية مناسبة من الملح (كبريتات الامونيوم او كلوريد الصوديوم الى البروتين فيقال ان البروتين ترسيب بالتشبع النصفي Half Saturation عند اضافة حجم من محلول كبريتات الامونيوم المشبع الى حجم من محلول البروتين يقال ان البروتين قد ترسب بالتشبع الكامل Full Saturation . عند اضافة كبريتات الامونيوم الصلبة ليس فقط ليتشبع المحلول بل و تظل بعض بلورات الملح غير ذائبة (ضمانا لحدوث التشبع الكامل) و يحدث الترسيب بالاملاح نتيجة :-

1-تعادل شحنات جزيئات البروتين الكهربائية بواسطة الشحنات الكهربائية المضادة التي تحملها ايونات الملح و نتيجة لتعادل الشحنات على جزيئات البروتين فأنها تتجمع و تنفصل.

2- عدم وجود الماء الكافي لذوبان البروتين نتيجة استخدامه في اذابة الملح المضاف (لان الملح اكثر ذوبانا في الماء من البروتين) اي ان الملح يزاحم البروتين.

يمكن توضيح ترسيب البروتينات بالاملاح من خلال حصول الظواهر التالية:-

1- التمليح الداخلي Salting In: يقصد به ذوبان البروتين في المحلول الملحي عند اضافة تراكيز قليلة من الاملاح المتعادلة و في هذه الحالة فان ايونات الملح تعمل على زيادة ايونية البروتين و بالتالي تزيد من ذوبانه.

2- التمليح الخارجي Salting Out: يقصد به فصل و ترسيب البروتين من المحلول على شكل راسب بإضافة محلول مركز من ملح متعادل مثل كلوريد الصوديوم ففي هذه الحالة الملح يزاحم البروتين و يفصله عن المحلول.

المواد و الكواشف The Reagents

1- محلول البروتين

2- كبريتات الامونيوم

3- محلول كلوريد الصوديوم 0.1 ع

4- محلول كلوريد الصوديوم 1 ع

طريقة العمل The Method

1- اضف كمية كافية من كبريتات الامونيوم الى محلول البروتين (الالبومين) و لحد ترسيب الالبومين.

2- اضف محلول مخفف من كلوريد الصوديوم الى محلول البروتين و سجل ملاحظاتك.

3- اضف محلول مركز من كلوريد الصوديوم الى محلول البروتين و سجل ملاحظاتك.

تجربة (13)

الترسيب بوساطة المذيبات العضوية Precipitation by polar organic solvents

تترسب البروتينات بوساطة الكحول لكونه اكثر ذوبانا في الماء من البروتين و بهذا لا تبقى كمية كافية من الماء لذوبان البروتين. اي تعمل الكحولات على تقليل اتحاد جزيئات البروتين – جزيئات الماء و بالتالي يزداد اتجاد البروتين – البروتين و هكذا يحصل الترسيب.

المواد و الكواشف The Reagents

1- زلال البيض

2- كحول اثيلي 95%

طريقة العمل The Method

اضف بضع قطرات من كحول الاثيلي 95% الى 1 مل من زلال البيض و لاحظ تكون الراسب.

تجربة (14)

فصل بروتينات البيض

بروتينات الالبومين و الكلوبيولين موجودة سوية في بياض البيض كلاهما يعطي تفاعلات الترسيب و التفاعلات اللونية للبروتينات. و هناك صفة مميزة لهما و ظاهرة التجلط الحراري Heat coagulation في درجة pH المقاربة لنقطة التعادل الكهربائي 5.4 و تعتبر هذه الصفة الاساس للتحري عن الالبومين بالادرار و لفصل هذه البروتينات من المحلول و بسبب كبر حجم جزيئة الكلوبيولين نلاحظ سهولة ترسيبه من المحلول مقارنة ب الالبومين و هكذا نلاحظ ان التشبع النصفي للمحلول بكبريتات الامونيوم يسبب ترسيب الكلوبيولين بينما يترسب الالبومين بالتشبع الكامل . و تعتبر هذه احدى الطرق المستخدمة لفصل الالبومين عن الكلوبيولين في بياض البيض و مصل الدم و الحليب.

المواد و الكواشف The Reagents

1- بياض البيض

2- حامض الخليك 2%

3- محلول مشبع لكبريتات الامونيوم

طريقة العمل The Method

1- ضع بياض البيض في بيكر و اضف له قطرات من حامض الخليك 2% مع الرج الى ان يصبح المحلول متعادل الحموضة

2- اضف 5 مل من المحلول المشبع لكبريتات الامونيوم مع الرج الجيد و لاحظ ترسب الكلوبيولين الذي يفصل بواسطة ورقة الترشيح و ينقل الى انبوبة اختبار. و هكذا فان الراسب الذي حصلنا عليه يحتوي على الكلوبيولين بينما يحتوي الرشح على الالبومين

3- اضف للراسب في الخطوة 2 قليل من الماء ، هل يذوب الراسب

4- حاول ان تجري بعض الكشوفات اللونية للبروتينات مثل البايوريت و ميلون على المحلول الناتج في الخطوة 3 ، و هل يعطي كشوفات موجبة.

5- نظم درجة pH لمحلول الكلوبيولين الى 5.4 (صفر مع دليل البروموكريزول الاخضر) و سخن الى درجة الغليان ، هل يحصل تجلط.

6- اعد الخطوتين 4 و 5 على الراشح في الخطوة 2.

7- اضف زيادة من مسحوق كبريتات الامونيوم الى جزء من الراشح حتى فصل الى درجة الاشباع , فيلاحظ ترسب الالبومين.