



المحاضرة الثالثة والرابعة
الحموض الأمينية البيبتيدات والبروتينات

الحموض الأمينية, الببتيدات, البروتينات

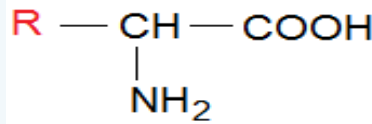
مقدمة إلى بنية البروتينات

تعتبر البروتينات جزيئات عضوية كبيرة الحجم حاوية على الأوت وهي ذات بنية معقدة. تتألف البروتينات من أحماض أمينية مرتبطة مع بعضها بروابط ببتيدية تشاركية لتشكل سلسلة ببتيدية. الوحدة الأساسية المشكلة للبروتينات هي الأحماض الأمينية من نوع ألفا amino acid. يعتبر الوزن الجزيئي العالي هو الصفة المميزة للبروتينات

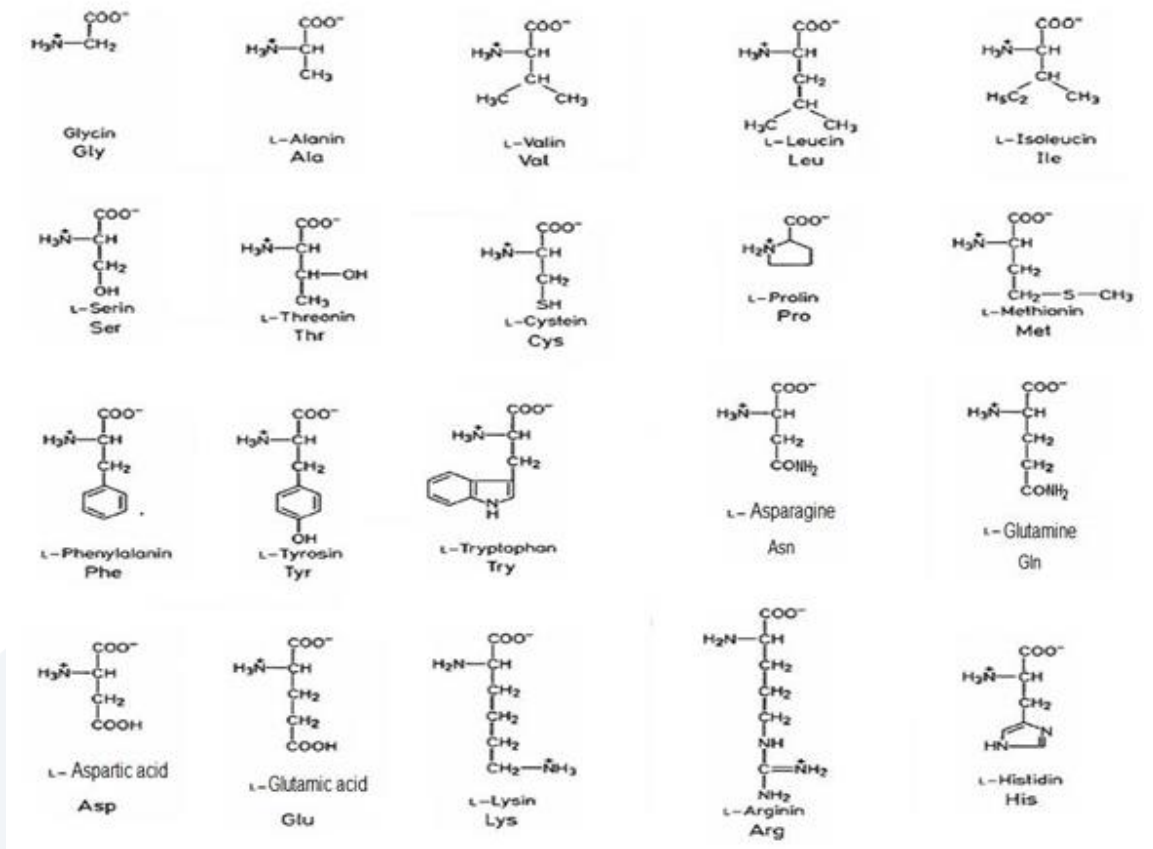
1- الأحماض الأمينية كوحدات البناء الأساسية للبروتينات

1-1- تعريف الحموض الأمينية:

الأحماض الأمينية هي أحماض كربوكسيلية عضوية تم فيها استبدال ذرة هيدروجين واحدة على الأقل من سلسلتها الهيدروكربونية بمجموعة أمينية. تصنف الأحماض الأمينية إلى ألفا، بيتا، غاما إلخ.. وذلك اعتمادا على موقع ذرة الكربون الحاملة للمجموعة الأمينية بالنسبة إلى المجموعة الكربوكسيلية.



وكما هو واضح في الشكل السابق فإن الأحماض الأمينية العشرين تشترك بامتلاكها ذرة كربون غير متناظرة في الموقع ألفا ما عدا الغليسين ويقصد بذرة الكربون الغير متناظرة أنها تحمل أربع متبادلات مختلفة وهذه المتبادلات المجموعة الامينية، المجموعة الكربوكسيلية، الهيدروجين والمجموعة R وإن أبسط الأحماض الأمينية هو الغليسين حيث تكون المجموعة R هي ذرة هيدروجين أما في باقي الأحماض الأمينية فيمكن للمجموعة R أن تكون أليفاتية أو حلقة عطرية أو تحوي مجموعات أخرى، الأحماض الأمينية العشرين موضحة في الشكل التالي:



يوجد بعض الأحماض الأمينية التي لا تدخل في تركيب البروتين وهي تتواجد في الخلية بشكل حر (مستقلب لمركبات أخرى) أو يمكن أن تكون جزء من مركب آخر غير بروتيني. غاما أمينو بوتيريك أسيد هو مثال عن الأحماض الأمينية غير البروتينية التي تتواجد بشكل حر وهو ناقل عصبي.

2-1- تصنيف الأحماض الأمينية الداخلة بتركيب البروتين (proteogenic amino acids):

الأحماض الأمينية التي تدخل في تركيب البروتين هي من الشكل L وهي تحمل مجموعة أمينية على الكربون في الموقع ألفا. حالياً يوجد ثلاثة تصانيف لأحماض الأمينية:

1-2-1 تصنيف الأحماض الأمينية تبعاً لبنية السلسلة الجانبية R التي تحملها:

- أحماض أمينية مع سلسلة جانبية غير قطبية وغير مشحونة مثل الغليسين، الألانين، الفالين، الليوسين، الإيزوليوسين، ميثيونين.

- أحماض أمينية ذات سلسلة جانبية قطبية غير مشحونة مثل السيرين، ثيرونين، سيستئين، أسبارجين وغلوتامين
- أحماض أمينية ذات سلسلة جانبية مشحونة مثل الليزين، الأرجينين، حمض الأسبارتيك، حمض الغلوتاميك، الهستيدين.
- أحماض أمينية ذات سلسلة جانبية تحمل حلقة عطرية: مثل التيروزين، الفينيل الانين والتربتوفان
- 1-2-2- تصنيف الأحماض الأمينية تبعاً للأهمية الفيزيولوجية:
- حيث تصنف إلى أحماض أمينية أساسية، نصف أساسية، غير أساسية
- الأحماض الأمينية الأساسية: لا يمكن اصطناعها في الجسم من مركبات أخرى لذلك يجب تزويد الجسم بها من خلال الطعام. الأحماض الأمينية الأساسية هي ثمان أحماض أمينية وهي الفالين، الليوسين، إيزوليوسين، تريونين، فينيل ألانين، تربتوفان، ليزين، ميثيونين.
- الأحماض الأمينية نصف الأساسية: وهي الأرجينين و الهستيدين
- الأحماض الأمينية غير الأساسية: حيث يمكن اصطناعها في الجسم وبكميات كافية من الأحماض الأمينية الأساسية أو من مكونات أخرى. هذه الأحماض الأمينية هي الغليسين، الألانين، السيرين، التيروزين، السيستئين، حمض الأسبارتيك،

حمض

الحمض الأميني الأساسي	ملغ/كغ (في اليوم)	الحمض الأميني الأساسي	ملغ/كغ (في اليوم)
Valine	10	Threonine	7
Leucine	14	Methionine +Cysteine	13
Isoleucine	10	Phenylalanine +Tyrosine	14
Lysine	12	Tryptophan	3.5

الغلوتاميك، البرولين، الغلوتامين، الأسبارجين.

يظهر في الجدول التالي الحاجة اليومية من الحموض الأمينية الأساسية:

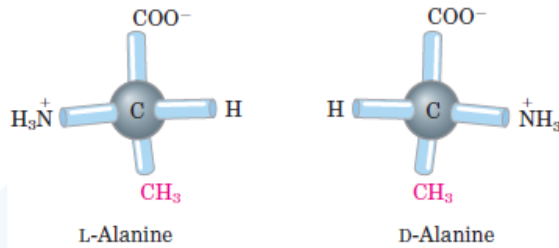
الليزين حمض أميني محدد في بروتين الحبوب، التريونين حمض أميني محدد في القمح والشعير، الميثيونين حمض أميني محدد في بروتينات الحليب واللحم، التربتوفان حمض أميني محدد في الذرة والرز.

3-1- صفات الحموض الأمينية

1-3-1- الصفات الفيزيائية للأحماض الأمينية

1-1-3-1- 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 (asymmetric carbon) 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 ان تتواجد في بعض النباتات وفي الجراثيم. أخيراً يمكن لبعض الأحماض الأمينية أن تمتلك ذرتي كربون لا متناظرة مثل الإيزوليوسن.



1-3-1-2- الانحلالية:

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

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 الإيثير أما الانحلالية في الإيتانول فإن البرولين والسيستئين منحلين نسبياً به.

3-1-3-1- الامتصاصية في المجال فوق البنفسجي

تمتص الأحماض الأمينية العطرية (تريبتوفان, فينيل ألانين, ثيروزين) الضوء في المجال فوق البنفسجي مع امتصاص أعظمي عند طول موجة 290-250 nm, و عند 200-230 nm, أما الهستيدين والسيستئين والميتيونين فيتم الامتصاص عند طول موجة 210-200 nm. يكون تحديد المحتوى من البروتينات والببتيدات بقراءة الامتصاصية عند طول موجة 280 nm .

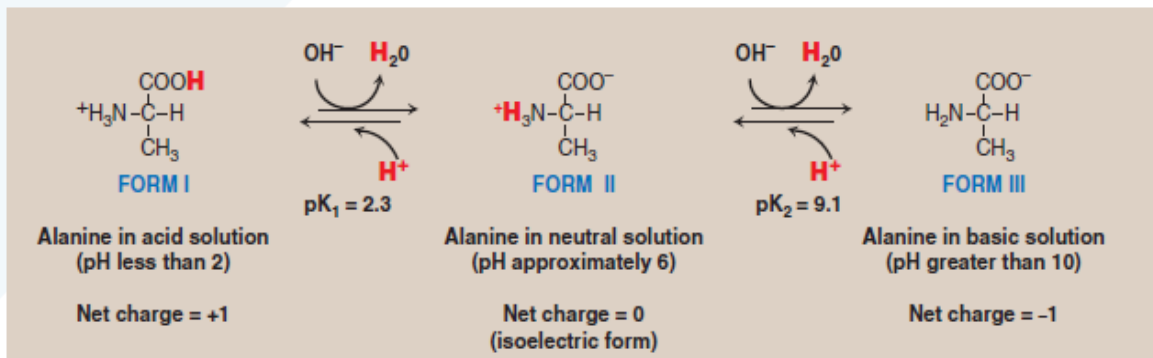
4-1-3-1 الصفات الحمضية الأساسية للأحماض الأمينية

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.

5-1-3-1 تشرد المجموعة الكربوكسيلية والأمينية في الحمض الأميني (الالانين كمثال)

تحمل كلاً من المجموعة الأمينية والكربوكسيلية للالانين في pH منخفض بروتون كما يظهر في الشكل التالي (form 1). عند ارتفاع pH تشرد المجموعة الكربوكسيلية وتعطي بروتون للوسط حيث يتشكل نتيجة لذلك ثنائي قطب يسمى الأيون التوأم zwitterion (form 2) 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



2-3-1- التفاعلات الكيميائية للحموض الأمينية

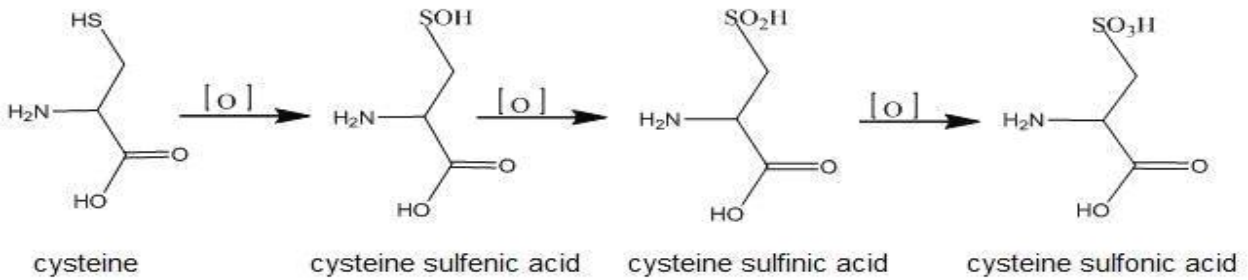
وهي تفاعلات المجموعة الكربوكسيلية والامينية التي تحملها في الموقع ألفا، ويضاف لها المجموعات العائدة للسلسلة الجانبية. كما يوجد التفاعلات التي تحدث بالحرارة العالية ويقصد بها تفاعلات المجموعات الطرفية ومجموعات السلسلة الجانبية أثناء المعالجة الحرارية للأغذية.

3-3-1- 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 (recognition threshold value)

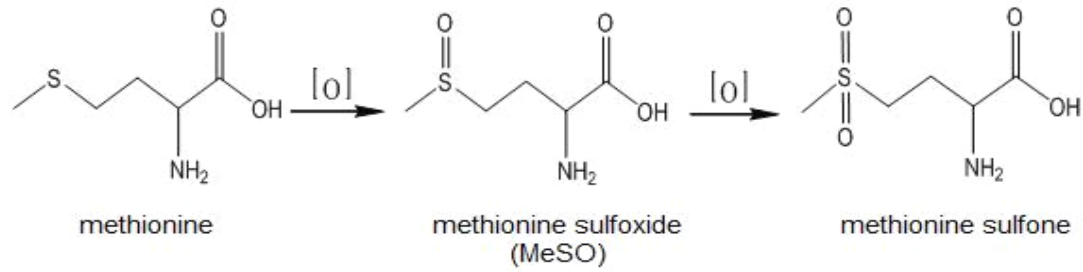
4-1- بعض الحموض الأمينية:

- الغليسين: يتوافر بكثرة في البروتينات الليفية مثل الكولاجين (25-30%)
- الألانين: يتواجد بكثرة في فيبروين الحرير (35%) وفي في الجيلاتين (9%)
- فالين، ليوسن، إيزوليوسن: تساهم بالتداخلات الكارهة للماء التي تساهم بثباتية البنية الثالثية
- البرولين: يتوافر بكثرة في الكولاجين
- التريونين والسيرين: ترتبط على مجموعة الهيدروكسيل التي تحملها هذه الحموض الأمينية جزيئة سكر مثلاً
- السيستين: يتعرض بسهولة للأكسدة وينتج عن ذلك عدة مركبات كما هو موضح بالشكل التالي:



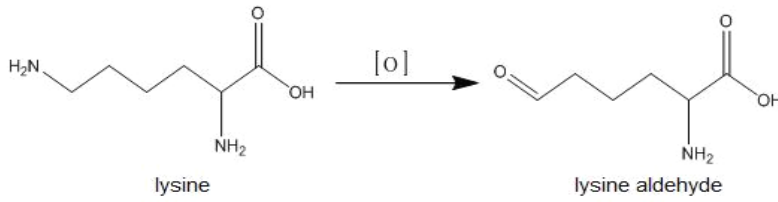
تسهم جسور الكبريت الناتجة عن تفاعل جزيئتين من السيستئين بثبات بنية البروتين وتحديداً البنية الثالثية وهي تتشكل بين ثمالي سيستئين غير متجاورتين، يعمل كمضاد أكسدة لذلك له فائدة في الصناعة الصيدلانية والتجميلية كما يلعب دوراً في ثبات العجين.

- المتيونين: يتأكسد بسهولة أثناء كل عمليات المعالجة الحرارية للأغذية معطياً العديد من المركبات إلا أن ذلك يؤدي لخسارته:

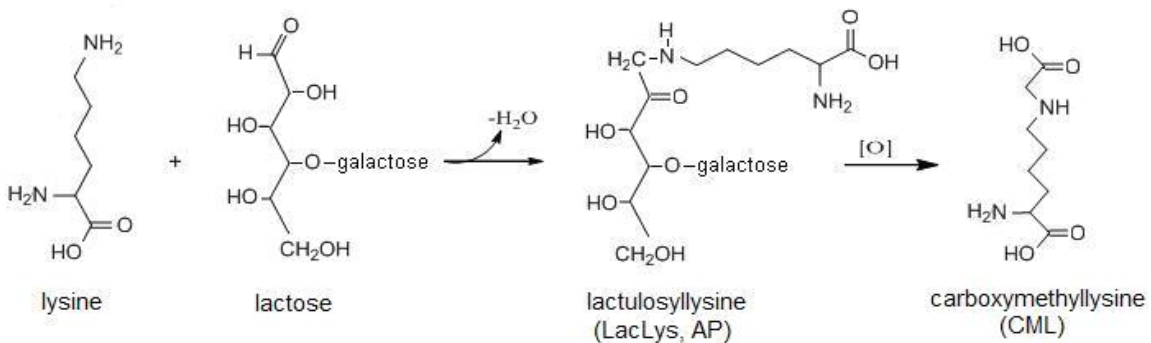


- الليزين: ويخضع لعدة تفاعلات مثل:

1- الأكسدة كما يظهر في الشكل التالي (حيث يتشكل ليزين ألدهيد الذي يدخل بدوره بتفاعلات أخرى)



2- التفاعل مع السكريات المرجعة حيث يتفاعل مع الغلوكوز أو مع اللاكتوز كما هو موضح بالشكل التالي:



كما يوجد بعض الحموض الأمينية الخاصة (التي لا تتشكل عبر ترجمة المعلومة الوراثية) مثل:

- Hydroxylysine و 4-Hydroxyproline وهي تتواجد بكثرة في البروتينات الليفية
- β -alanine (تتواجد في البيبتيدات الثنائية: كارنوسين, أنسيرين , بالينين)
- derivat of S-alkylcysteine; derivat of S-alkylcysteine sulfoxide تتواجد في التوم والبصل
- GABA ناقل عصبي لكن يتواجد في الأغذية بشكل حر في الحمضيات
- DOPA يتواجد بشكل حر في الفاصولياء
- Citruline يتواجد بشكل حر في الجبس
- Betaine (glycinebetaine) يتواجد بشكل حر في الشوندر السكري
- Sarkosine يتواجد في اللحوم وعصارات اللحوم
- Creatine يتواجد في اللحوم وعصارات اللحوم

a. مصادر الحموض الأمينية

يتم الحصول على الحموض الأمينية بالطرق التالية:

- الاصطناع الكيماوي
- الاستخلاص (الحلمة)
- الإنتاج الميكروبيولوجي
- الإنتاج الإنزيمي
- العزل، ويوضح الجدول التالي بعض استخدامات الحموض الأمينية:

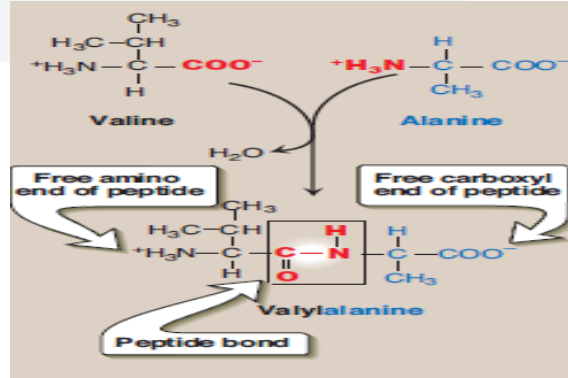
Table 1.11. World production of amino acids, 1982

Amino acid	t/year	Process ^a				Mostly used as
		1	2	3	4	
L-Ala	130		+		+	Flavoring compound
D,L-Ala	700	+				Flavoring compound
L-Arg	500			+	+	Infusion
L-Asp	250		+		+	Therapeutics Flavoring compound
L-Asn	50				+	Therapeutics
L-CySH	700				+	Baking additive Antioxidant
L-Glu	270,000			+		Flavoring compound flavor enhancer
L-Gln	500			+		Therapeutics
Gly	6,000	+				Sweetener
L-His	200			+	+	Therapeutics
L-Ile	150			+	+	Infusion
L-Leu	150			+	+	Infusion
L-Lys	32,000		+	+		Feed ingredient
L-Met	150		+			Therapeutics
D,L-Met	110,000	+				Feed ingredient
L-Phe	150		+	+		Infusion
L-Pro	100			+	+	Infusion
L-Ser	50			+	+	Cosmetics
L-Thr	160			+	+	Food additive
L-Trp	200		+	+		Infusion
L-Tyr	100			+		Infusion
L-Val	150		+		+	Infusion

أخيراً لا بد من القول أنه يوجد عدة تقنيات لتحليل الحموض الأمينية مثل الطرق الكروماتوغرافيا والقياس في المجال فوق البنفسجي أو بعد اشتقاقها وتحولها لمركبات ذات امتصاصية في المجال فوق البنفسجي، كما يمكن استخدام كروماتوغرافيا التبادل الأيوني ومن ثم الاشتقاق بالنهيدرين، يمكن أيضاً استخدام الكروماتوغرافيا الغازية بعد إجراء الاشتقاق عليها.

6- البيبتيدات

- ترتبط الأحماض الأمينية في البيبتيدات والبروتين عبر رابطة أميدية تسمى الرابطة البيبتيدية وهي رابطة تتشكل بين المجموعة الكربوكسيلية على الكربون ألفا من الحمض الأميني الأول والمجموعة الأمينية على الكربون ألفا من الحمض الأميني الثاني. على سبيل المثال يشكل الفالين والألانين ثنائي البيبتيد valylalanine عبر رابطة بيبتيدية (الشكل التالي). عادة تكون المجموعة الأمينية الطرفية الحرة (N-terminal) إلى اليسار والمجموعة الكربوكسيلية الطرفية الحرة (C-terminal) إلى يمين السلسلة، لذلك عند قراءة السلسلة البيبتيدية فإنها تقرأ من اليسار إلى اليمين (N- to the C).



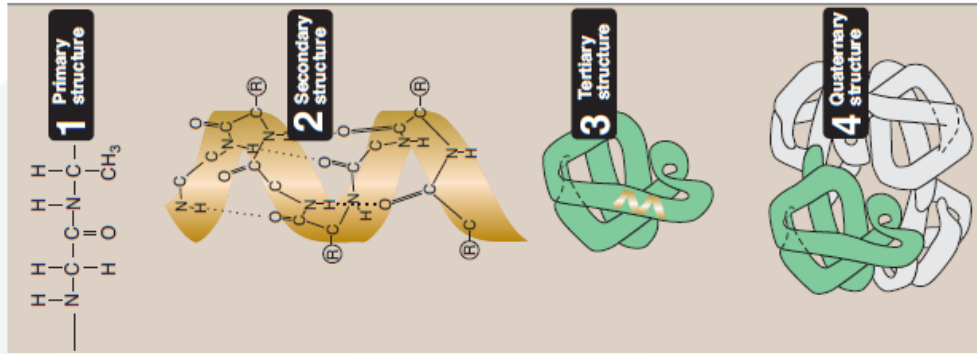
- إن ارتباط عدة أحماض أمينية مع بعضها ينتج عنه سلسلة غير متفرعة هي سلسلة عديد الببتيد وكل مكون من مكونات سلسلة عديد الببتيد هذه تسمى بالثمالة "residue" لأنها الجزء الذي يبقى من الحمض الأميني بعد فقد جزيئة الماء أثناء تشكل الرابطة الببتيدية. من الجدير بالذكر أنه أثناء تسمية عديد الببتيد تتغير أسماء جميع الأحماض الأمينية التي تدخل في بنيتها والتي لها اللاحقة ((-ine, -an, -ic, or -ate) إلى اللاحقة -yl) (ماعد الحمض الأميني المشكل للنهاية C فلا تتغير لاحقته). على سبيل المثال ثلاثي الببتيد المتكون من الفالين ((N-terminal) والغليسين والليوسين (C-terminal) يسمى فاليل غليسيل ليوسين valyl glycyl leucine
- يحتاج تحطم الرابطة الببتيدية إلى التعرض لحمض أو قلوي مركز مصحوباً بدرجات حرارة مرتفعة كما يمكن حلمتها بطرق إنزيمية
- المجموعات المشحونة في عديد الببتيد تتكون من المجموعة الأمينية الطرفية الحرة والمجموعة الكربوكسيلية الطرفية الحرة ويضاف إليهم أي مجموعة مؤينة موجودة في السلسلة الجانبية للحمض الأميني. إن المجموعتين - C=O and -NH في الرابطة الببتيدية قطبيين ويشاركان بروابط هيدروجينية في البنية الثانوية للبروتين
- تتكون الببتيدات من 2-100 حمض أميني حيث يسمى أوليغوببتيد oligopeptides عندما يحوي 2-10 ثمالة, ويسمى بوليبيبتيد: polypeptides: عندما يحوي 10-100 ثمالة حمض أميني ويعتبر بروتين عندما يحوي أكثر من 100 ثمالة حمض أميني
- ومن أهم الببتيدات نذكر:

- Aspartame
- Glutathione

- تمييز اللحوم عن بعضها Carnosine, Anserine, Balenine
- Bioactive peptides
- nisin

7- البروتينات

ترتبط الأحماض الأمينية العشرين التي تتواجد عادة في البروتين برابطة ببتيدية. ترتبط الأحماض الأمينية لتوليد جزيئة البروتين ببنيتها المعقدة وشكلها ثلاثي الأبعاد، ويمكن فهم هذه البنية المعقدة عبر اعتبار جزيئة البروتين مرتبة عبر أربعة مستويات تسمى: البنية الأولية، الثانوية، الثالثة والرابعة.



1-4 البنية الأولية للبروتين primary structure of protein

يسمى تسلسل الأحماض الأمينية sequence of amino acids المشكلة للبروتين بالبنية الأولية ويمكن تحديده كما سنرى لاحقاً. ترتبط الأحماض الأمينية في البروتين عبر الرابطة الببتيدية التي تتشكل بين المجموعة الكربوكسيلية على الكربون ألفا من الحمض الأميني الأول والمجموعة الأمينية على الكربون ألفا من الحمض الأميني. إن الرابطة الببتيدية لا تتحطم عبر الظروف التي تؤدي إلى تمسخ البروتين مثل التسخين أو التراكيز العالية من اليوريا، حيث يحتاج تحطيمها إلى التعرض لحمض أو قلوي مركز مصحوباً بدرجات حرارة مرتفعة كما يمكن حلمتها بطرق إنزيمية.

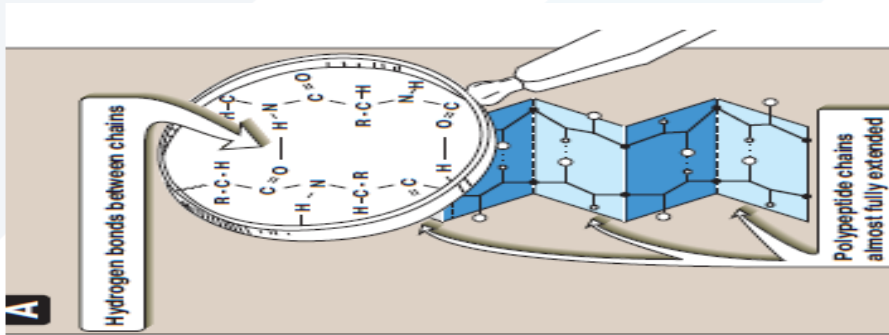
a. البنية الثانوية لعديد الببتيد: إن العمود الفقري لعديد الببتيد لا يظهر بشكل بنية عشوائية ثلاثية الأبعاد وإنما يملك ترتيب منتظم للحموض الأمينية المتوضعة بجانب بعضها في السلسلة الخطية لعديد الببتيد. يسمى هذا الترتيب

البنية الثانوية للبروتين ومن أمثلتها الحلزون ألفا وصفائح بيتا (β bend (β turn) والبنى فوق الثانوية. تعتمد البنى الثانوية على الروابط الهيدروجينية

α -Helix البنية اللولبية ألفا (الحلزون ألفا)

تثبت بنية الحلزون ألفا من خلال روابط هيدروجينية بين الأوكسيجين من المجموعة الكربونيلية في الرابطة الببتيدية والهيدروجين الأميدي -NH- من الرابطة الببتيدية على بعد عدة ثملات حموض أمينية إلى الأمام في عديد الببتيد.
صفائح بيتا

وهي شكل آخر من البنية الثانوية حيث تدخل بها كل مكونات الرابطة الببتيدية في السلسلة الببتيدية بتشكيل روابط هيدروجينية. يمكن أن تكون صفائح بيتا بشكل متوازي (أي تتوازي مع بعضها بدءاً من النهاية N-) أو غير متوازي



b. البنية الثالثية للبروتين

البنية الأولية للبروتين هي التي نحدد لاحقاً بنيتها الثالثية وإن البنية الثالثية تشير إلى FOLDING. تتصف بنية البروتينات الكروية بكثافة عالية للذرات (تراص) في الجزء المركزي أو العمود الفقري للجزيئة بحيث تكون السلاسل الجانبية الكارهة للماء متجهة إلى الداخل والمجموعات المحبة للماء للسلاسل الجانبية متوضعة على سطح جزيئة البروتين. التداخلات التي تثبت البنية الثالثية للبروتين هي:

- روابط ثنائي الكبريت: وهي رابطة تشاركية تتشكل من مجموعتي سلفهيدريل (-SH) بحيث تكون كل واحدة منها موجودة في ثمالة سيستين ويتشكل نتيجة الرابطة ثنائية الكبريت هذه السيستين.

- كما تلعب كل من التداخلات الكارهة للماء والروابط الهيدروجينية والتداخلات الشاردية دوراً في البنية الثالثية للبروتين

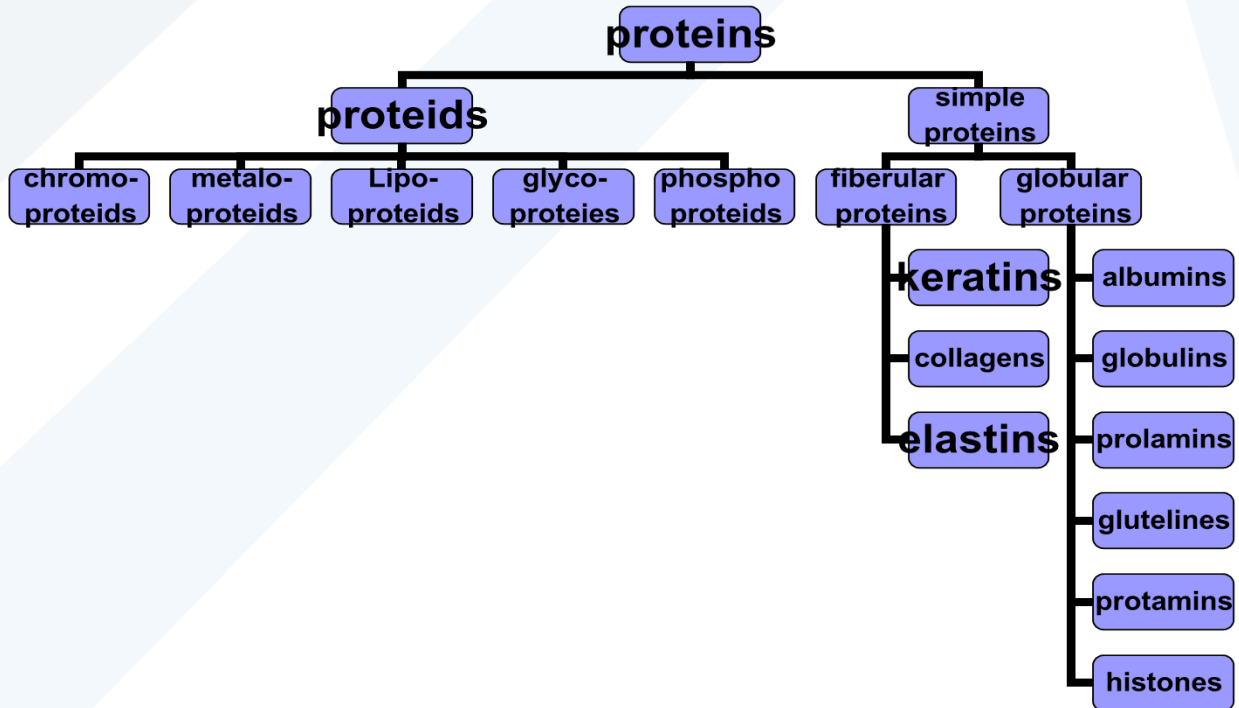
c. البنية الرباعية للبروتينات

بعض البروتينات تتكون من سلسلة عديد ببتيد واحدة لكن بعض البروتينات تتكون من أكثر من سلسلة عديد ببتيد والتي يمكن أن تكون غير متطابقة مع بعضها أو مختلفة بشكل كامل وكل واحدة من سلاسل عديد الببتيد في هذه الحالة يسمى بتحت وحدة. subunit.

ترتيب تحت الوحدات هذه فيما بينها يسمى بالبنية الرباعية للبروتينات. تتماسك تحت الوحدات هذه مع بعضها بروابط غير تشاركية مثل الرابطة الهيدروجينية والرابطة الشاردية والتداخلات الكارهة للماء

8- تصنيف البروتينات بالأغذية

تصنف البروتينات بالأغذية كما هو موضح بالشكل التالي. تختلف صفات البروتينات فيما بينها كالوزن الجزيئي، الانحلالية في الماء، الصفات الحمضية والأساسية، مقاومة التمسح، القيمة البيولوجية



10- صفات البروتينات

تمتلك البروتينات العديد من الصفات يمكن تلخيصها بما يلي:

a. الخواص الفيزيائية

- التشرذ

- الكتلة الجزيئية

- انحلالية

b. الخواص البيوكيميائية:

حيث تلعب دوراً هاماً كبروتينات تغذية وكبروتينات بنوية إضافة إلى دورها كإنزيمات وهرمونات وأضداد وعوامل تخثر ودورها كبروتينات نقل الغازات.

c. الخواص الوظيفية في الأغذية

يندرج ضمن صفات البروتينات أيضاً قدرتها على:

- قدرتها على تشكيل الرغوة

- قدرتها على تشكيل الهلام (يمكن أن يكون الهلام عكوس أو غير عكوس)

- قدرتها على تشكيل المستحلبات

وبشكل عام فإن البروتينات ذات الوزن الجزيئي المنخفض والانحلالية بالماء هي الأقدر على ذلك

11- التغيرات التي تصيب البروتينات خلال المعالجة الحرارية للأغذية

a. تمسخ البروتين Protein Denaturation

ينتج تمسخ البروتين عن إزالة طي البروتين unfolding وتخریب البنية الثانوية والثالثية للبروتين لكنها لا تترافق مع حلمهة الرابطة الببتيدية للبروتين. ومن العوامل التي تسبب تمسخ البروتين نذكر الحرارة، المحلات العضوية والمنج الميكانيكي والأسس والحموض القوية وشوارد المعادن الثقيلة. يمكن للتمسخ أن يكون عكوس والذي يتم فيع عودة البروتين إلى حالة الطي مرة أخرى بعد زوال العامل الممسخ (مثل البروتينات الليفية). لكن في الواقع فإن معظم البروتينات لا تعود

لحالتها بعد التمسح أي أنه تمسخ غير عكوس (البروتينات الكروية) ، وتكون عادة البروتينات المتمسخة غير ذوابة في الماء ولذلك ترسب في المحاليل.

b. التغييرات التي تصيب البروتينات خلال تصنيع الأغذية: وتتم بآليات وأشكال مختلفة مثل:

- التغييرات غير الإنزيمية non-enzymatic reaction
- الأكسدة oxidation
- تصالب البروتينات protein cross-linkage (تداخل بروتين-بروتين)
- تداخلات بروتين - دسم (التفاعل بين البروتين وكل من الجذور الحرة والبيروكسيدات والمركبات الكربونيلية وثنائية الكربونيل الناتجة عن أكسدة الدسم)
- تداخلات بروتين - مواد فينولية

12- تحليل البروتينات

a. تحديد المحتوى العام من البروتينات:

- تحديد المحتوى العام من الأزوت (كلدال)
- الطرق اللونية (مثل طريقة البيوريت، وطريقة براد فورد، وطريقة زرقة الكوماسي)
- القياس في المجال فوق البنفسجي
- التآلق

b. تحديد الأحماض الأمينية الداخلة في تركيب عديد الببتيد أو البروتين

الخطوة الأولى في تحديد البنية الأولية لعديد الببتيد هي تحدد هوية وكمية الأحماض الأمينية الداخلة في تركيبه، حيث يتم بداية حلمة عينة نقية من البروتين بحمض قوي وفي حرارة 110 لمدة 24 ساعة. تعمل هذه المعاملة القاسية لعينة عديد الببتيد على تحطيم الرابطة الببتيدية وتحرير الأحماض الأمينية التي تدخل بتركيبه والتي يمكن فصلها لاحقاً بكروماتوغرافيا التبادل الكاتيوني ومن ثم كشفها وتحديد كمياً عبر مفاعلها مع كاشف النيهيدرين الذي يشكل لون بنفسجي مع معظم الأحماض الأمينية.

3-9- تحديد ترتيب الببتيد من النهاية الطرفية N

يعتبر تحديد ترتيب الببتيد عملية واسعة الانتشار بدءاً من النهاية الطرفية N بهدف تحديد موقع الحمض الأميني في السلسلة الببتيدية. ومن أجل ذلك يمكن استخدام عدة كواشف مثل كاشف إدمان Edman reagent الذي يستخدم لوسم ثمالة الحمض الأميني الطرفي في ظروف قلوية خفيفة.

4-9- عمليات فصل البروتين وترسيبه: يمكن ترسب البروتين أي فصله بعدة عوامل مثل حرارة، المحلات العضوية والمزج الميكانيكي والأسس والحموض القوية وشوارد المعادن الثقيلة.

5-9- تحديد الوزن الجزيئي: يمكن أن يتم بمقياس الطيف الكتلي، كما يمكن لطرائق الفصل بالطرق الكروماتوغرافية المختلفة الفصل بالرحلان الكهربائي أن تساعد في تحديد الوزن الجزيئي لبروتين ما.