كيمياء الأغذية ومراقبتها

المحاضرة السادسة

البروتينات

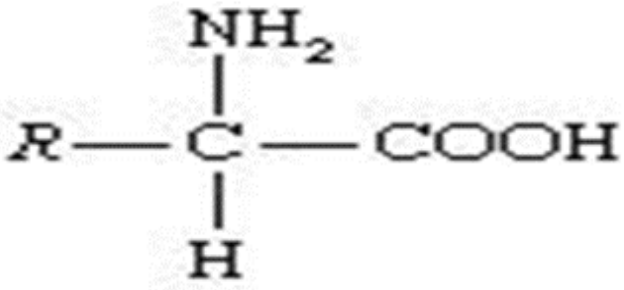
د. نور علي عشيش

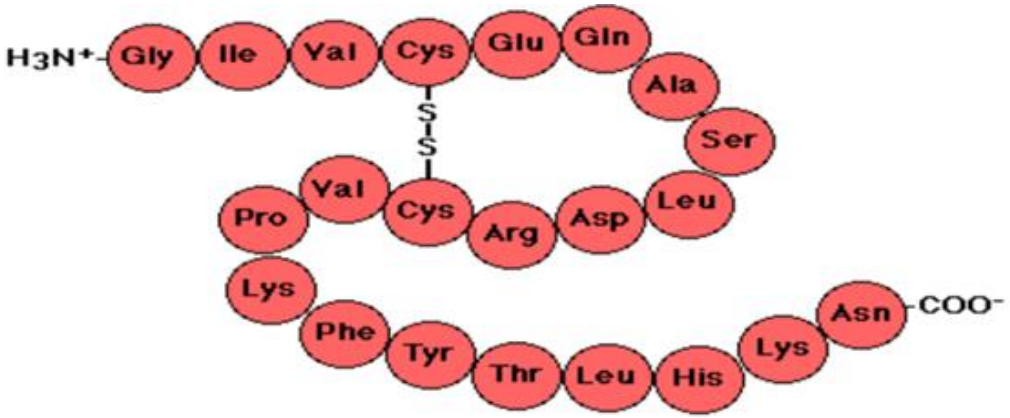
مقدمة:

تتكون البروتينات من الهيدروجين والكربون والأوكسجين والنتروجين، كما تحوي في بعض الحالات عناصر معدنية مثل الفوسفور والكبريت والحديد، وهي مواد غروية ذات وزن جزيئي عالي وبنية معقدة ،كما تتميز البروتينات بإنها تتصلب بالحرارة.

تعرف البروتينات بأنها مركبات عضوية آزوتية مكونة من وحدات الحموض الأمينية المرتبطة مع بعضها بروابط ببتيدية تشاركية لتشكل سلسلة ببتيدية.

أي أن الوحدة الأساسية المشكلة للبروتينات هي الأحماض الأمينية من نوع ألفا (α amino acid).





مقدمة:

تعد الأحماض الأمينية كأحجار البناء الأساسية التي يجري ترتيبها لبناء أشكال مختلفة من البروتين ولذلك فإن تقسيم البروتينات من حيث قيمتها الغذائية وجودتها يتوقف على نوع وكمية تلك الأحماض الأمينية الأساسية وغير الأساسية.

يوجد بعض الأحماض الأمينية التي لا تدخل في تركيب البروتين وهي تتواجد في الخلية بشكل حر أو يمكن أن تكون جزء من مركب آخر غير بروتيني.

مثال: غاما أمينو بوتيريك أسيد من الأحماض الأمينية غير البروتينية التي تتواجد بشكل حر وهو ناقل عصبي.

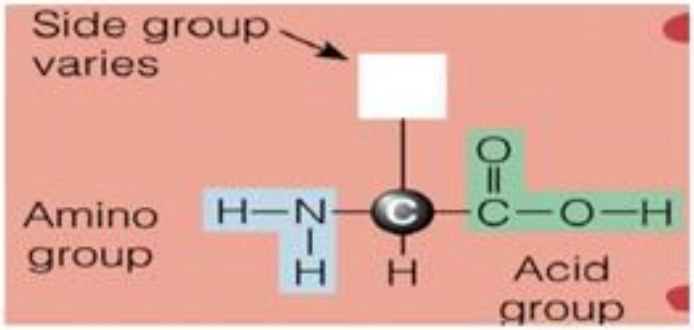
ويتم تقسيم الببروتين بناءً على ذلك:

١- **بروتين حقيقي:** هو عبارة عن مجموعة من الأحماض الأمينية مرتبطة مع بعضها بروابط ببتيدية.

٢- **بروتين غير حقيقي(المواد النتروجينية غير البروتينية):** هي المركبات التي تحتوي على عنصر الآزوت في تركيبها لكن بدون الروابط الببتيدية، مثل الأمينات والنترات واليوريا والأحماض الأمينية الحرة.

بنية الأحماض الأمينية:

الأحماض الأمينية هي أحماض كربوكسيلية عضوية يتم فيها استبدال ذرة هيدروجين واحدة على الأقل من سلسلتها الهيدروكربونية بمجموعة أمينية وبالتالي يتألف الحمض الأميني من وظيفة أمينية ووظيفة كربوكسيلية بالإضافة إلى مجموعة جانبية يختلف الحمض الأميني باختلافها.



ترتبط الحموض الأمينية مع بعضها بروابط أميدية(روابط ببتيدية)

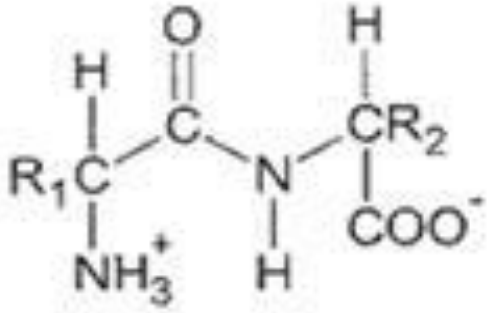
إذا ارتبطت عشرة حموض أمينية أو أقل فإن الناتج يدعى ببتيد

أما إذا كانت أكثر من عشرة فيدعى بروتيناً .

أهم الببتيدات الغذائية:

(Nisin ،Glutathione ، Aspartame)

(Carnosine, Anserine, Balenine تمييز اللحوم عن بعضها)



تصنيف الحموض الأمينية :

وتقسم حسب حاجة الجسم لها إلى : حموض أمينية أساسية وحموض أمينية ثانوية

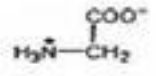
حموض أمينية أساسية Essential : وهي الأحماض الأمينية اللازمة التي لا يستطيع الجسم تكوينها أو اصطناعها وتركيبها بكميات كافية لنمو الجسم وتجديد خلاياه، ولذلك يجب العمل على توفير هذه الأحماض في الوجبات الغذائية اليومية بشكل يضمن نمو الجسم وتجديد خلاياه وهي :

الفالين ،اللوسين ، ايزولوسين ، تريونين ، ميثيونين ، ليزين ، فينيل آلانين ، تريبتوفان ، هيستيدين* ،آرجينين*.

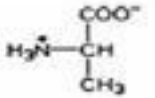
***هيستيدين و الآرجينين :** نصف أساسي عند الأطفال لأنه يصطنع بمعدلات غير كافية لدعم النمو السليم

حموض أمينية ثانوية (غير أساسية) Non-Essential: الحموض الأمينية التي يقوم الجسم باصطناعها ويمكن الاستغناء عنها غذائياً وهي :

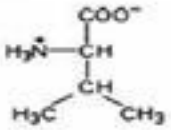
غليسين ، آلانين ، برولين ، سيرين ، سيستئين، حمض الأسبارتيك ، حمض الغلوتاميك ، تيروزين ، غلوتامين ، أسبارجين.



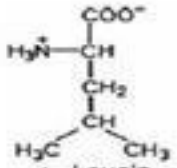
Glycin
Gly



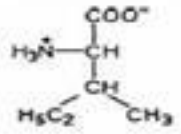
L-Alanin
Ala



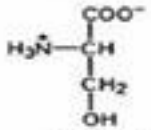
L-Valin
Val



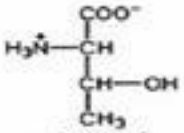
L-Leucin
Leu



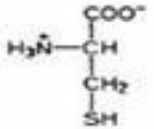
L-Isoleucin
Ile



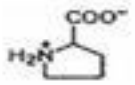
L-Serin
Ser



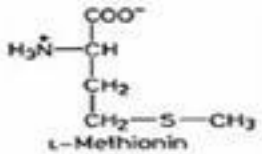
L-Threonin
Thr



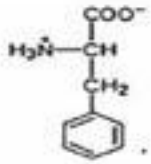
L-Cystein
Cys



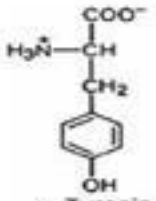
L-Prolin
Pro



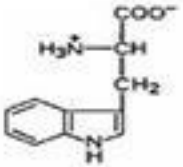
L-Methionin
Met



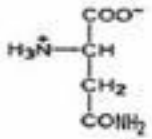
L-Phenylalanin
Phe



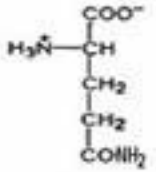
L-Tyrosin
Tyr



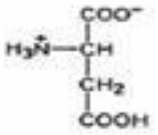
L-Tryptophan
Try



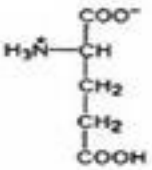
L-Asparagine
Asn



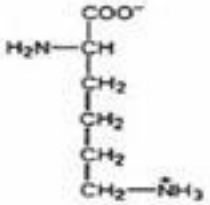
L-Glutamine
Gln



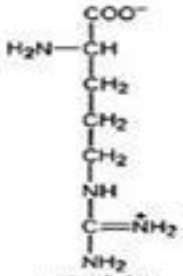
L-Aspartic acid
Asp



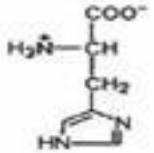
L-Glutamic acid
Glu



L-Lysin
Lys



L-Arginin
Arg



L-Histidin
His

الأحماض الأمينية الأساسية:

إن الأحماض الأمينية الأساسية متوفرة بكثرة في الأغذية الحيوانية لذلك تعد البروتينات الحيوانية عالية الجودة الغذائية أو عالية القيمة الغذائية في حين تعد البروتينات النباتية منخفضة القيمة الغذائية أو ناقصة القيمة الغذائية وذلك لعدم احتوائها على كل الأحماض الأمينية الأساسية أو لعدم توفر بعضها بالقدر المناسب لاحتياجات الجسم.

مثال: البقوليات فقيرة بالميثونين، والأرز فيه نقص في الليسين، والذرة فيها نقص في التربتوفان.

إلا أن القيمة الغذائية للحبوب الوفيرة بالميثونين والفقيرة بالليسين يمكن أن ترتفع إذا تم إضافة البقول الغنية بالليسين والفقيرة بالميثونين إليها، لذلك إن تناول الإنسان لبروتينات الحبوب والبقول معاً في وجبة واحدة يؤدي إلى تحسين التوازن البروتيني وذلك من خلال تكامل هذه الأحماض الأمينية الأساسية فيما بينها.

الأحماض الأمينية غير الأساسية:

إن هذه الأحماض ضرورية أيضاً لجسم الإنسان ويستطيع الجسم تصنيعها بكميات كافية تفي بحاجات الجسم منها إذ يمكن تحضيرها من نواتج عملية التمثيل الغذائي للكربوهيدرات والدسم وبعض البروتينات.

أهمية الحموض الأمينية:

وجد أن تصنيع البروتين الجديد اللازم للنمو وتجديد أو صيانة الأنسجة التالفة يتطلب توافر كل من الأحماض الأمينية الأساسية وغير الأساسية وبالكميات المناسبة فهي جميعها ضرورية لجسم الإنسان فلا يجب الاقتصار على تناول الأغذية النباتية بل يجب تنويع الأغذية ومصادر البروتين حتى يصبح الغذاء البروتيني متوازناً وذو قيمة غذائية كاملة باحتوائه على جميع الأحماض الأمينية الأساسية وغير الأساسية التي هي ضرورية للجسم حيث أن نقص أو غياب أي منها يؤدي إلى إعاقة تصنيع البروتين.

ويوجد مصدران لتجميع الأحماض الأمينية في جسم الإنسان وهما الأحماض الأمينية الناتجة عن عملية التمثيل الغذائي لبروتين الغذاء والأحماض الأمينية الناتجة من أنسجة البروتين في جسم الإنسان أما بالنسبة لأهمية هذه الأحماض الأمينية إن للأحماض الأمينية فوائد كبيرة بالنسبة للجسم من خلال ما تقوم به من وظائف تؤديها في الجسم.

القيمة البيولوجية للبروتين Biological value of proteins:

عندما لا يحوي النظام الغذائي الكميات اللازمة من الأحماض الأمينية فإنه لا تصطنع البروتينات الضرورية للجسم.

تسمى البروتينات التي تحوي كل الحموض الأمينية الأساسية وبكميات كافية لدعم النمو والمحافظة على حالة صحية جيدة بالبروتينات ذات القيمة البيولوجية العالية.

عادة ما تكون البروتينات النباتية ذات قيمة بيولوجية أقل من البروتينات الحيوانية.

تعرف القيمة البيولوجية للبروتين بأنها عدد غرامات البروتين التي تتكون في الجسم عند استهلاك 100 غرام من البروتين.

إن بروتين حليب الأم هو الأعلى قيمة بيولوجية يليها بيض الدجاج، كما تجدر الإشارة إلى أنه أثناء عمليات الطهي المختلفة تحدث العديد من التفاعلات والتي يمكن أن تقلل من القيمة البيولوجية للبروتين سواء عبر تحطم الحموض الأمينية وخاصة الأساسية أو عبر تكون منتجات مقاومة للهضم.

الحاجة من البروتينات:

- يحتاج البالغون 0.8gr لكل 1 Kg من وزن الجسم في اليوم فإذا كان بالغ يزن 70kg فهو يحتاج 56 غراماً من البروتين يومياً.
- في حال تجاوزت القيمة 0.8gr في الجسم سوف يختزن على شكل دسم إذا لم يترافق مع تمارين رياضية.
- تزداد الحاجة عند الرياضيين والحوامل وتزداد أيضاً عند الأطفال لأنهم في طور النمو فتصبح الحاجة لدى الأطفال 2.2gr/kg/day

عوز البروتين:

- حينما يقتصر الغذاء على مصادر الطاقة كالسكريات والدسم دون احتوائه على البروتين فإن ذلك يؤدي إلى الإصابة بداء كواشيوركور(احتباس سوائل وحبن) لأن من وظائف البروتين توازن السوائل فإذا اختل البروتين يختل التوازن ويؤدي للحبن وذلك ينتج عن التناول غير الكافي للبروتين.

المصادر الغذائية للبروتينات:

تنتشر البروتينات في الطبيعة انتشاراً واسعاً وتتواجد في كثير من الأغذية مثل البيض والجبن والحليب والبقوليات المجففة بنسبة 30-15%، وفي الحبوب 18-5%، أما في الفواكه والخضار الطازجة 5-1%.

يهضم البروتين ذو المصدر الحيواني بشكل أكبر من البروتين ذو المصدر النباتي، لذلك ينصح أن يكون جزءاً من البروتين مستهلكاً من البيض والحليب واللحوم والأسماك.

تقسم البروتينات بناءً على القيمة الغذائية:

١- بروتينات كاملة القيمة الغذائية: ويعتمد عليها في النمو والمحافظة على الحياة مثل البروتينات في اللحم والأسماك والحليب والبيض.

٢- بروتينات ناقصة القيمة الغذائية جزئياً: وهذه يمكن أن تحافظ على الحياة لكن لا تكفي من أجل النمو الطبيعي ومنها بعض بروتينات القمح والشعير.

٣- بروتينات ناقصة القيمة الغذائية: وهذه لا يمكن أن تحافظ على الحياة أو النمو عند تناولها بوصفها مصدراً وحيداً للبروتينات في الغذاء.

وظائف البروتينات في الجسم:

- تزويد جسم الإنسان بما يحتاجه من أحماض أمينية ضرورية للحفاظ على حياته ونموه.
- تعتبر البروتينات مصدراً للطاقة ولكن ذلك غير مرغوب حيث يفضل أن تستعمل البروتينات لأغراض البناء بينما تستعمل الدسم والكربوهيدرات للحصول على الطاقة.
- المساعدة في تنظيم عمليات الضغط الأسموزي وتوازن السوائل داخل الجسم حيث يتطلب ذلك توفر البروتين في بلازما الدم.
- بناء أنسجة الجسم والحفاظ عليها في حالة جيدة وتعويض الفاقد من الأنسجة أو التالف منها.
- تفيد البروتينات في الوقاية من أمراض نقص البروتين كتأخر النمو، الاستسقاء ومرض كواشيوركور.
- مصادر للأحماض الأمينية الضرورية التي تستخدم مع الأحماض الأمينية الأخرى في تكوين بروتينات الجسم ومن ثم في بناء الخلايا والأنسجة الجديدة أو إصلاح الأنسجة المستهلكة.
- تتحول البروتينات الى كربوهيدرات ودهون عند تمثيلها في الجسم .

وظائف البروتينات في الجسم:

- تدخل في تركيب بلازما الدم والهيموغلوبين والهرمونات (الأنسولين والثيروكسين والأدرينالين) والبروتينات النووية وتكوين مركبات الليبوبروتين كما أنه يدخل في تركيب الإنزيمات وتركيب الأجسام المضادة التي تزيد من المناعة الطبيعية للجسم.
- تزويد الجسم بالكبريت العضوي حيث أن الجسم لا يستطيع الاستفادة من الكبريت الغير العضوي وبعض المعادن الأخرى من خلال الأحماض الأمينية التي تحتوي عليها، كما تساعد في امتصاص الجسم للكالسيوم.
- تنظيم انقباض العضلات من خلال تكوين الميوسين واللكتين اللذين لهما دور هام في عملية انقباض العضلات.
- المحافظة على التوازن الحمضي القاعدي في الجسم حيث أن البروتينات الدم قادرة على المحافظة على pH الدم في وضع متعادل حيث أنها تقوم بتكوين الأحماض والقلويات وتقوم البروتينات بالعمل كحمض في حالة الزيادة القلوية للجسم أو العمل كقلوي في حالة الزيادة لحموضة الدم.

وظائف البروتينات في الغذاء:

- **عوامل مهلمة:** حيث تعمل على ربط الماء وتشكل هلامات مثل الجيلاتين والمواد الصلبة الجافة غير الدسمة في الحليب (يمكن أن يكون الهلام عكوس أو غير عكوس).
- **الاسمرار غير الإنزيمي:** كما في تفاعلات ميلارد الكيميائية.
- **عوامل استحلابية:** بشكل عام فإن البروتينات ذات الوزن الجزيئي المنخفض والانحلالية بالماء هي الأقدر على ذلك (امتزاج الزيوت مع الماء مثل بروتينات البيض في المايونيز).
- **الصفات الحسية و التصنيعية للمواد الغذائية.**
- **عوامل مشكلة للرغوة.**
- **عوامل محلية:** (الأسبارتام) وهو ثنائي ببتيد.
- **تشكيل بنية وقوام المادة الغذائية:** الغلوتين (الدابوق) في الخبز حيث بوجود الخميرة في العجين تستقلب المواد الغذائية وتنتج غاز CO_2 الذي يحتجز في الشبكة البروتينية مما يعطي الخبز شكله وانتفاخه حسب نسبة الغلوتين في عجين الخبز فإنه يمكن تحديد جودة تخمره و إمكانية رقه.
- **تشكيل نسيج اللحم** : اللحم المصنوع من البروتين النباتي يدعى لحم التوفو.

التغيرات التي تصيب البروتينات خلال المعالجة الحرارية للأغذية:

١- التمسخ:

- تمسخ عكوس (البروتينات الليفية)
- تمسخ غير عكوس (البروتينات الكروية)

٢- التغيرات التي تصيب البروتينات خلال تصنيع الأغذية:

- التغيرات غير الإنزيمية
- الأكسدة
- تصالب البروتينات (تداخل بروتين – بروتين)
- تداخلات بروتين - دسم
- تداخلات بروتين - مواد فينولية

الصفات الفيزيائية للأحماض الأمينية:

١- الفعالية الضوئية :

يتصل الكربون α في الحمض الأميني بأربعة مجموعات كيميائية مختلفة لذلك يعتبر مركز كيرالي (chiral) أو مركز فعالية ضوئية أي أن ذرة الكربون هي ذرة كربون لا متناظرة والاستثناء الوحيد من الفعالية الضوئية بين الأحماض الأمينية هو الغليسين ذلك أن ذرة الكربون ألفا تتصل بذرتي هيدروجين.

تظهر الأحماض الأمينية التي تملك ذرة كربون لا متناظرة بشكلين هما L, D وهما خيالان لبعضهما في المرآة أي أنهما إنانتيوميرات.

تكون الأحماض الأمينية التي تدخل في تركيب البروتين من الشكل L ويمكن للأحماض الأمينية من الشكل D أن تتواجد في بعض النباتات وفي الجراثيم.

الصفات الفيزيائية للأحماض الأمينية:

٢- الانحلالية:

الانحلالية في الماء: تختلف انحلالية الأحماض الأمينية بشكل كبير فيما بينها، البرولين مثلا شديد الانحلالية في الماء كما يمتلك الهيدروكسي برولين والغليسين انحلالية جيدة في الماء، في حين أن انحلالية السيستئين والتيروزين قليلة ، يمكن لإضافة الحموض والأسس أن تحسن من انحلالية الأحماض في الماء.

الانحلالية في المحلات العضوية: إن الانحلالية في المحلات العضوية قليلة والسبب في ذلك أن الأحماض الأمينية ذات صفات قطبية بشكل عام، كل الأحماض الأمينية غير ذوابة في الإيتر أما الانحلالية في الإيتانول فإن البرولين والسيسئين منحلين نسبياً به.

٣- الصفات الحمضية الأساسية للأحماض الأمينية:

تحتوي الأحماض الأمينية في محلول مائي على مجموعة حمضية ضعيفة (المجموعة الكربوكسيلية) ومجموعة قلوية ضعيفة (مجموعة الأمين) كما تحتوي الأحماض الأمينية الحمضية والقاعدية على مجموعة قابلة للتشرد في سلسلتها الجانبية، بالتالي فإن الأحماض الأمينية الحرة وبعض الأحماض الأمينية المشاركة في الرابطة الببتيدية يمكن أن تتصرف كوقاء.

٤- نقطة التعادل الكهربائي:

تحمل كلاً من المجموعة الأمينية والكربوكسيلية لبعض الأحماض الأمينية في pH منخفض بروتون ، عند ارتفاع pH تتشرد المجموعة الكربوكسيلية والأمينية وتعطي بروتون للوسط حيث يتشكل نتيجة لذلك ثنائي قطب يسمى الأيون التوأم Zwitter Ion لأنه يحوي على مجموعة متشردة سلبية ومجموعة متشردة موجبة والشحنة الإجمالية له تكون صفر أي أنه في نقطة التعادل الكهربائي (isoelectric point).

عند استمرار ارتفاع pH أي pH قلوي، تحمل الحموض الأمينية شحنة سالبة.

٥- التفاعلات الكيميائية للحموض الأمينية:

وهي تفاعلات المجموعة الكربوكسيلية والأمينية التي تحملها في الموقع ألفا، ويضاف لها المجموعات العائدة للسلسة الجانبية. كما يوجد التفاعلات التي تحدث بالحرارة العالية ويقصد بها تفاعلات المجموعات الطرفية ومجموعات السلسلة الجانبية أثناء المعالجة الحرارية للأغذية.

٦- الصفات الحسية للحموض الأمينية:

يمكن أن تكون كبريتية الطعم، حلوة، مرة، معتدلة كما يمكن أن يكون لها طعم اللحم.

تميل الحموض الأمينية بالشكل ل للطعم المر ويوجد ما يسمى عتبة التعرف وهي أقل كمية من الحمض الأميني التي يمكن بها تمييز الطعم.

تقسم البروتينات في الغذاء إلى:

A . بروتينات بسيطة Simple Proteins:

وهي كل بروتين يعطي عند تحلله أحماض أمينية فقط وهي تقسم إلى قسمين:

١- **بروتينات ليفية Fibrous:** وتتكون من عدة سلاسل ببتيدية تتقارب طولياً وتلتف كل سلسلة حلزونياً على امتداد طولها وتتميز بوزن جزيئي مرتفع ومقاومة للذوبان بالمحاليل المائية ، قوامها كثيف وتتكون من ألياف ممتدة.

من أمثلة هذا النوع:

كيراتين (الشعر والجلد)

كولاجين (أوتار العضلات)

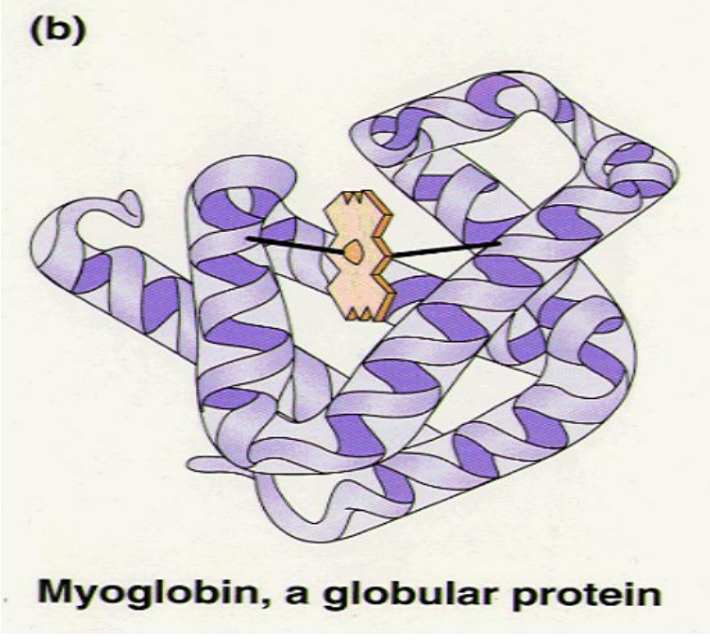
ميوسين و لكتين و ايلاستين العضلات (يقوم بعمل ميكانيكية انقباض العضلات)

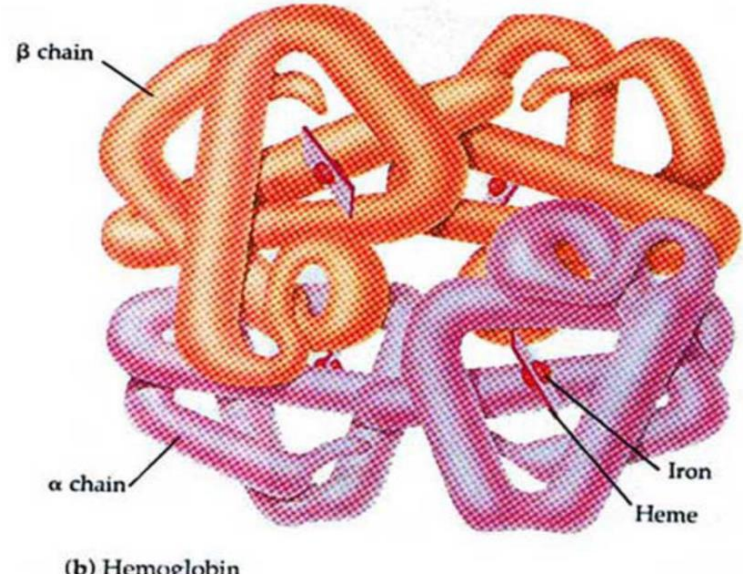
فبرينوجين الدم (المسبب لتشكل خثرة الدم).

تقسم البروتينات في الغذاء إلى:

A . بروتينات بسيطة Simple Proteins:

٢- بروتينات كروية Globular Globular Globular: تتكون من عدة سلاسل ببتيدية متكدسة ومندمجة على بعضها تمتاز سلسلتها أو سلاسلها الببتيدية بكثرة إلتفافها مكونة أشكال كروية أو دائرية متراصة وتتميز بوزن جزيئى صغير نسبياً عن الليفي ويسهل بلورتها، تذوب في المحاليل المائية ولها قابلية إنتشار سريعة، ومن أمثلتها الأنسولين والهيموغلوبين والميوغلوبين والإنزيمات والهرمونات والألبومين.





تقسم البروتينات في الغذاء إلى:

B. البروتينات المقترنة Conjugated Proteins:

وهى البروتينات التي تنتج عند تحللها أحماض أمينية و مكونات أخرى قد تكون عضوية أو غير عضوية منها:

١- البروتينات النووية (النيوكلوبروتين): وهى البروتينات المرتبطة بالأحماض النووية وموجودة في نواة الخلية والسيتوبلازم.

٢- البروتينات الفسفورية (الفوسفوبروتين): وهى البروتينات المرتبطة بحمض الفسفوريك وتوجد فى كازئين اللبن.

٣- البروتينات الدهنية (الليبوبروتين): وهى البروتينات المرتبطة بالأحماض الدسمة وتوجد في الأغشية الحيوية.

٤- الغليكوبروتين: بروتينات مرتبطة بالسكريات.

تقسم البروتينات في الغذاء إلى:

C. بروتينات مشتقة Deriyed Proteins:

هو كل بروتين ينتج من عمليات فصل الارتباط في البروتينات المقترنة أو التميه الجزئي للبروتينات البسيطة أو تغير الطبيعة الأساسية لأي بروتين في عملية التمسخ Denaturation حيث تخرج عن حالتها الطبيعية وتنتج بفعل إنزيمي أو كيميائي مثل الببتونات peptones و الببتيدات peptides و التي تكون ذات أوزان جزيئية أقل من المركبات الأصلية.

الفرق بين الببتيدات والببتونات:

الببتيدات: عبارة عن سلاسل قصيرة من الأحماض الأمينية مرتبطة بروابط ببتيدية.

الببتونات: هي فئة من الببتيدات وهي نتيجة تحلل البروتين من الحليب.

تصنيف وبنية البروتينات:

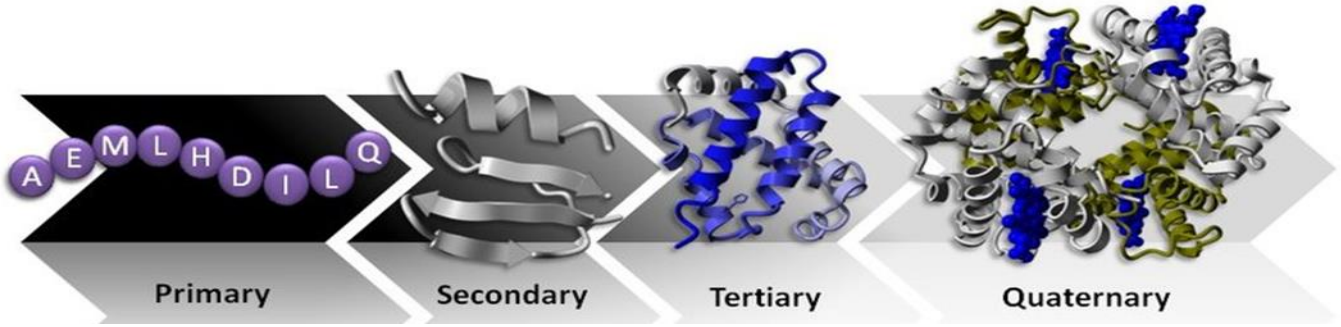
تعتمد البروتينات في صفاتها الكيميائية والفيزيائية على البناء التركيبي الكيميائي وتختلف البروتينات بالنسبة لهذا البناء، وللبروتينات أربعة مستويات بنائية:

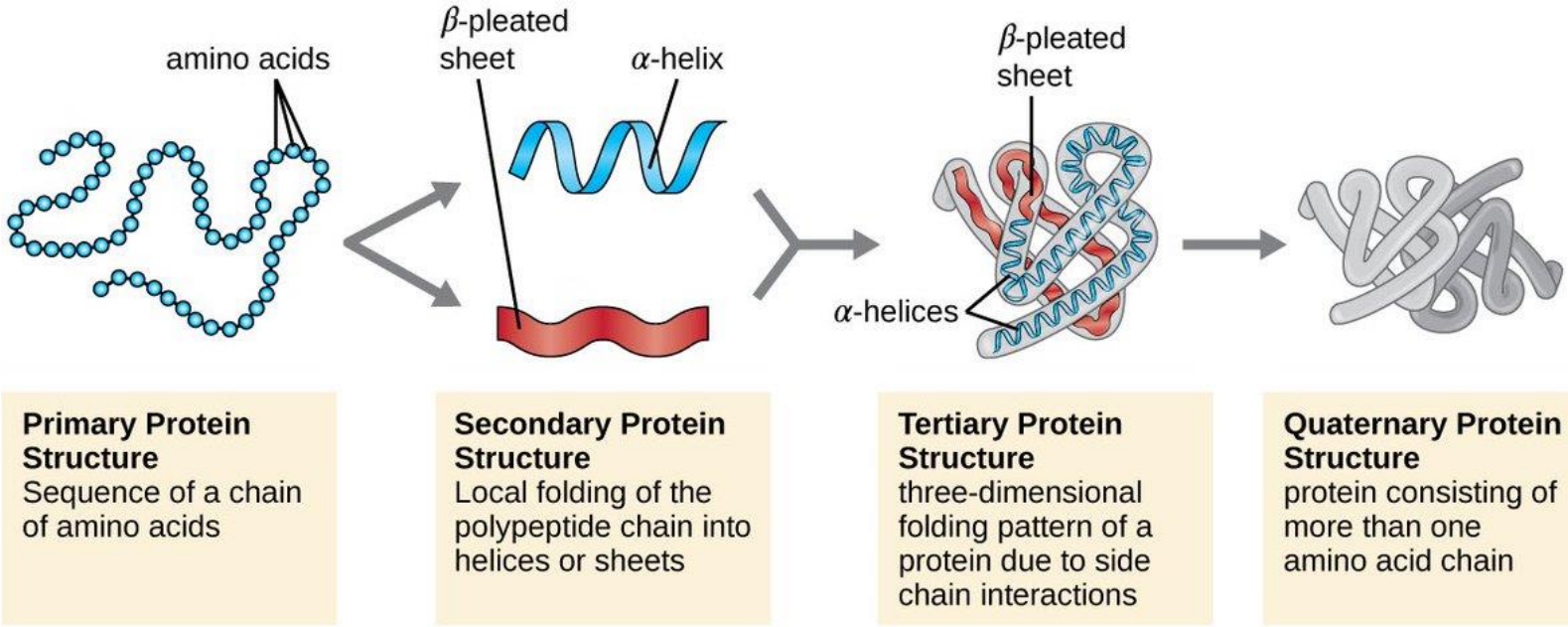
البناء الأولي Primary Structure : ويتحدد هذا البناء بنوع وعدد الأحماض الأمينية وطريقة ارتباطها مع بعضها وترتيبها بواسطة الروابط الببتيدية.

التركيب الثانوي Secondary Structure : ويشير إلى ارتباط الأحماض الأمينية القريبة من بعضها في السلسلة الببتيدية بواسطة روابط هيدروجينية بين NH--- o=c مما يؤدي إلى انطواء السلسلة الببتيدية على شكل حلزوني الذي يسمى α- helix أو صفائح بيتا.

التركيب الثلاثي Tertiary Structure: ويشير إلى ارتباط الأحماض الأمينية البعيدة عن بعضها بالسلسلة الببتيدية الواحدة إما بروابط هيدروجينية أو كبريتية أو أيونية أو استيرية مما يؤدي إلى انطواء السلسلة الببتيدية المتعددة لتأخذ شكلها الطبيعي.

التركيب الرباعي Quatenary Structure: تظهر البروتينات المحتوية على أكثر من سلسلة ببتيدية متعددة واحدة مستوى آخر للتنظيم البنائي يطلق عليه التركيب الرباعي ويشير هذا التركيب إلى كيفية ارتباط السلاسل مع بعضها البعض ويطلق على كل سلسلة ببتيدية متعددة في التركيب الرباعي بالوحدة الفرعية Subunit ومثال عليه الهيموغلوبين الذي يتركب من أربع وحدات فرعية أو سلاسل ببتيدية.





أهمية تحليل البروتينات في الأغذية:

تقدير النشاط البيولوجي: بعض البروتينات تعمل كإنزيمات ومثبطات ولها أهمية كبيرة في علوم الأغذية مثل الإنزيمات البكتينية ودورها الحيوي في نضج الفواكه وكذلك مثبطات التربسين في البقوليات ودورها كمواد مضادة للتغذية.

الصفات الوظيفية: بروتينات بعض أنواع الأغذية لها صفات وظيفية كالغلوتين له دور في صناعة الخبز والكازئين في الحليب وتكوينه للخثرة في صناعة الجبن وكذلك الألبومين في بياض البيض وإنتاجه للرغوة في المنتجات الغذائية التي تمتاز بصفة الهشاشية.

البطاقة التغذوية: دورها في رفع درجة الوعي الغذائي ومعرفة المستهلك بما يتناوله وقيمته الغذائية ومدى تغطية احتياجاته الغذائية.

طرائق تحليل البروتينات في الأغذية:

إن الخصائص البنيوية والفيزيائية والكيميائية للبروتينات تتيح إمكانية استخدام العديد من الطرائق المخبرية للتحديد النوعي والكمي لها.

ويعتبر تحليل البروتين عملية معقدة وتعتريها بعض الصعوبات لأن هناك بعض المكونات الغذائية متشابهة في صفاتها الفيزيوكيميائية مع البروتينات.

لا تعتبر البروتينات هي المصدر الوحيد للنيتروجين في المواد الغذائية فهناك أيضاً المركبات النيتروجينية اللابروتينية التي يمكن أن تأتي من الأحماض الأمينية، والببتيدات الصغيرة، والأحماض النووية والفوسفوليبيدات، والسكريات الأمينية، والبورفيرينات، والقلويدات، وحمض اليوريك، و اليوريا، وأيونات الأمونيوم، وعلى هذا الأساس، فالنيتروجين العضوي الكلي في الأغذية يمثله بصفة أساسية النيتروجين البروتيني، والمواد النيتروجينية العضوية اللابروتينية.

طرائق تحليل البروتينات في الأغذية:

من أهم الطرائق المتبعة للتحديد الكمي للبروتينات:

- المعايرة بتحديد كمية الآزوت في البروتين Titration through nitrogen determination
- طرائق التقطير المباشر Direct distillation methods
- طرائق الاحتراق الحراري Thermal combustion methods
- طريقة المعايرة بالفورمول Formol titration
- الطرائق الطيفية Spectroscopic methods

المعايرة بتحديد كمية الآزوت في البروتين :

١- طريقة كيلدال Kjeldahl method:

الطريقة المعيارية لتحديد التركيز الكلي للبروتين، تحدد طريقة كيلدال الآزوت العضوي الكلي الموجود في الغذاء (بروتيني وغير بروتيني).

أولاً : مرحلة التهضيم Digestion

- توزن العينة المراد تحديد كمية البروتين فيها.
- توضع العينة في وعاء التهضيم مع حمض الكبريت المركز(مؤكسد يقوم بهضم المادة الغذائية) وباستخدام الحرارة 400 درجة مئوية فيتحرر الآزوت إلى أمونيا.
- يضاف محفزات (وسيط كيلدال)* لرفع درجة الغليان وتسهيل عملية التهضيم وتبدأ عملية التهضيم .

يرتبط الآزوت المتحرر بشكل أمونيا مع شوارد الكبريتات معطياً كبريتات الأمونيوم بعد انتهاء التهضيم يتم التبريد بدرجة حرارة الغرفة ومن ثم التمديد بالماء المقطر.

ملاحظات :

- ✓ **وسيط كيلدال:** عبارة عن مزيج من معادن وأملاحها (كبريتات البوتاسيوم وكبريتات النحاس) لاتحوي على الآزوت.
- ✓ يضاف الماء لأنبوب كيلدال وذلك كي يمدده نتيجة وجود حمض الكبريت المركز حتى لا ينفجر الأنبوب.

ثانياً : مرحلة التعديل والتقطير Distillation:

ينقل الناتج عن عملية التهضيم (كبريتات الأمونيوم) إلى وعاء يحوي هيدروكسيد الصوديوم الذي يحول كبريتات الأمونيوم إلى الأمونيا، يضاف هيدروكسيد الصوديوم لتعديل الحموضة وليحرر غاز النشادر.

$$(NH_4)_2SO_4 + 2\ NaOH \rightarrow 2NH_3 + 2H_2O + Na_2SO_4$$

يُقطر النشادر المتشكل إلى وعاء يحوي حمض البور وبوجود مشعر أحمر الميتيل ، وتتشكل شوارد البورات (بورات الأمونيوم) ذات الصفات القلوية.

$$NH_3 + H_3BO_3\ (\text{boric acid}) \rightarrow NH_4^+ + H_2BO_3^-\ (\text{borate ion})$$

ثالثاً: مرحلة المعايرة والحساب Titration:

تعاير شوارد البورات باستخدام حمض كلور الماء 0.1N وبوجود مشعر أحمر الميتيل الذي يتلون بالأحمر نتيجة تشكل حمض البور ويسجل الحجم المستهلك وهي نقطة نهاية المعايرة.

$$H_2BO_3^- + H^+ \longrightarrow H_3BO_3$$

Kjeldahl Method

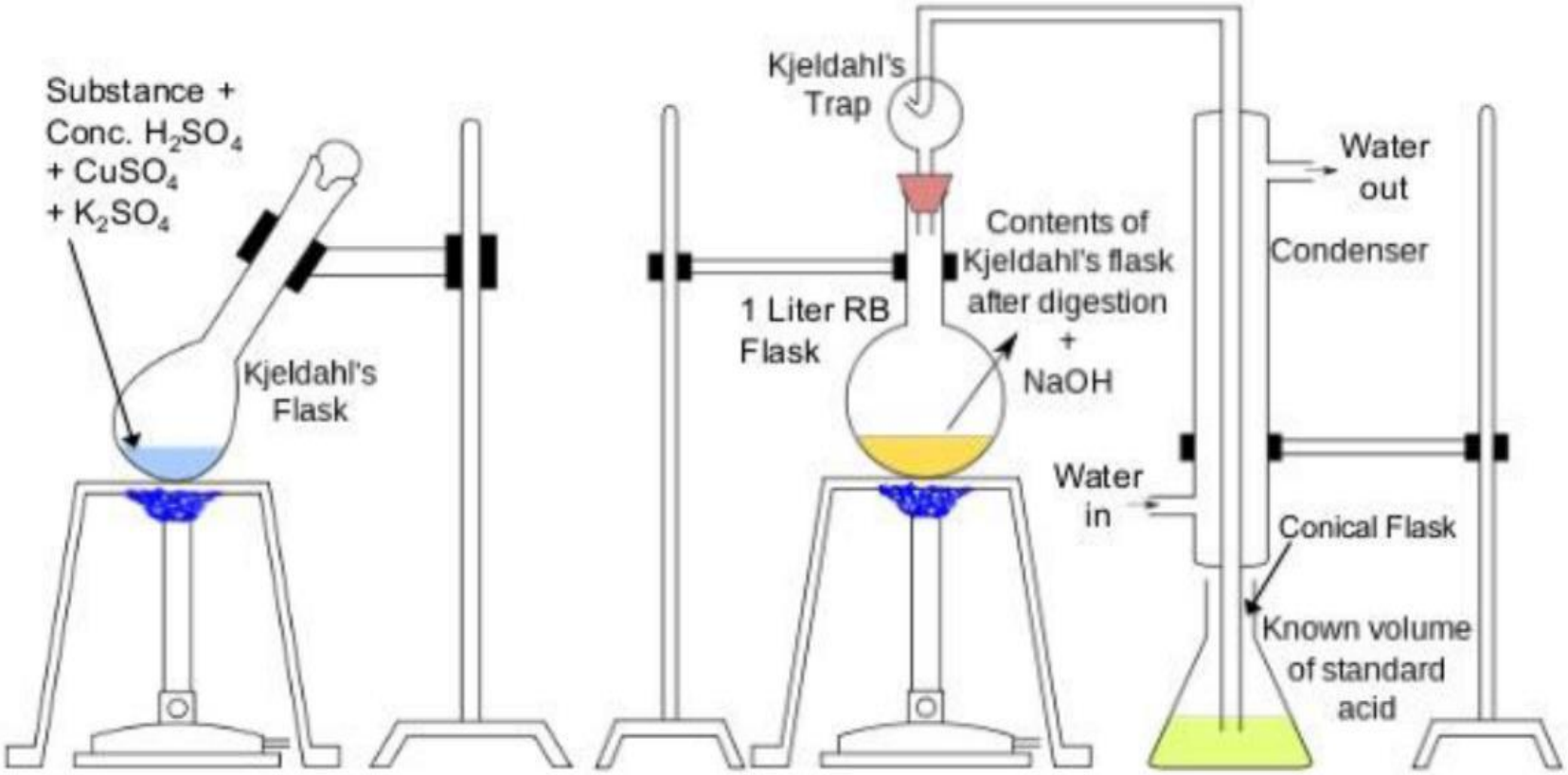


Image: Wikipedia

التعبير عن النتائج :

عدد مولات HClالمستهلكة =عدد مولات البورات = عدد مولات النشادر المتشكلة = عدد مولات الآزوت في العينة

بالتالي فإن كل 1مول من HCl يعبر عن ذرة آزوت واحدة.

و تحسب كمية الآزوت من العلاقة التالية:

$$N\% = V \times 100 \times 0.0014/g$$

N% :النسبة المئوية للآزوت الكلي في العينة

V: الحجم المستهلك من HCL تركيزه 0.1N

g: وزن العينة المأخوذة

0.0014: المكافئ الغرامي من الآزوت ل 1 مل من HCL(0.1N)

بعد حساب نسبة الآزوت في العينة تضرب بمعامل خاص لكل مادة غذائية للحصول على المحتوى من البروتين.

$$P\% = N\% \times 6.25$$

P%: النسبة المئوية للبروتين في العينة

6.25: معامل تصحيح البروتين

أمثلة عن المعاملات الخاصة بالأغذية:

	Percent N in Protein	*Factor*
Egg or meat	16.0	6.25
Milk	15.7	6.38
Wheat	18.76	5.33
Corn	17.70	5.65
Oat	18.66	5.36
Soybean	18.12	5.52
Rice	19.34	5.17

إيجابيات طريقة كيلدال:

- الطريقة المعيارية لتحديد التركيز الكلي للبروتين.
- قابلة للتطبيق على معظم العينات الغذائية.
- كثيرة الاستعمال عالمياً وما زالت الطريقة القياسية لمقارنة الطرق الآخرى.
- الدقة العالية .

سلبيات طريقة كيلدال:

- تحدد طريقة كيلدال الأزوت العضوي الكلي الموجود في الغذاء (بروتيني وغير بروتيني).
- رغم أنها طريقة دقيقة إلا أنها تحتاج وقتاً طويلاً.
- طريقة أكالة وخطيرة نتيجة استخدام حمض الكبريت المركز مع درجات حرارة عالية حيث يجب استخدام المخلية لخروج الغازات السامة.

٢- طريقة نيسلر Nesler method

يعاير النشادر لونياً باستخدام كاشف نسلر (محلول يودور الزئبق و يودور البوتاسيوم) في وسط قلوي حيث يتشكل معقد لوني تقاس شدة كثافته اللونية عند طول موجة ٣٨٠ نانومتر، يتم تحضير سلسلة عيارية من محاليل النشادر من أجل رسم المنحني العياري.

طريقة المعايرة بالفورمول Formol titration:

تفيد في تحديد البروتين في الحليب ويعتمد مبدأ الطريقة على إمكانية معايرة مجموعات الكربوكسيل للبروتين بمحلول قلوي معلوم النظامية بوجود مشعر فينول فتالئين، و ذلك بعد إضافة الفورمالين (الفورم ألدهيد أو الفورمول) الذي يتفاعل مع مجموعات الأمينو -NH2 للبروتين ويشكل مجموعات متيلين– أمينو (-N=CH2) حيث تصبح بذلك مجموعات الكربوكسيل متاحة للمعايرة.

الطرائق الطيفية:

طريقة البيوريت Biuret method:

يتم الكشف عن البروتينات المنحلة بالماء في هذه الطريقة وتعتمد على أن شوارد النحاس من كبريتات النحاس يشكل في محلول قلوي من (طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم +هيدروكسيد الصوديوم) معقد مع الروابط الببتدية ويعطي لون بنفسجي تقاس الامتصاصية عند طول موجة.540nm.

طريقة تفاعل النهدرين:

تفاعل عام يستخدم للكشف عن المجموعة الأمينية في الأحماض الأمينية والببتيدات والبروتينات ويعطي معقدات بلون أزرق بنفسجي (ماعدا البرولين يعطي لون أصفر) ويستخدم للكشف الكيفي والتحديد الكمي .

المبدأ: يتلخص هذا التفاعل بإزالة مجموعة الأمين من الحمض الأميني جراء عملية الأكسدة الناتجة عن تأثير مركب النهدرين حيث يتم بداية حلمهة عينة نقية من البروتين بحمض قوي مثل حمض كلور الماء المركز وفي حرارة 110م لمدة 24ساعة وتقاس الامتصاصية عند طول موجة 570nm.

طريقة لووري Lowry Method:

تجمع طريقة لووري محلول بيوريت مع محلول آخر هو كاشف Folin-Ciocalteau phenol reagent والذي يتفاعل مع بقايا ثيروسين وتربتوفان في البروتينات.

يعطي لون مزرق والذي يمكن أن تقرأ الامتصاصية ما بين 500-700 نانومتر اعتماداً على الحساسية المطلوبة.

هناك قمة peak صغيرة عند حوالي 500 نانومتر يمكن أن تستعمل لتقدير تراكيز البروتين العالية وقمة كبيرة عند حوالي 750نانومتر يمكن أن تستعمل لتقدير تراكيز البروتين المنخفضة.

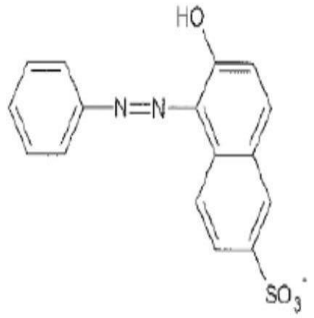
هذه الطريقة أكثر حساسية إلى التراكيز المنخفضة من البروتينات من طريقة بيوريت.

طرق الارتباط بالصبغة Dye binding methods:

مبدأ الطريقة أنه في pH منخفضة المجموعات الأساسية الأمينية للبروتينات تكتسب شحنة موجبة لترتبط بشكل كمي مع صباغ مشحون بشحنة سالبة، وهو صباغ الأسيد أورانج ذو اللون البرتقالي ، وعند الارتباط فإن الصباغ يفقد لونه وبالتالي كلما كانت كثافة اللون أقل كان تركيز البروتين أكبر.

- من الأحماض الأمينية التي تكتسب شحنة موجبة في pHمنخفضة

الهيستيدين والأرجينين



طريقة براد فورد:

تشبه إلى حد ما طريقة الارتباط بالصباغ ولكن يستبدل الأورانج أسيد بأزرق كوماسي اللماع ، حيث يرتبط أزرق الكوماسي مع حموض أمينية محددة وإلى البنى الثالثية من البروتينات وعندها يتحول اللون من بني محمر إلى الأزرق.