

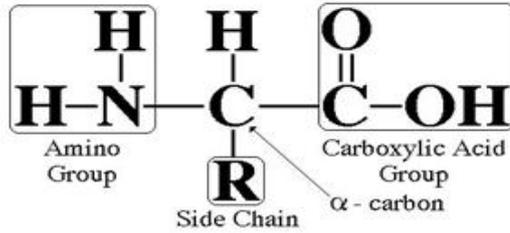
Amino acids الحوامض الامينية

البروتينات Proteins: هي عبارة عن مركبات نيتروجينية معقدة تخلق داخل جسم الكائن الحي من (قراية) عشرين نوعا من الحوامض الامينية . وتختلف البروتينات عن بعضها البعض بعدد ونوع وتعاقب (تسلسل) الحوامض الامينية الداخلة في تركيبها.

- تسمية البروتينات Proteins مشتقة من الكلمة اللاتينية Protios والتي تعني الاول وذلك لاهميتها في تركيب جميع الخلايا الحية حيث تشكل البروتينات حوالي نصف الوزن الجاف للخلايا. واللبنة الأولية لبناء جميع البروتينات بغض النظر عن أصل أنواعها هي مجموعة مكونة من ٢٠ حامض أميني وتسمى بالأحماض الأمينية البروتينية لأنها هي فقط تدخل في تركيب البروتين.

- كما مر اعلاه فان البروتينات تتألف من الحوامض الامينية اي ان الوحدات البنائية للبروتينات هي الحوامض الامينية لذلك تتطلب دراسة البروتينات معرفه شاملة عن مكوناتها من الاحماض الامينية.

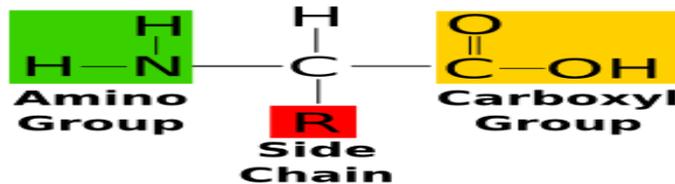
Amino acids الحوامض الامينية

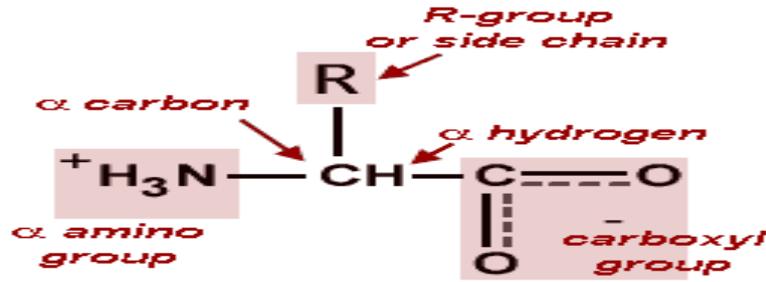


- وهي الوحدات البنائية لجزيئات البروتينات المكونة للانسجة الحية او الموجودة في الانسجة الحية

- الأحماض الأمينية الموجودة في الطبيعة و الأحماض الأمينية المصنعة هي أكثر من ٣٠٠ حمض أميني. ولكن عدد الحوامض الامينية التي تدخل في تركيب البروتينات هو (٢٠) حامض اميني

تركيب الحوامض الامينية : تحتوي الحوامض الامينية بصورة عامة على مجموعة كاربوكسيل (-COOH) ومجموعة امين -NH₂ ومجموعة R مرتبطة وذرة كاربون نوع الفا وكما يلي

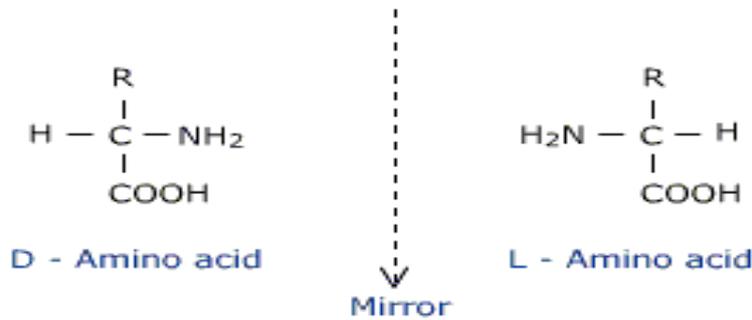




جميع الأحماض الأمينية البروتينية ما عدا الكلايسين تتكون من ذرة الكربون ألفا مرتبطة بأربع مجموعات مختلفة وهي - مجموعة الأمين و - مجموعة الكربوكسيل و - ذرة الهيدروجين و - السلسلة الطرفية R.

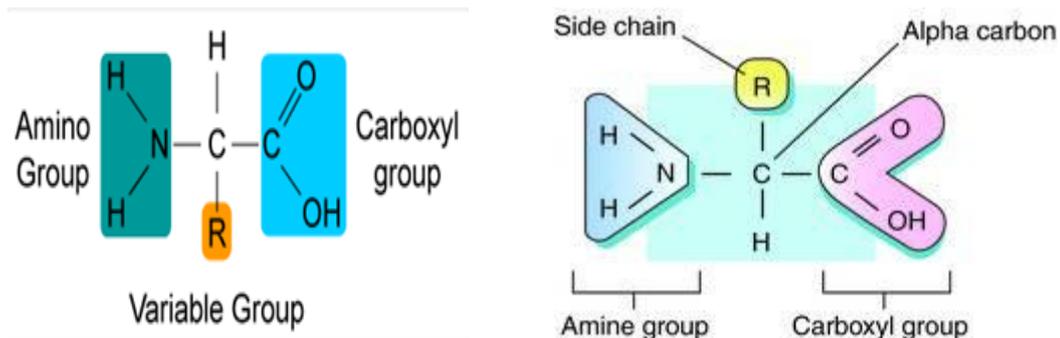
إذا لدينا ذرة كربون مرتبطة بأربعة مجاميع مختلفة ويجب ان يكون لدينا ايزومرين انداد

L و D



ولكن جميع الحوامض الامينية البروتينية تكون من نوع الفا ومن نوع (L)، مع العلم انه يوجد بعض الكائنات المجهرية انواع من الحوامض الامينية بشكل D وبشكل B.

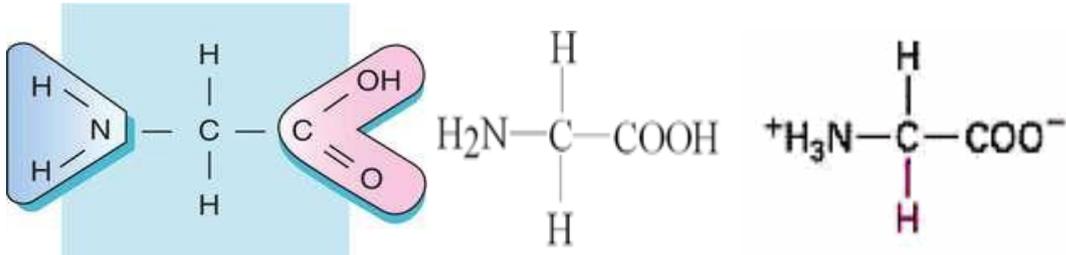
- يلاحظ من بنية الاحماض الامينية ان هناك اجزاء موجودة في جميع هذه الاحماض وهي مجموعة الأمين ومجموعة الكربوكسيل وذرة الهيدروجين ولكن تختلف عن بعضها البعض بمجموعة R حيث ان لكل حامض اميني سلسلة جانبية R تميزها عن بعضها البعض . حيث ان R قد تكون سلسلة جانبية مستقيمة او متفرعة او حلقات بنزين او غيرها من التراكيب الحلقية او غير الحلقية الاخرى .



- يرمز لكل حامض اميني بشكل مختصر بثلاثة حروف من اسمائها . وفيما يلي اسماء ومختصرات وتراكيب الحوامض الامينية العشرين :

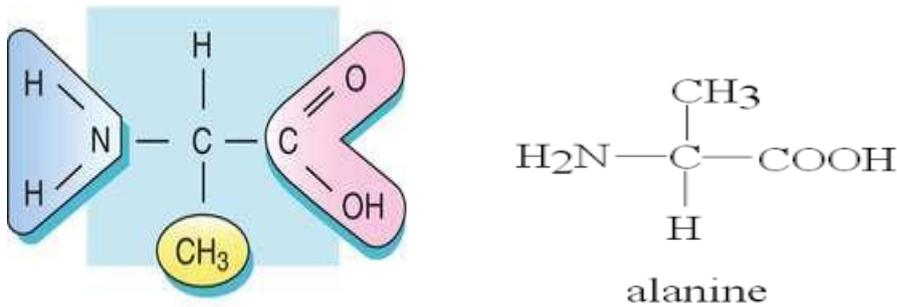
أ- الالفاتية

١- كلايسين "Gly" Glycine



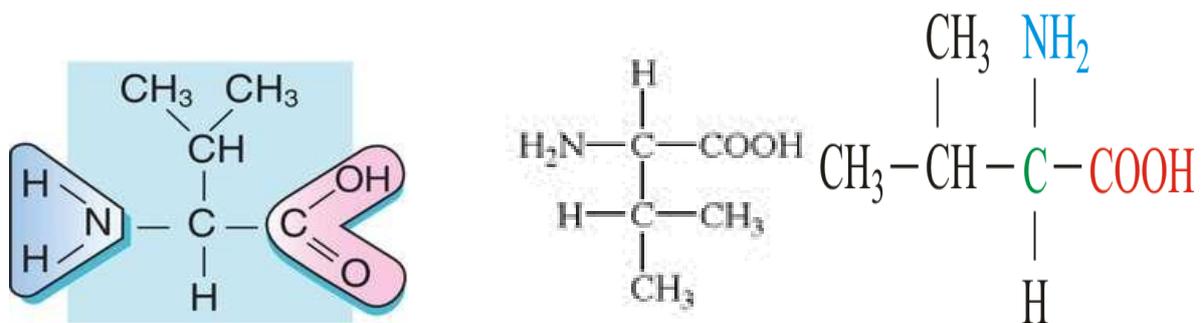
R=H

٢- الالانين "Ala" Alanine



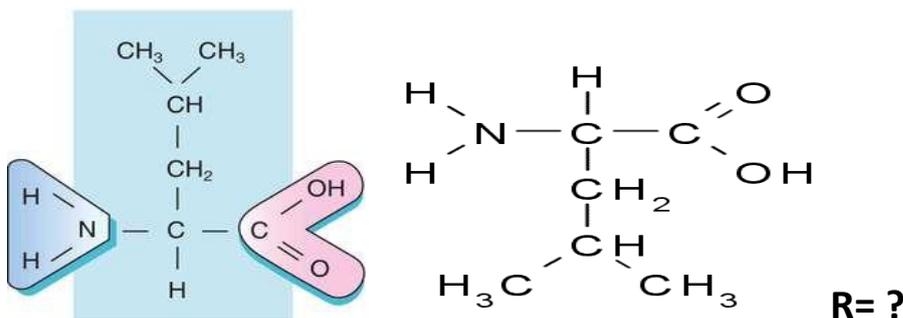
R=CH₃

٣- فالين "Val" Valine

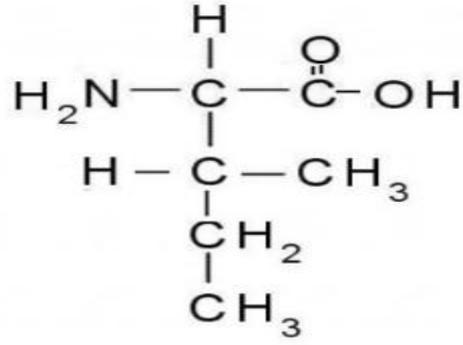
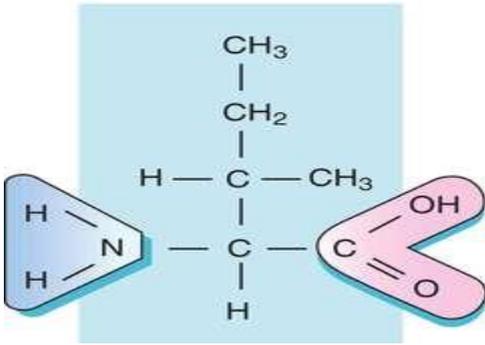


R= CH₃-CH-CH₃

٤- ليوسين "Leu" Leucine



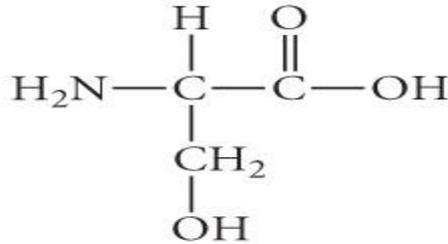
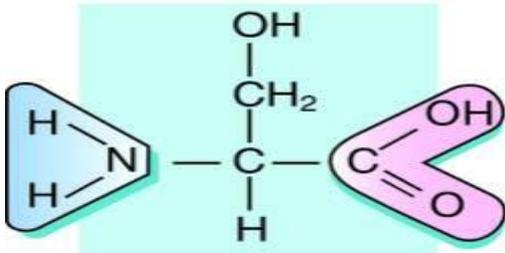
٥- ايزوليوسين "Ile" Isoleucine



R=

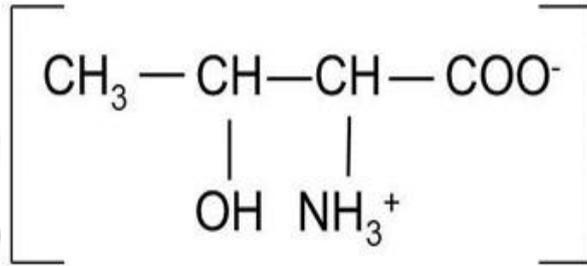
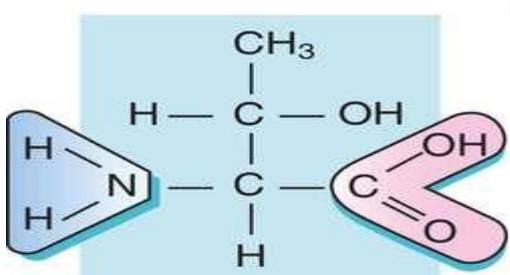
ب- ذات مجموعة R اليفانية حاوية على مجموعة هيدروكسيل -OH

٦- سيرين "Ser" Serine



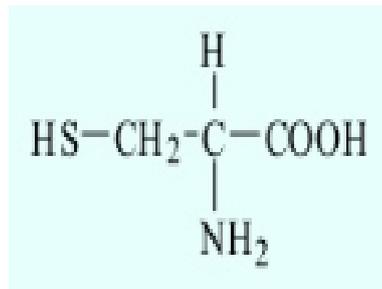
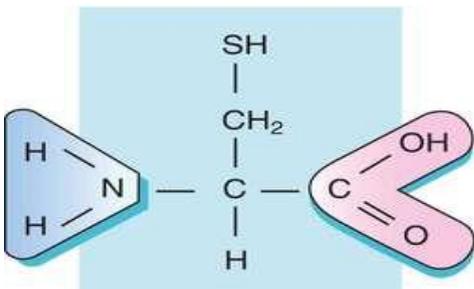
R=?

٧- ثيريونين "Thr" Threonine

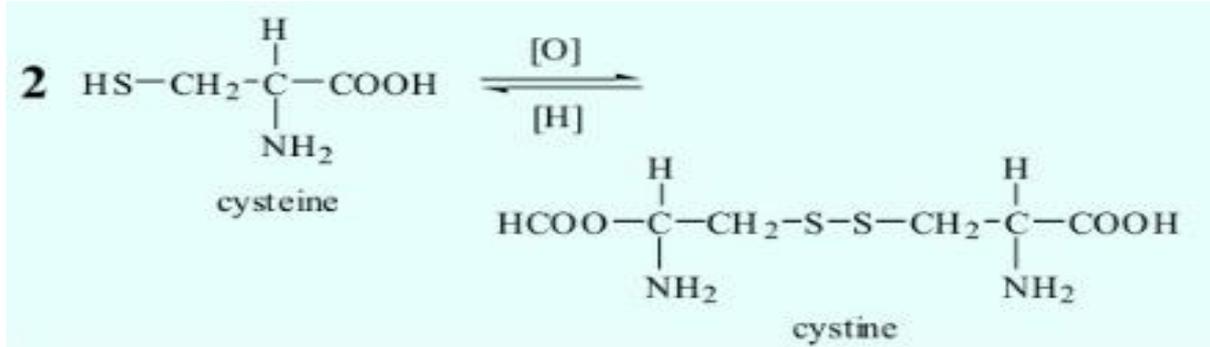


ج- الحوامض ذات R اليفانية حاوية على كبريت

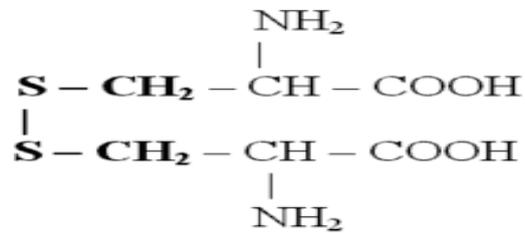
٨- سستائين "Cys" Cysteine



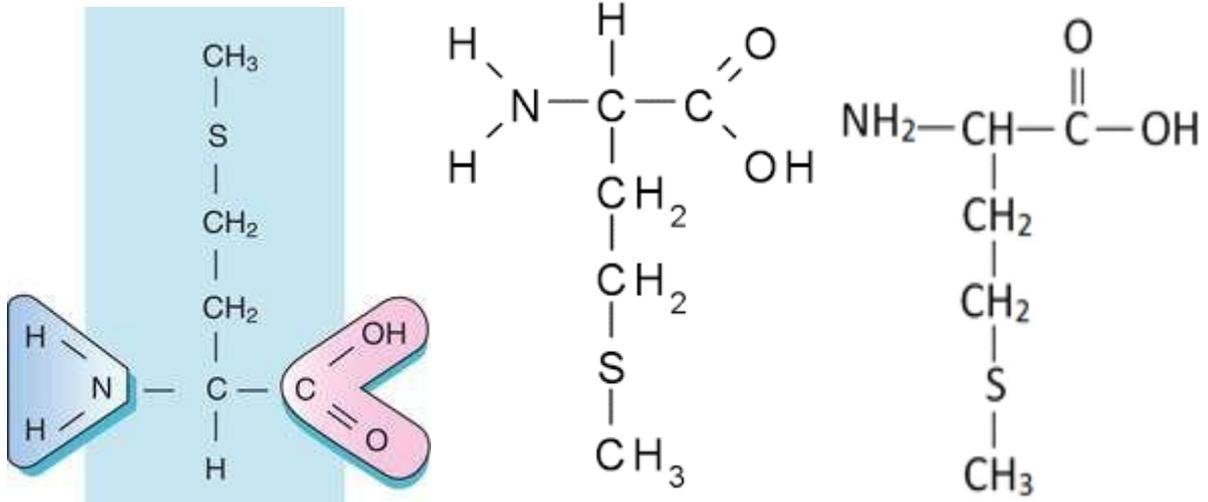
*عندما ترتبط جزيئين منه باصر s-s (باصرة كبريتية) يسمى سستين Cystine ويرمز له Cys-Cys



او يكتب

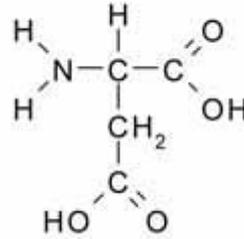
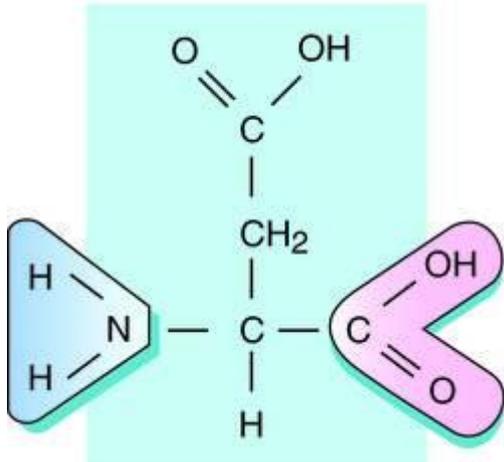


٩- ميثونين "Met" Methionine



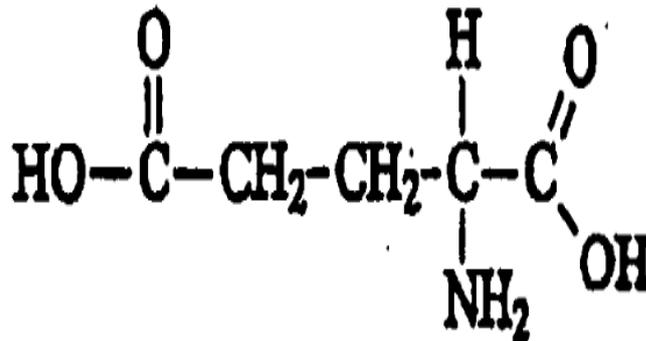
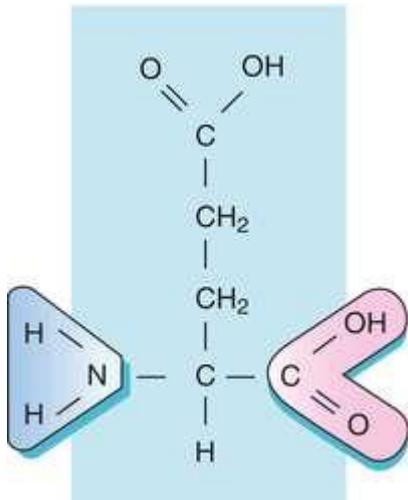
٤-ذات R حاوية على مجموعة كاربوكسيل حامضية (حوامض امينية حامضية)

١٠-حامض الاسبارتيك "Asp" Aspartic acid



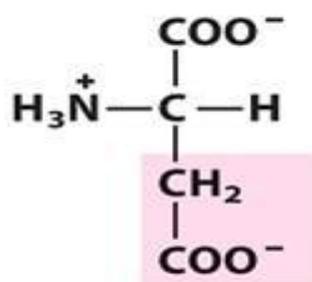
ويكتب بصورة متאיنة ويسمى اسبارتيت Aspartate

١١- حامض الكلوتاميك "Glu" Glutamic acid

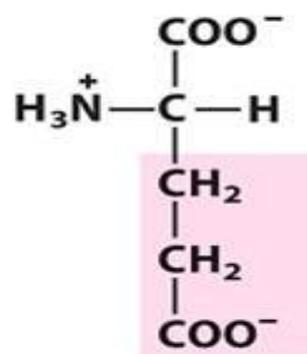


وتكتب بصورة متאיنة ويسمى كلوتاميت Glutamate

Negatively charged R groups



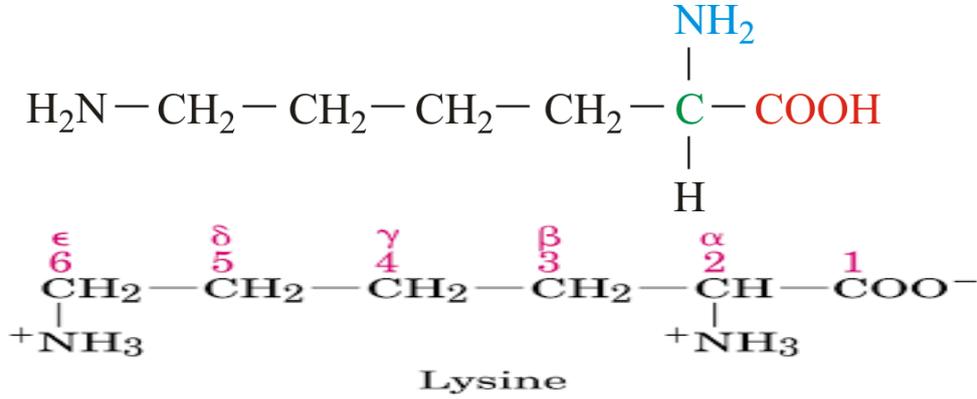
Aspartate



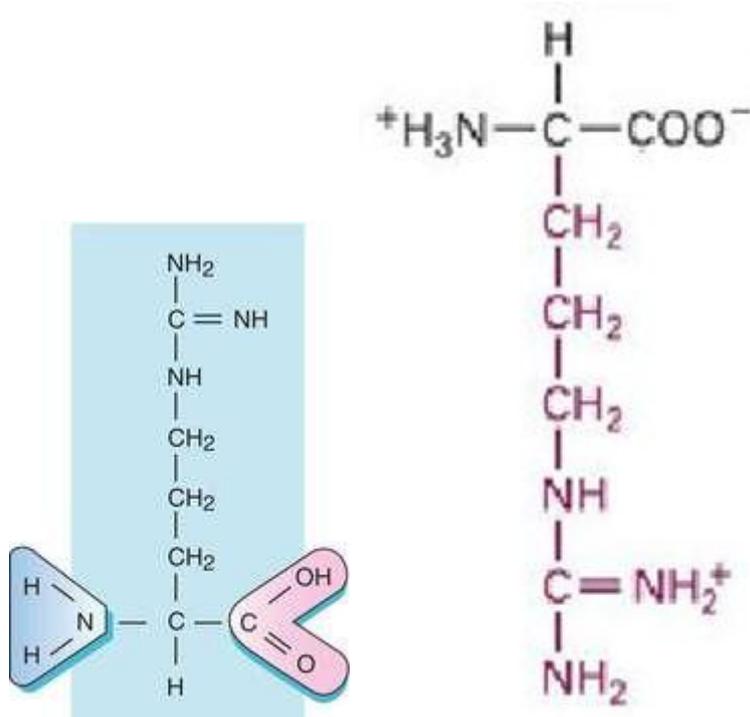
Glutamate

د- الحوامض الامينية ذات مجموعة R حاوية على مجموعة -NH_2 وتسمى الحوامض الامينية القاعدية.

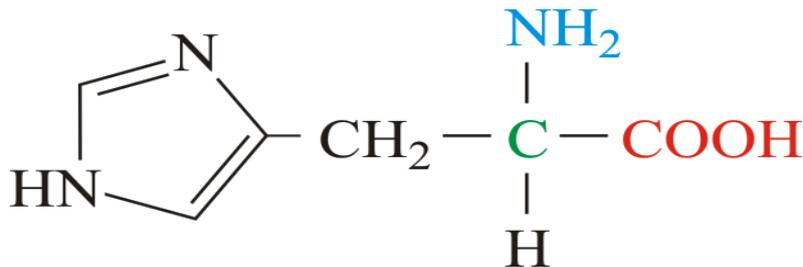
١٢- لايسين "Lys" Lysine

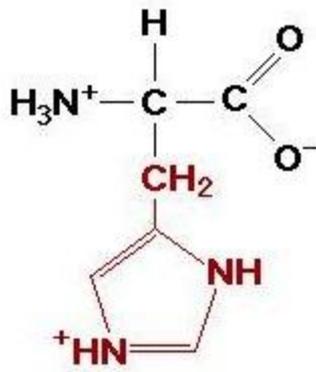


١٣- الارجينين "Arg" Arginine

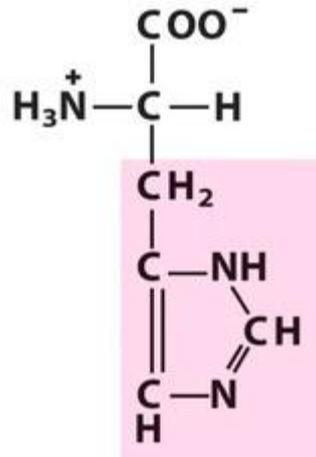


١٤- هستيدين "His" Histidine وهو يحتوي على حلقة الاميدازول



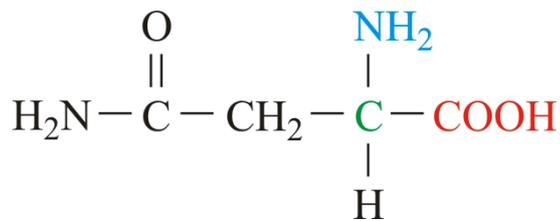


Histidine (His)

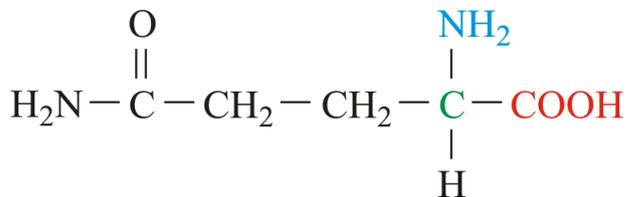


و- ذات R تحتوي على مجموعة اميد

١٥- اسبارجين "Asp"

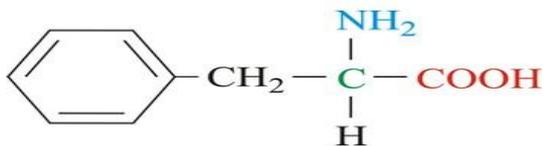


١٦- كلوتامين "Gln"

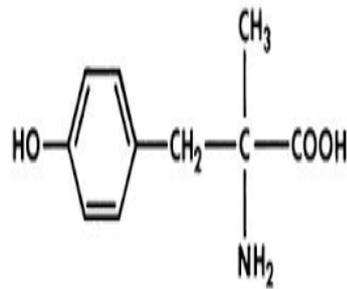
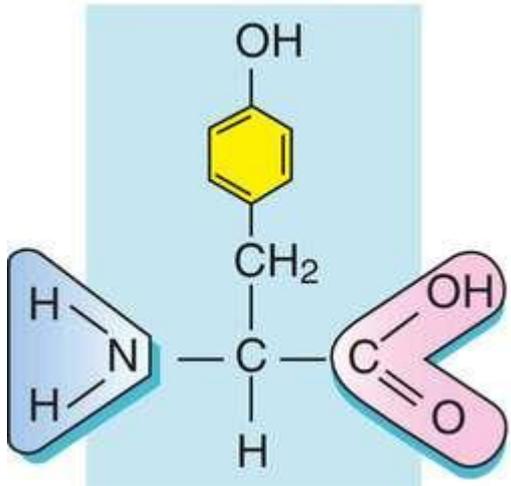


ز- R تحتوي على حلقة اروماتية

١٧- فنيل الانين "Phe"

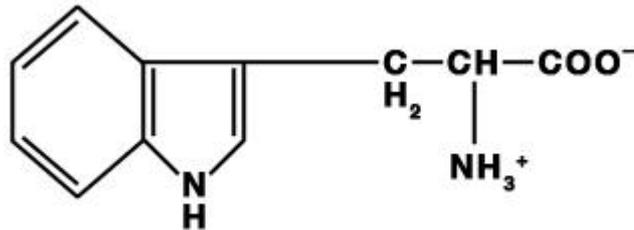


١٨- تايروسين "Tyr"

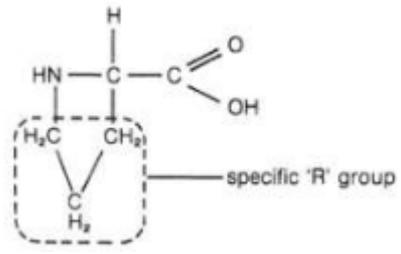
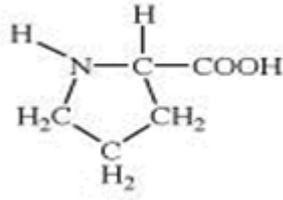
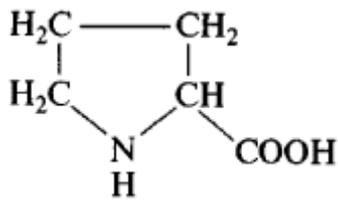


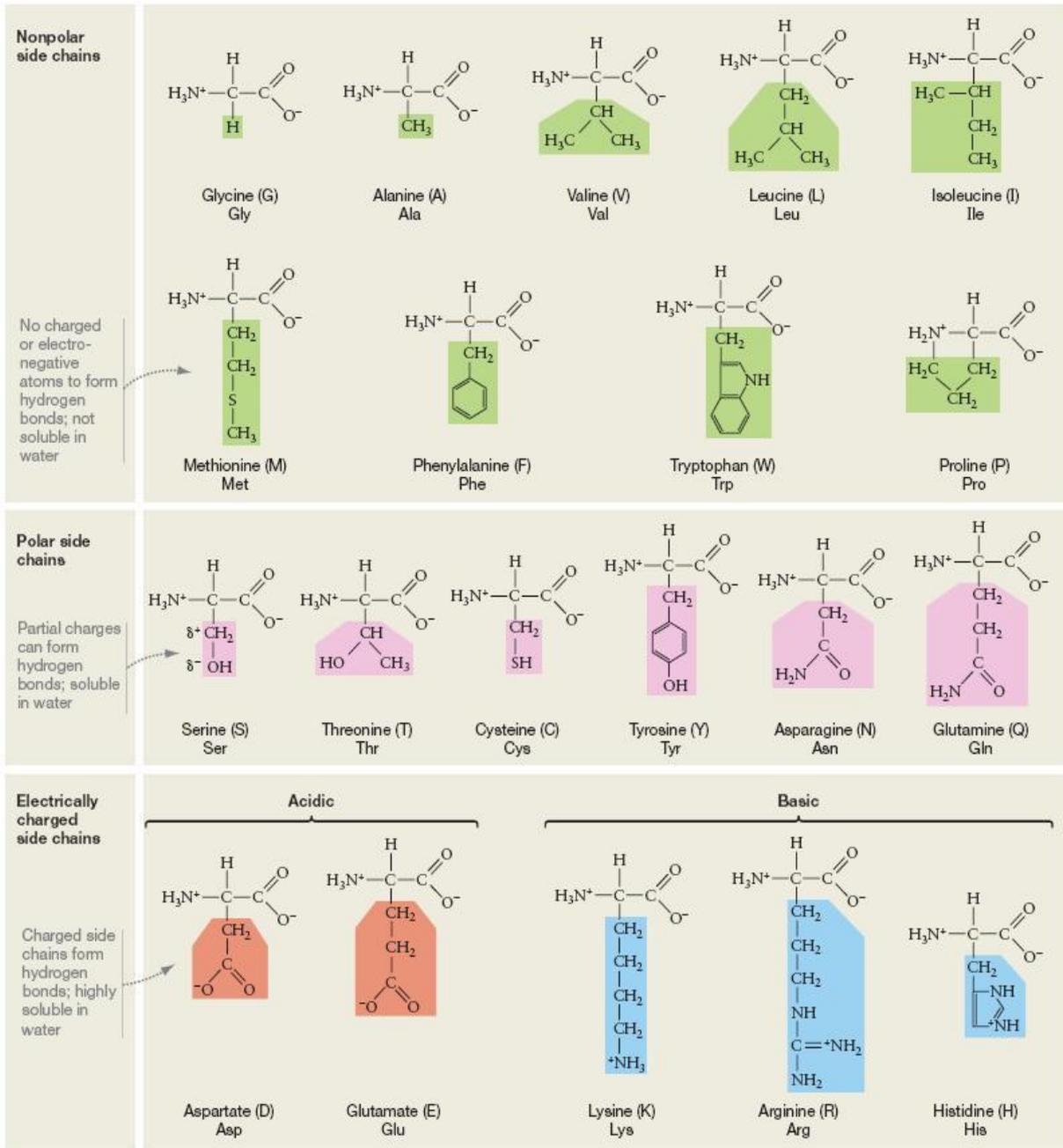
ع-تكون مجموعة R حاوية على حلقة غير متجانسة

١٩-تربتوفان "TrP" Tryptophan



٢٠-برولين "Pro" Proline





*في الكلايسين ذرة الألفا كربون متناظرة لأن الـ R عبارة عن ذرة هيدروجين

الحوامض الامينية الاساسية Essential amino acids:

اغلب الحوامض الامينية تخلق داخل الجسم من مواد نيتروجينية وغير نيتروجينية وبكميات كافية لسد حاجة الجسم وتسمى أحماض أمينية غير أساسية Nonessential.

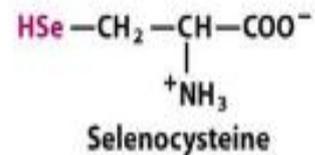
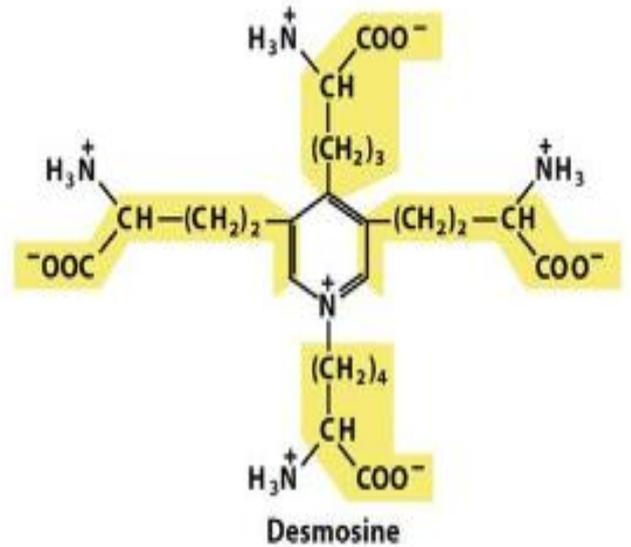
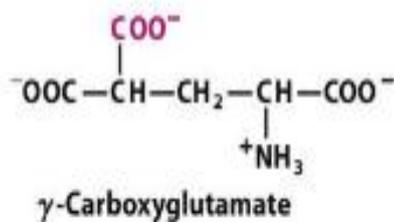
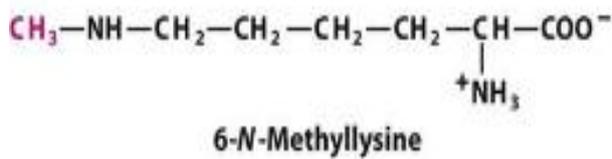
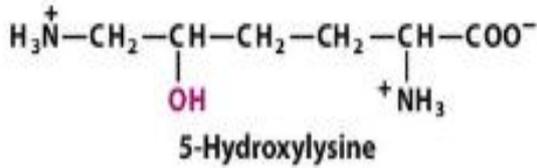
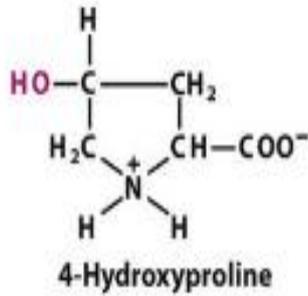
ولكن بعض الاحماض الامينية لا يمكن للجسم ان يخلقها لذلك يجب ان يحصل عليها من الغذاء (او الادوية) لذلك تسمى الحوامض الامينية الاساسية وهي ثمانية حوامض بالنسبة للشخص البالغ

Valine Val , Leucine Lue , Isoleucine ILe , Methionine Met , Lysine Lys , Phenylalanine Phe , Threonine The , Tryptophan Tre.

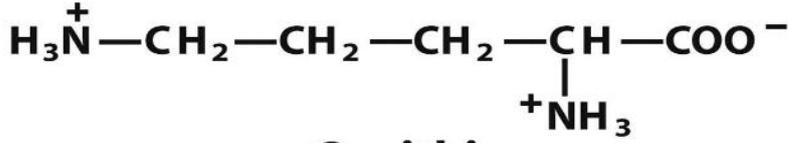
اما في الاطفال فان الهستيدين Histidine يعتبر اساسيا لنمو الطفل لذلك يجب ان يتوفر في غذائه لانه لا يستطيع تخليقه بكميات كافية.

الحوامض الامينية النادرة في البروتينات:

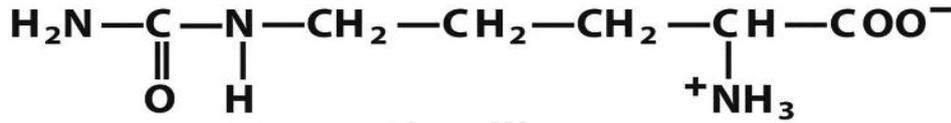
بالاضافة الى العشرين حامض اميني الرئيسية السابقة يوجد بعض الحوامض الامينية بصورة نادرة في تراكيب بعض البروتينات المتخصصة وتوجد بصورة ثانوية في تركيب هذه البروتينات المتخصصة.



هناك احماض امينية نوع الفا وهي غير بروتينية ولكنها مهمة في الجسم واهمها:

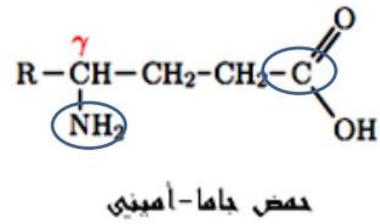
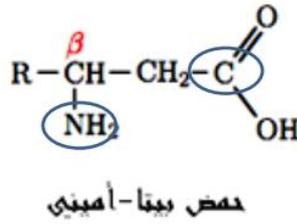
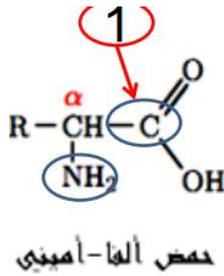


Ornithine



Citrulline

*هناك احماض امينية اخرى ليست نوع الفا (اي مجموعة الامين تكون مرتبطة الى ذرة كاربون غير ذرة التي ترتبط بمجموعة الكاربوكسيل) ولا تدخل هذه الاحماض في بناء البروتينات بل يوجد في مصادر اخرى بشكل منفرد او مرتبطة مع مركبات الاخرى.



الصفات العامة للحوامض الامينية :

- ١- قابلية الذوبان :
-جميع الحوامض الامينية تذوب في الماء (ما عدا السستين والتايروسين الذي يذوب قليلا في الماء البارد ويذوب اكثر في الماء الساخن).
-جميع الامنية لا تذوب في الكحول باستثناء اليرولين (والهيدروكسي برولين) وكذلك الايثر).
- ٢-درجة الانصهار : تكون مواد بلورية صلبة ذات درجة انصهار عالية اكثر من ٢٠٠م.
- ٣-الطعم (المذاق): تختلف الحوامض الامينية عن بعضها من ناحية الطعم حيث تقسم الحوامض الامينية حسب مذاقها الى
أ-الحوامض الامينية حلوة الطعم : مثل الكلايسين ، الالانين، الفالين و الهستيدين والبرولين والسيرين والتربيتوفان.

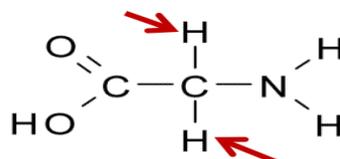
ب-حوامض امينية عديم الطعم: مثل الليوسين

ح-مرة المذاق مثل الارجينين .

وتكون الاحماض الامينية النقية عبارة عن بلورات مميزة عديمة اللون.

٤-الفعالية البصرية (النشاط الضوئي) للاحماض الامينية :

ان لجميع الاحماض الامينية فعالية بصرية باستثناء الكلايسين وذلك لوجود ذرة كاربون الفا التي تكون غير متماثلة (ترتبط باربعة مجاميع مختلفة) بينما لا يملك الكلايسين ذرة الكاربون غير متماثلة لان ذرة كاربون الفا فيه تكون مرتبطة الى ذرتين متماثلتين (وهما 2H).

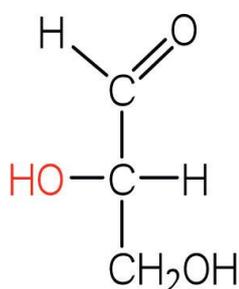


عليه يمكن ان تتواجد الاحماض الامينية بشكلين (D و L) . والطبيعية توجد بشكل (L) .

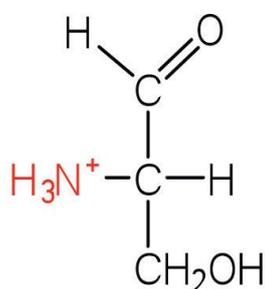
*جميع الحوامض الامينية البروتينية توجد بشكل -L- .

*اما الحوامض التي تحضر بطرق كيميائية فهي مزيج من L و D .

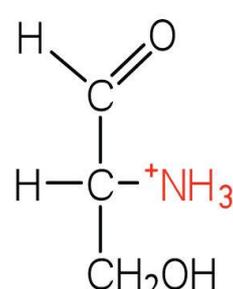
تملك جميع الاحماض الامينية البروتينية نفس الوضعية المطلقة التي يملكها الحامض الاميني السيرين نوع L- (L-Serine) والمشابه للكليسيرالديهيد نوع L- L-Glyceraldehyde. وكما مبين ادناه



L-(-)-Glyceraldehyde



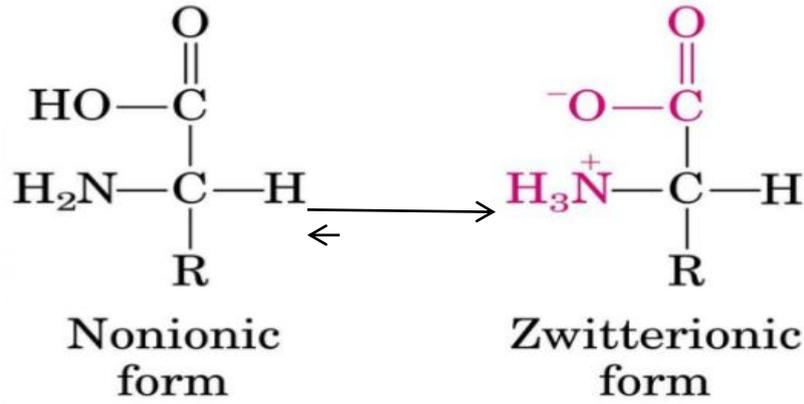
L-Amino acid



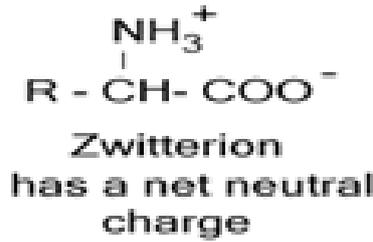
D-Amino acid

٥- الشكل الثنائي الاقطاب :

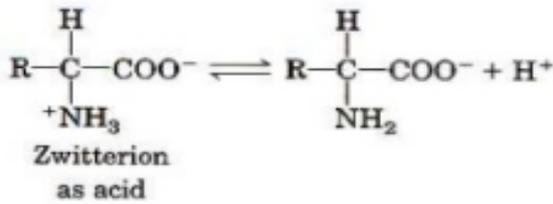
الشكل اللايوني للحوامض الامينية لا يوجد بكميات محسوسة في المحلول المائي ، والشكل الزويترايوني هو المتغلب في ال pH المتعادل.



عند وضع (اذابة) الحوامض الامينية في الماء . وجد انه يكون في المحلول بصيغة ايون ثنائي القطب dipolar ion والذي يسمى زويترايون Zwitterion وكما يلي:

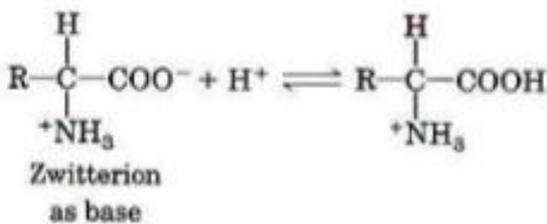


حيث ان الجزيئة ثنائية القطب مع صافي شحنة يساوي صفر. ويمكن لهذا الزويترايون ان يعمل كحامض (واهب للبروتون)



Weak acid

او يعمل كقاعدة (تستقبل البروتون)

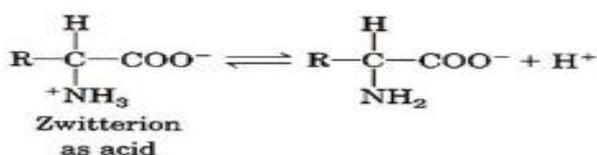


Weak base

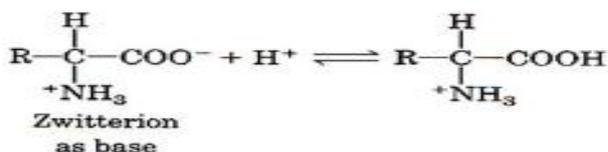
إذا يمكن ان يتفاعل مع القواعد ويمكن ان تتفاعل مع الحامض اي انها امفوتيرية .Amphotric

٦- الخواص الحامضية والقاعدية(الامفوتيرية) للحوامض الامينية:

تسلك الحوامض الامينية سلوك حامض ضعيف لاحتوائها على مجموعة كاربوكسيل COOH وتسلك سلوك قاعدة ضعيفة لاحتوائها على مجموعة امين -NH₂ حيث يمكن ان تتاين مجموعة الكاربوكسيل بفقدان ايون الهيدروجين H⁺ (حامض برونشتد) وبذلك تتحول الى ايون الكاربوكسيل السالب -COO⁻. اما مجموعة الامين فهي قاعدة برونشتد يمكنها ان تتقبل البروتون وتتحول الى ايون الامونيوم الموجب -NH₃⁺. فهي بذلك تسلك سلوك امفوتيري وهذا السلوك يعتمد على الاس الهيدروجيني pH الذي توجد فيه الاحماض الامينية .



Weak acid



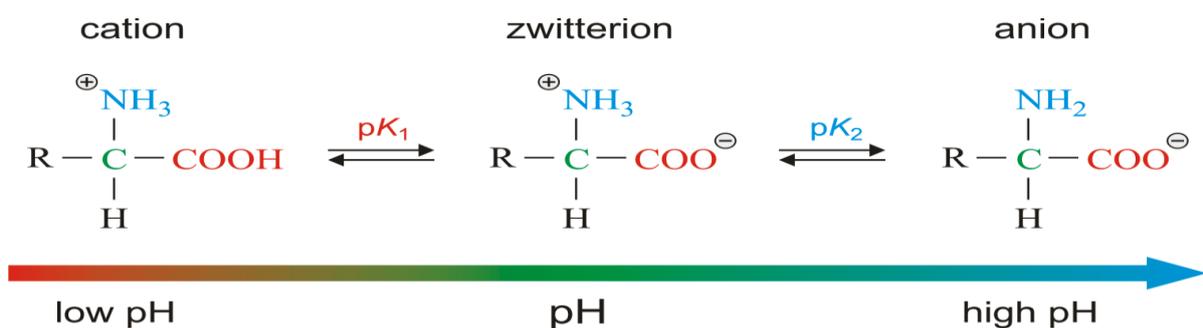
Weak base

بذلك كل حامض اميني يمكن ان يظهر باشكال متعددة اعتمادا على الاس الهيدروجيني (pH) الذي هو فيه ،وبصورة عامة هناك ثلاثة اشكال للحوامض الامينية:

١- الشكل الانبوني (السالب) Anionic form : وهو الذي يحدث في الوسط القاعدي (في الـ pH العالي).

٢- الشكل الكتيوني (الموجب) Cationic form : وهو الذي يظهر به (او يحدث) في الوسط الحامضي (pH واطي).

٣- الشكل ثنائي القطب (الزويتراوني) Zwitterionic form : ويظهر في درجة الاس الهيدروجيني المتعادل .



فتكون الشحنة موجبة في الوسط الحامضي ،وسالبة في الوسط القاعدي ، اما في الاس الهيدروجيني المتعادل فتساوى عدد الشحنات (يولد شحنات متعادلة)

-يسمى الـ pH الذي يولد شحنات متعادلة (تساوى فيه عدد الشحنات الموجبة مع السالبة) بنقطة التعادل الايوني (Isoelectric point) PI وهي قيمة ثابتة لكل حامض اميني.

$$pI = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$$

وبذلك الحوامض الامينية تسلك سلوك حامض (واهب بروتون) او سلوك قاعدة (مستقبل بروتون) لذلك فهي تعمل كمحاليل منظمة (Buffer solutions) في الدم وسوائل الجسم ولها نوعان على الاقل من ثوابت التاين pK عند تفاعلها مع الحامض وعند تفاعلها مع القاعدة .

-ان ثابت التاين pK يمثل الـ pH ،الذي يوجد عنده تركيز الملح =تركيز الحامض للمحلول المنظم حسب معادلة هندرسون -هاسيلباخ . وبعبارة اخرى فان الـ PK يعني او يساوي الـ pH عندما يكون التاين لنصف الحامض .

$$\therefore pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]} \approx pK_a + \log \frac{[SALT]}{[ACID]}$$

وعندما $[A^-]=[AH]$ فان

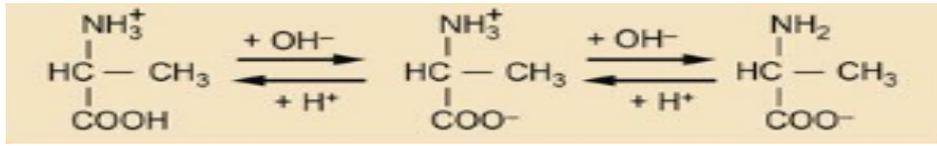
$$pH = pK_a + \log 1 \longrightarrow pH = pK_a$$

فعند تسحيح الحامض الالانين مثلا مع حامض او قاعدة فان الحامض يبدأ بالتغير من الحالة الايونية المتعادلة (Zwitterion) ثنائية القطب الى احادية القطب (الملح).

ففي حالة اضافة اضافته نصف مكافى من حامض معدني (HCL) يتكون مزيج من الحامض الاميني وملحه اي محلول بفر وبكميات متساوية.

وتكون هذه الحالة عند $pH = 2.34$ اي $pK = 2.34$ وهي حالة مطابقة لمنتصف نقطة التعادل لمجموعة الكربوكسيل $-COOH$

اما عند اضافة نصف مكافى من قاعدة (NaOH) سوف يتكون مزيج من الحامض وملحه القاعدي (محلول بفر)

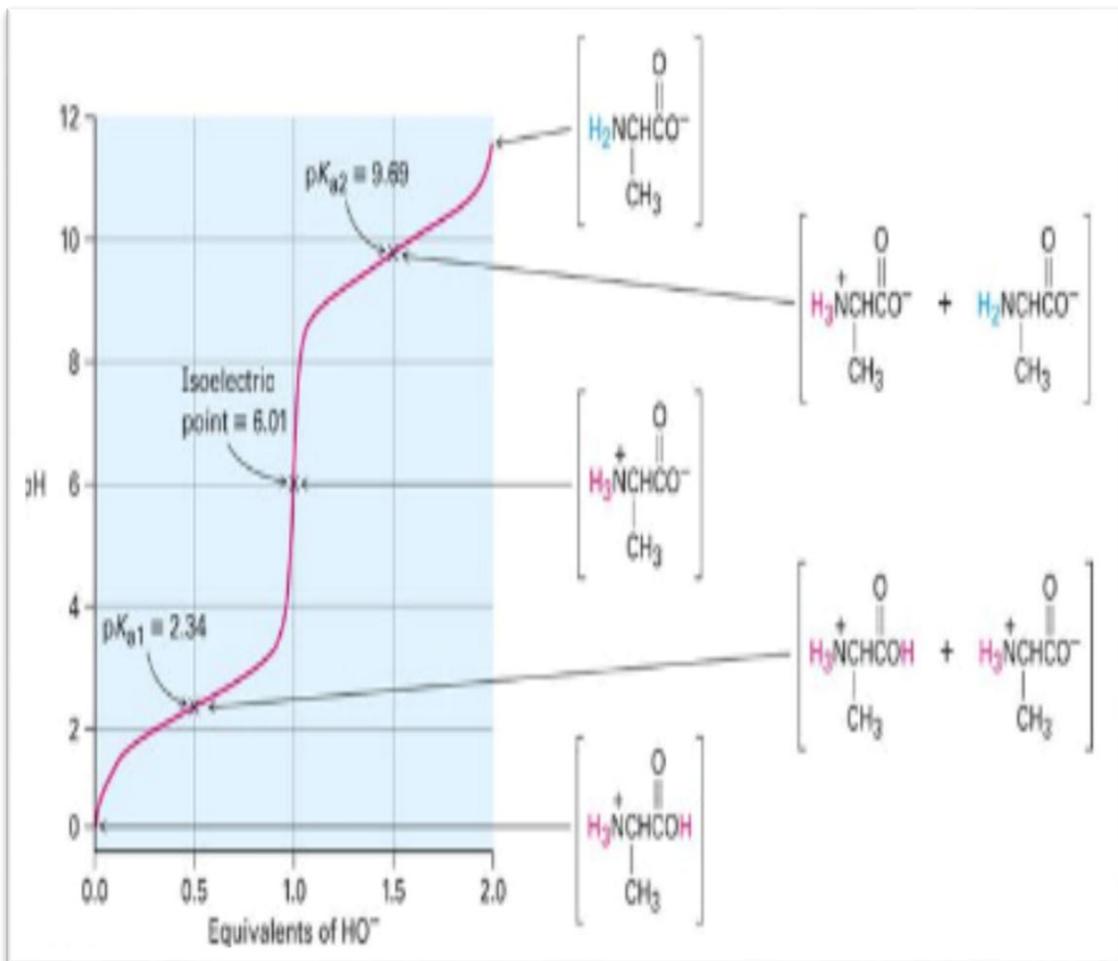


وتكون نقطة التعادل هذه عند $9.69 = \text{PH}$ اي $9.69 = \text{PK}_2$.

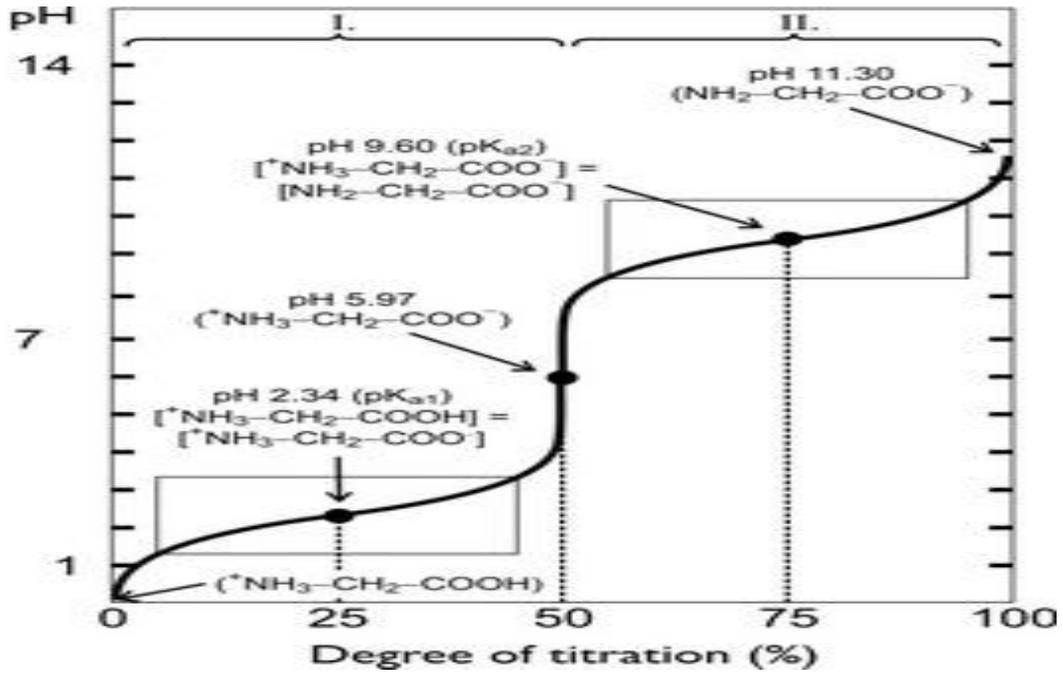
ويمكن حساب نقطة التعادل الكهربائي للالانين من نصف مجموع ثابتي التاين

$$pI = \frac{pK_1 + pK_2}{2} \quad \rightarrow \quad \text{PI} = \frac{2.34 + 9.69}{2} = 6.01$$

وهذا الكلام ينطبق على جميع الحوامض الامينية المتعادلة.

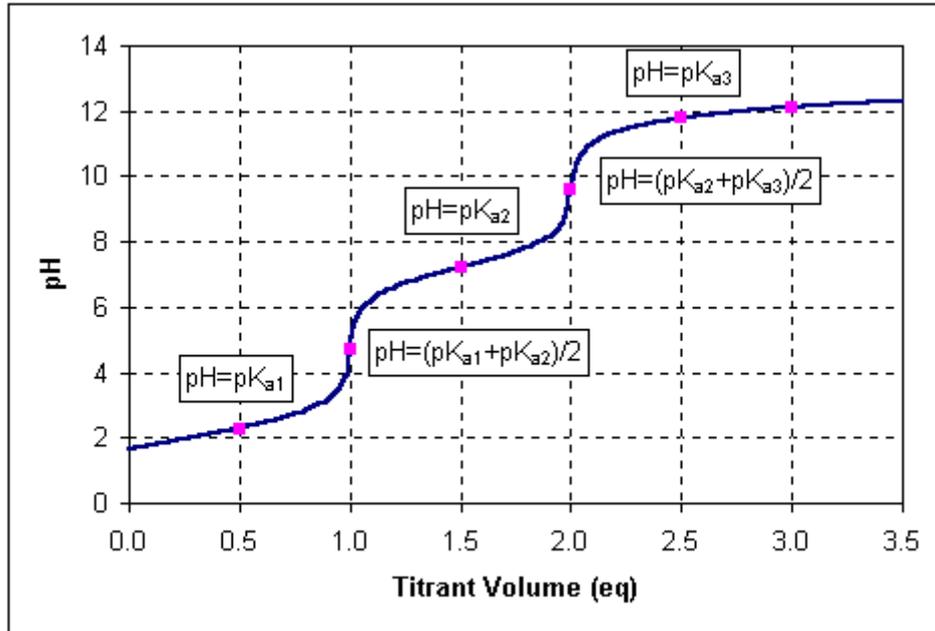


منحنى التسحيح للالانين

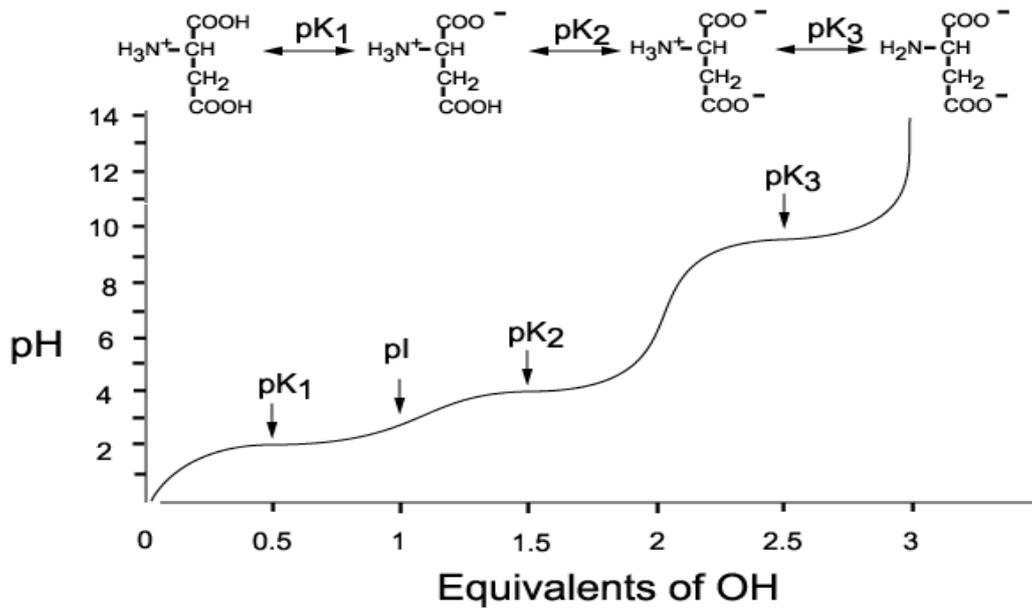


منحنى التسحيح للكلايسين

اما الحوامض الامينية الحامضية والقاعدية فلها ثلاث انواع من PK.

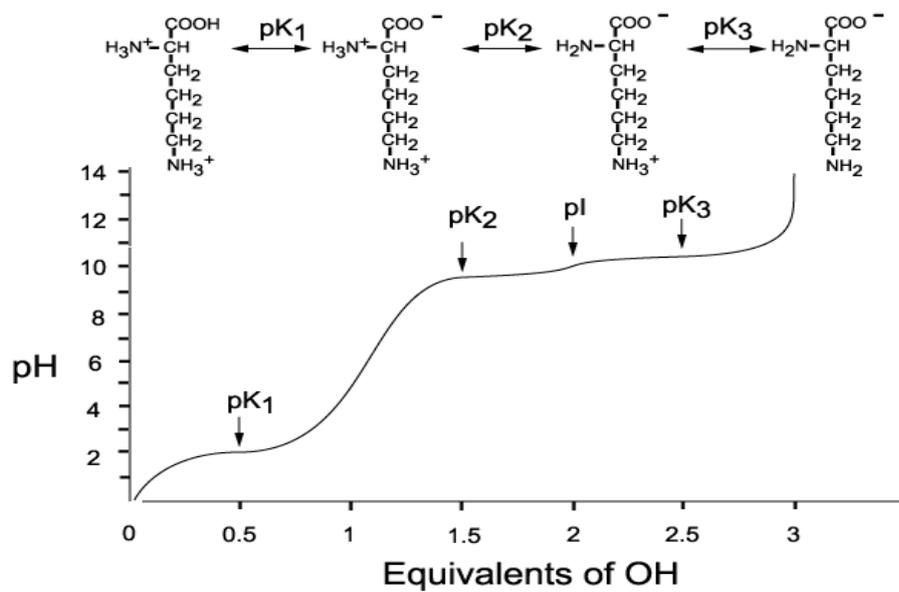


*الحوامض الامينية الحامضية يكون لها ثلاث قيم ل PK لوجود مجموعتي كربوكسيل فتكون لها pK_1 و pK_2 وتكون قيمتها تحت 7 ولها مجموعة امين واحدة لها pK_3 وتكون فوق 7. كما في حامض الاسبارتيك ادناه



$$P_i = 0.5(\text{pK}_1 + \text{pK}_2) + \text{pK}_3/2$$

*الحوامض الامينية القاعدية فيكون لها ايضا ثلاث قيم PK واحدة تعود لمجموعة الكربوكسيل pK_1 وتكون قيمتها تحت 7 واثنان تعودان لمجموعتي الامين pK_2 و pK_3 . و pK_2 و pK_3 تكونون فوق 7. كما مبين في منحنى تسحيح الحامض الاميني القاعدي المايسين



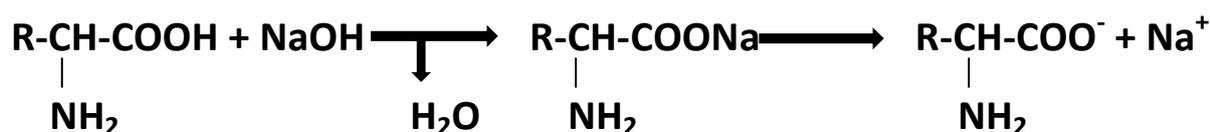
$$p_i = \text{pK}_1 + 0.5(\text{pK}_2 + \text{pK}_3)/2$$

تفاعلات الحوامض الامينية :

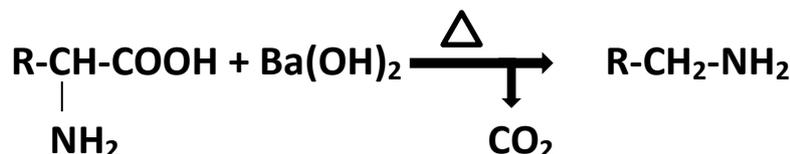
تعتمد تفاعلات الحوامض الامينية على مجموعة الكربوكسيل ومجموعة الامين بالإضافة لوجود المجاميع الاخرى والتي تعطي الصفات الخاصة للاحماض الحاملة لها مثل الثايول (-SH) ، الاميدازول ، ومجموعة الكوانيديين .

أ- تفاعلات مجموعة الكربوكسيل :

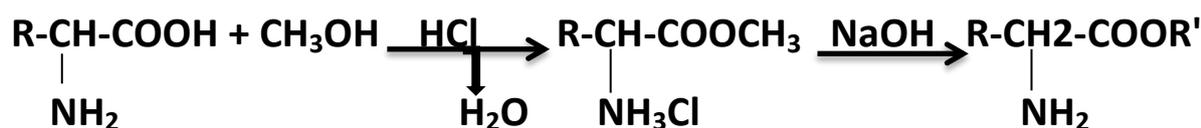
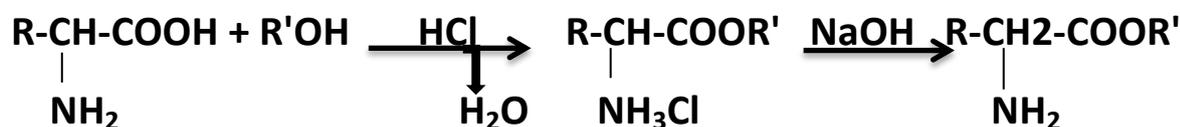
١- مع القواعد :



٢- عند التسخين بوجود Ba(OH)_2 يفقد مجموعة الكربوكسيل على شكل CO_2 ويتحول الى امين اولي يقل بذرة كربون عن الحامض الاصلي.



٣- تكوين الاسترات :



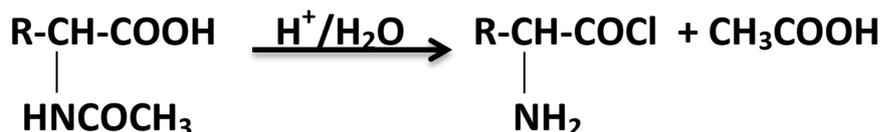
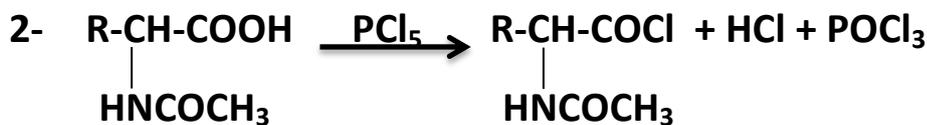
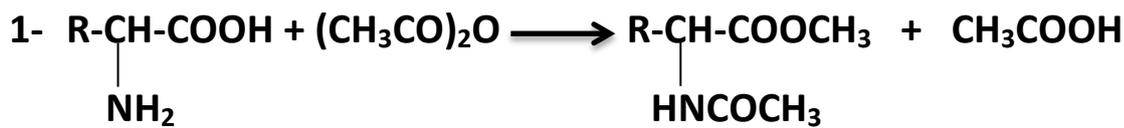
*يضاف ال H^+ الى الحامض الاميني اولا ثم يضاف الكحول ويسخن (يصعد) المحلول

٤-الاختزال LiAlH_4 المذاب بالاثير: ويتكون الكحولات الامينية.



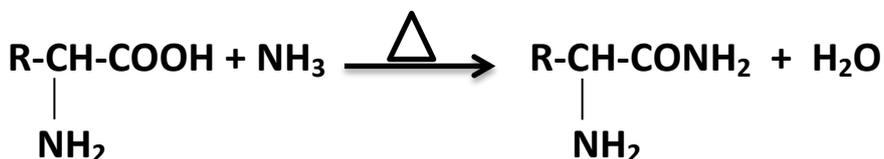
٥-تكوين كلوريدات الحوامض :

تنتج من تفاعل مجموعة الكربوكسيل مع خامس اوكسيد الفوسفات PCL_5 بعد حماية مجموعة الامين بالاستلة



٦- تفاعل الاحماض الامينية مع الامونيا:

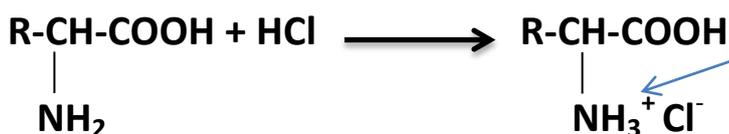
تتفاعل الاحماض الامينية مع الامونيا مكونة الاميدات



ويمكن ان تتكون الاميدات من تفاعل استرات الحوامض مع الامونيا الجافة.

ب- تفاعلات مجموعة الامين:

١- مع الاحماض المعدنية: وتكون املاح تلك الحوامض فمثلا مع HCl تكون ملح الهيدروكلورايد

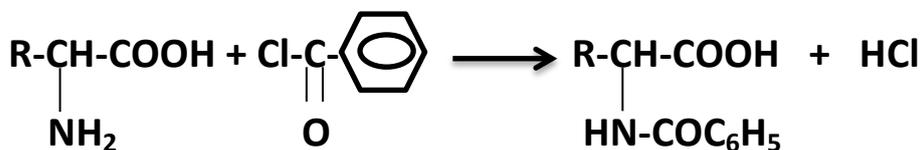


٢- اسيطة الحوامض الامينية: ومن تفاعلات اسيطة ما يلي

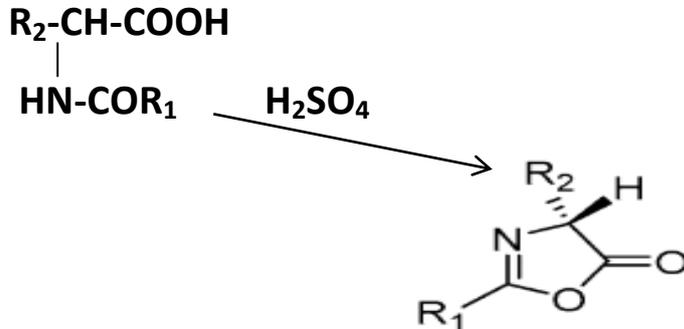
اولا- الاستلة:



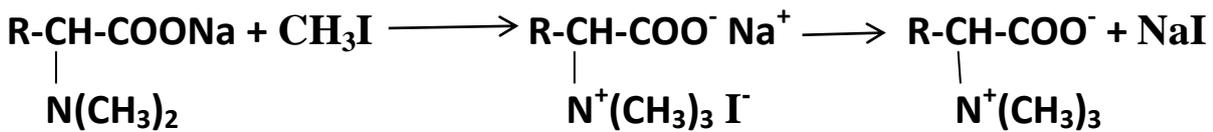
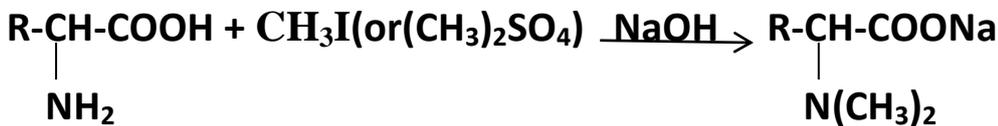
ثانيا- بنزلة الاحماض الامينية:



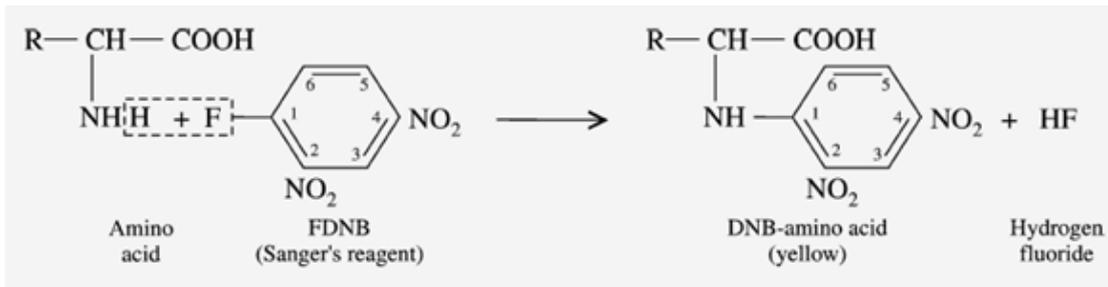
* وعند اذابة اسيلات الحوامض الامينية (N-acylamino acid) في حامض الكبريتيك تتكون المركبات الحلقية الاوكازولونات Oxazolones او اللاكتونات النيتروجينية Azalactones



٣- مثيلية الاحماض الامينية :

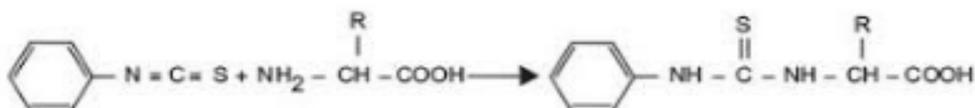


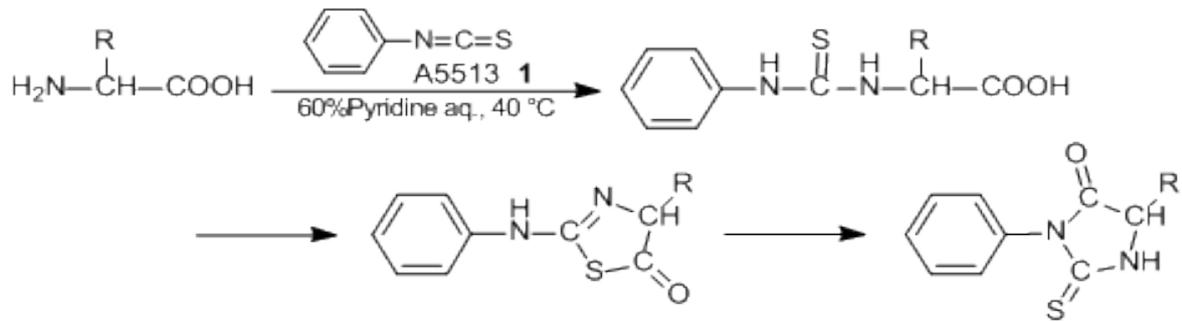
٤- التفاعل مع فلورو ثنائي نايتروبنزين "FDNB" (Fluorodinitrobenzene):



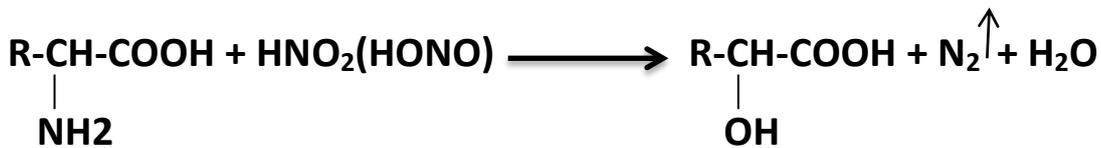
ويستعمل هذا التفاعل لمعرفة الحامض الاميني في النهاية النيتروجينية (الامينية)

٥- تفاعل ادمان Edman reac: وهو تفاعل الفيل ثايوسيانيت Phenylisothiocyanate مع مجموعة الامين مع مجموعة الامين α (α -NH₂) مكونة الفيل ثايوهايدانتوبين Phenyl thiohydantoin



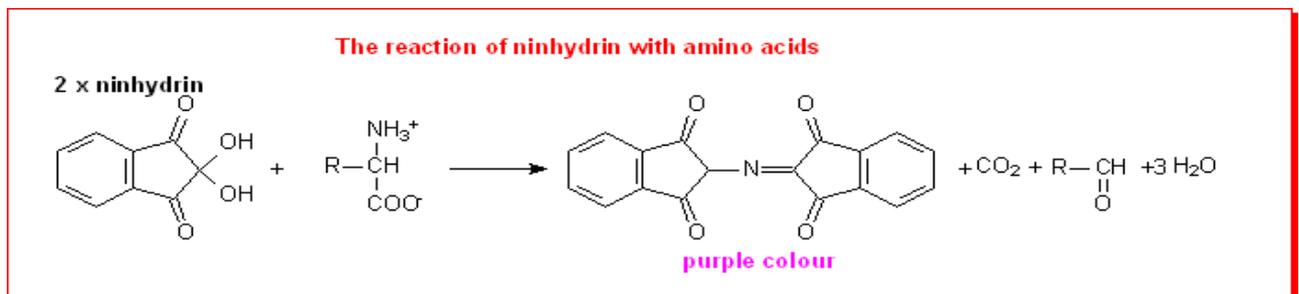


التفاعل مع حامض النتروز:

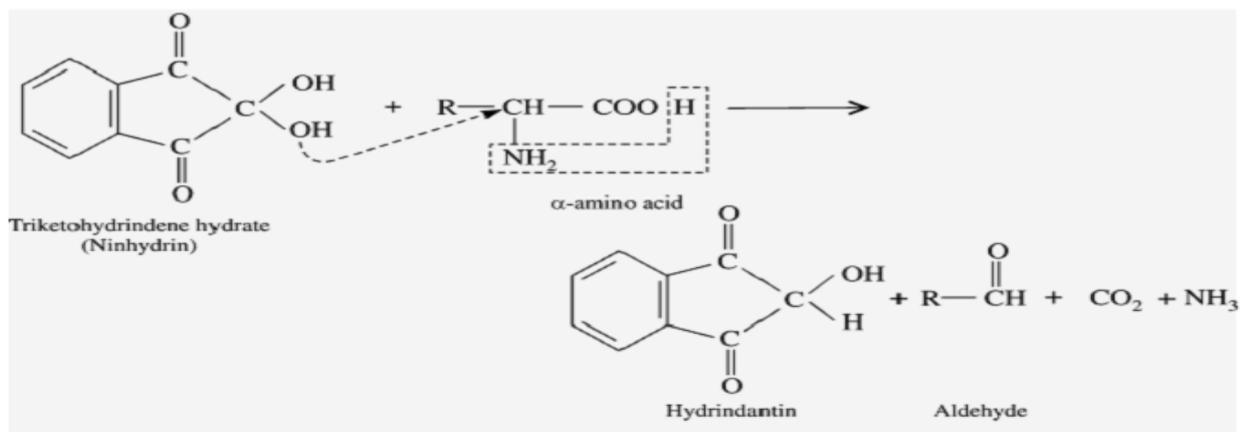


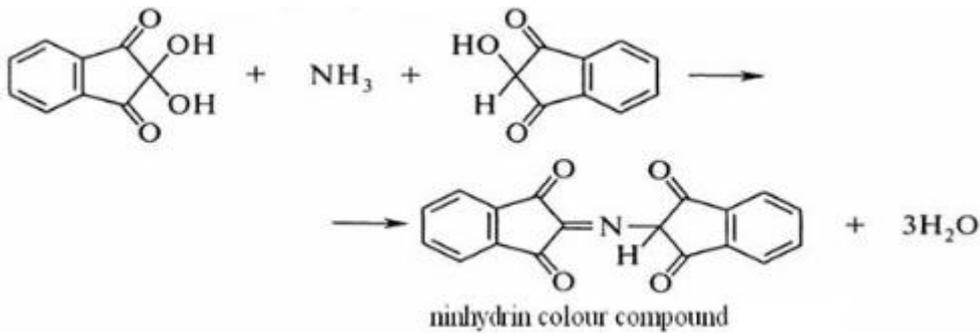
ويسمى تفاعل فان سلايك (Vanslyke) والذي يتكون على اثره حامض هيدروكسيلي مع تحرير N_2 ويمكن قياس النيتروجين لمعرفة عدد (نسبة) مجاميع الامين في المركب.

٧-التفاعل مع الننهايدرين:

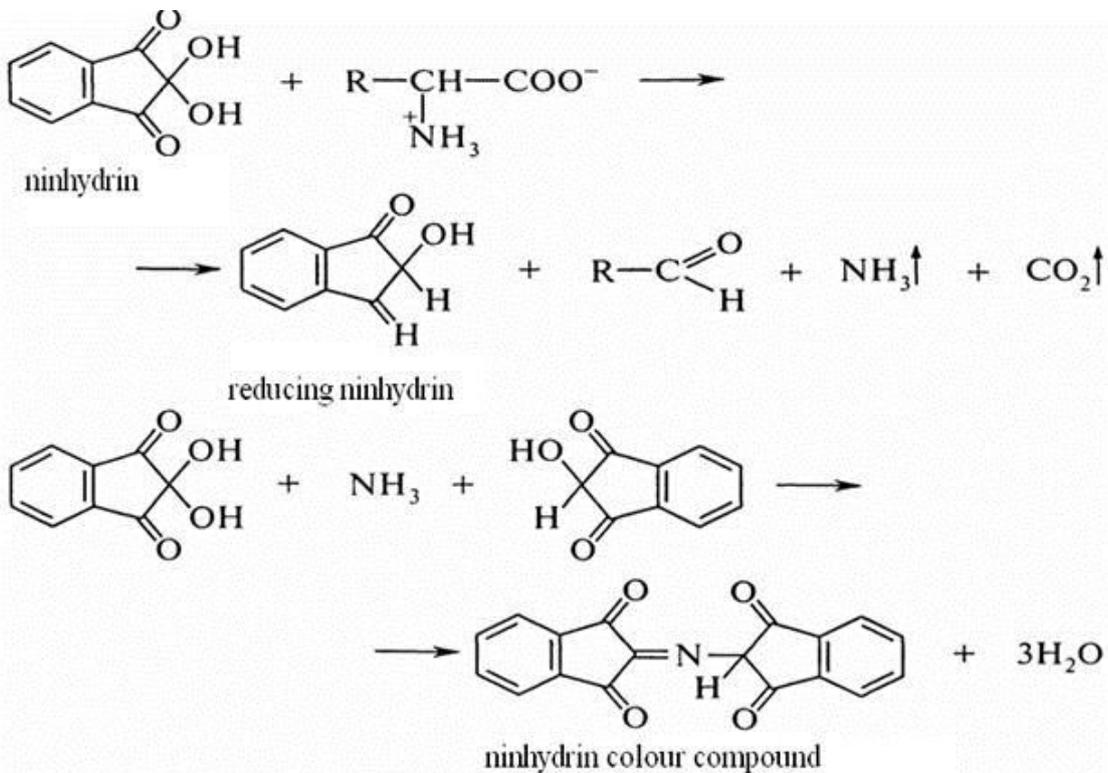


ويستعمل هذا التفاعل لتعيين كميات الاحماض الامينية وبتراكيز واطئة حيث ان جميع الاحماض الامينية (وبالتالي البروتينات) تكون لون ازرق عند معاملتها مع الننهايدرين.

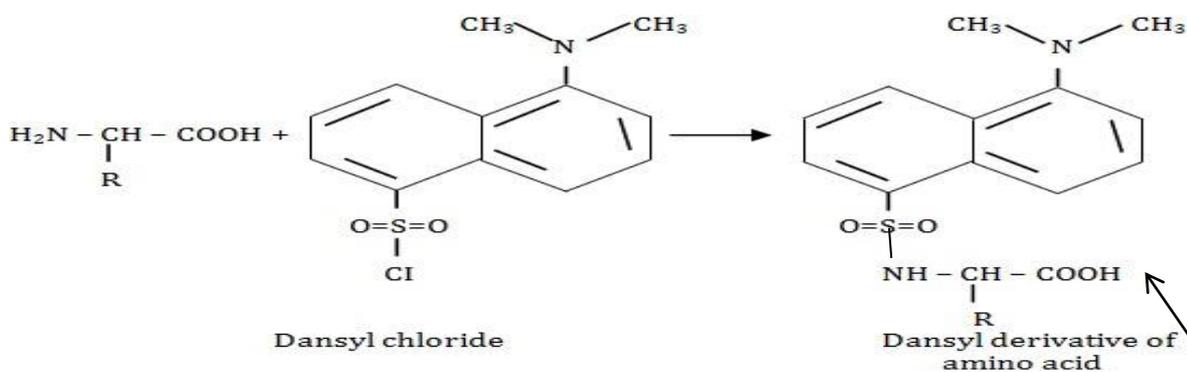




وهذا التفاعل هو اساس الطريقة اللونية المستعملة في التقدير الكمي للحوامض الامينية. وكذلك يمكن استخدام كمية CO_2 المتحررة لتقدير كمية الحام الاميني.



٨- التفاعل مع كلوريد الدانسيل (Dansyl chloride)



مركب متألّق (Fluorescent) حيث يمكن تقدير كميات قليلة جدا منه.

وهناك تفاعلات كثيرة اخرى مثل تكوين قواعد شيف والتفاعل مع الفورمالديهايد او CO_2 وغيرها وهناك تفاعلات لونية كثيرة للاحماض الامينية وهذه التفاعلات اللونية تستخدم لتشخيص حوامض امينية معينة بعينها. واهم هذه التفاعلات:

- ١- كشف الزانثوبروتيك (Xanthoproteic test) والذي يستخدم المركبات الحاوية على حلقة البنزين (الاروماتية)
- ٢- كشف ميلون (Millon test) لتشخيص التايروسين الحاوي على الفينول
- ٣- كشف النايتروبروسايد (Nitroprusside test) للكشف عن ال cysteine
- ٤- كشف سوليفان (Sulivan) للسستين ايضا
- ٥- كشف كول (Cole test) للكشف عن التربتوفان وغيرها من الكشوفات.

فصل وتشخيص الاحماض الامينية :

اذا كان لدينا مزيج من احماض امينية ضمن محلول اتية من اي مصدر ويراد فصل تلك الاحماض عن بعضها والتعرف عليها فهناك عدة طرق للفصل والتعرف على مكونات هذا المزيج من الاحماض الامينية ومن هذه الطرق:

١- طرق الكروماتوغرافيا : Methods of chromatography

هناك عدة طرق للكروماتوغرافيا تستخدم لفصل وتشخيص المركبات العضوية وتعتمد طرق الكروماتوغرافيا على وجود طورين هما

١-الطور الثابت ٢-الطور المتحرك.

وتعتمد قابلية فصل المواد بطرق الكروماتوغرافيا على قابلية تلك المواد للتحرك مع الطور المتحرك او البقاء مع الطور الثابت ومن طرق الكروماتوغرافيا ما يلي :

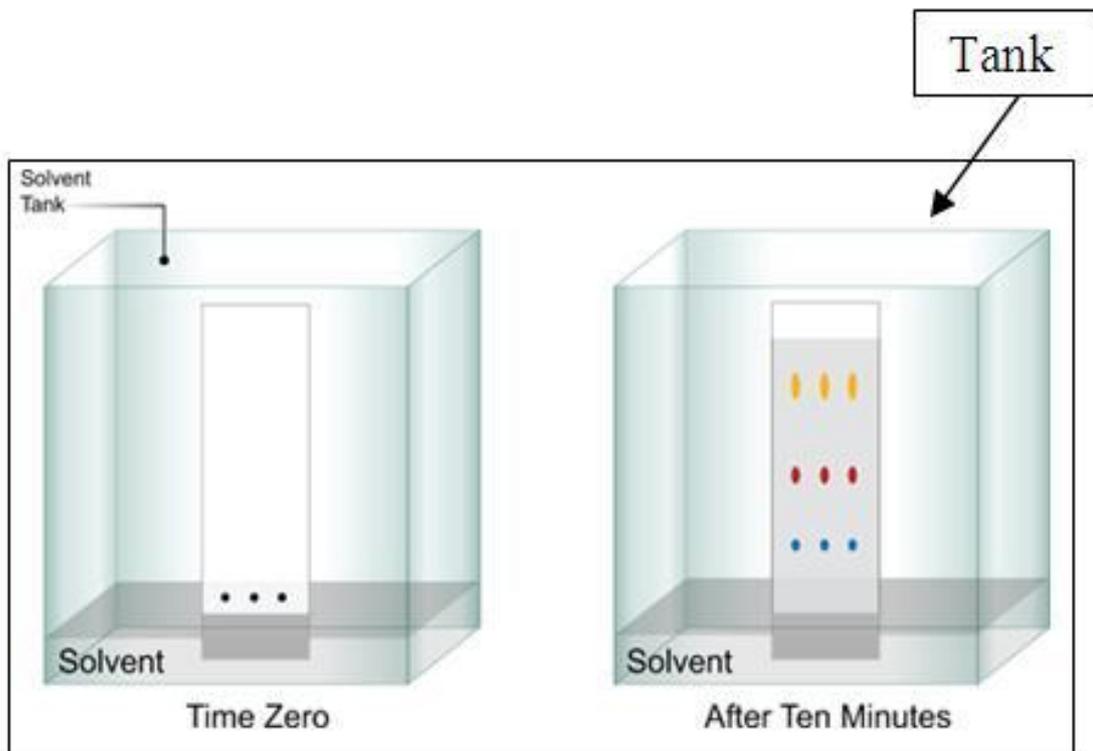
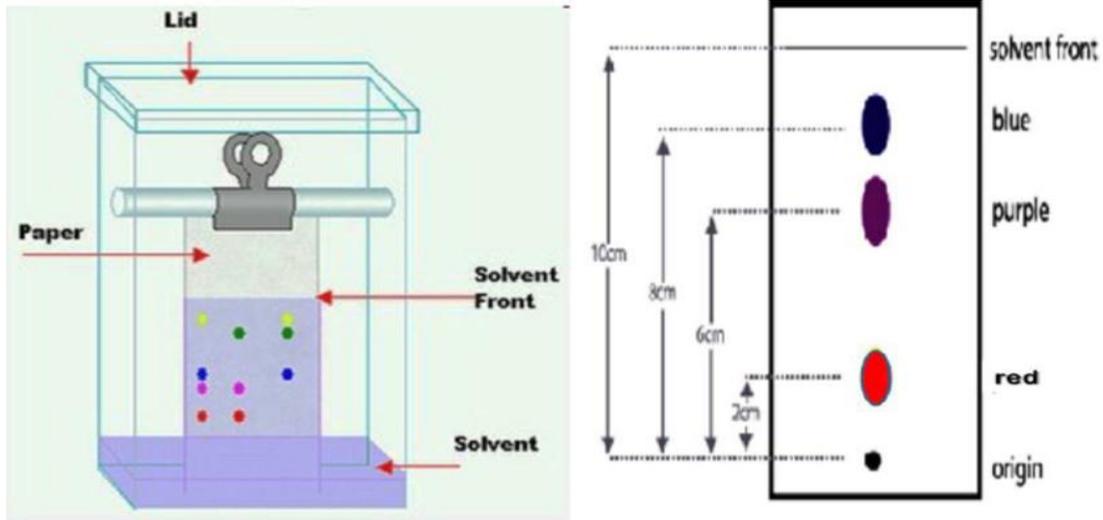
أ- كروماتوغرافيا الورقية Paper chromatography:

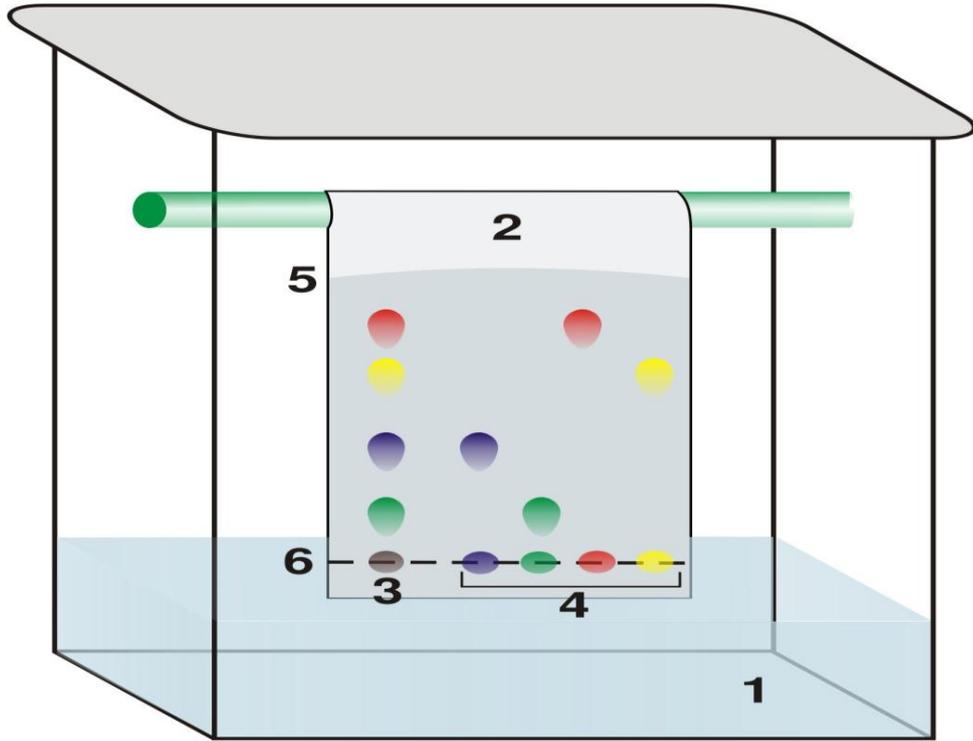
وفيها يكون الورق السليلوزي هو الطور الثابت والتي توضع قطرة من مزيج المواد المراد فصلها .(توضع تلك القطرة عند خط معين يرسم على الورقة وتوضع ايضا مواد ستاندرد معلومة من نفس المواد المراد التعرف عليها في المزيج).

والطور المتحرك هو المذيب الموضوع في وعاء خاص لهذه العملية والذي يغطس فيه الطور الثابت وهو طور الورق السليلوزي لغاية خط وضع قطرة المزيج المراد فصلها مع قطرات الستاندرد على خط الشروع . يبدأ المذيب بالتحرك داخل الالياف السليلوزية للورقة حسب الخاصية الشعرية ويبدأ بتحريك مكونات قطرة المزيج المراد فصل مكوناتها فالاحماض الامينية التي تذوب في المذيب بسرعة وتتحرك معه بسرعة تتحرك اسرع من

التي تذوب اقل وتكون اثقل في الحركة معه لكبر حجمها او لقابليتها على تكوين تجاذبات مع الطور الثابت.

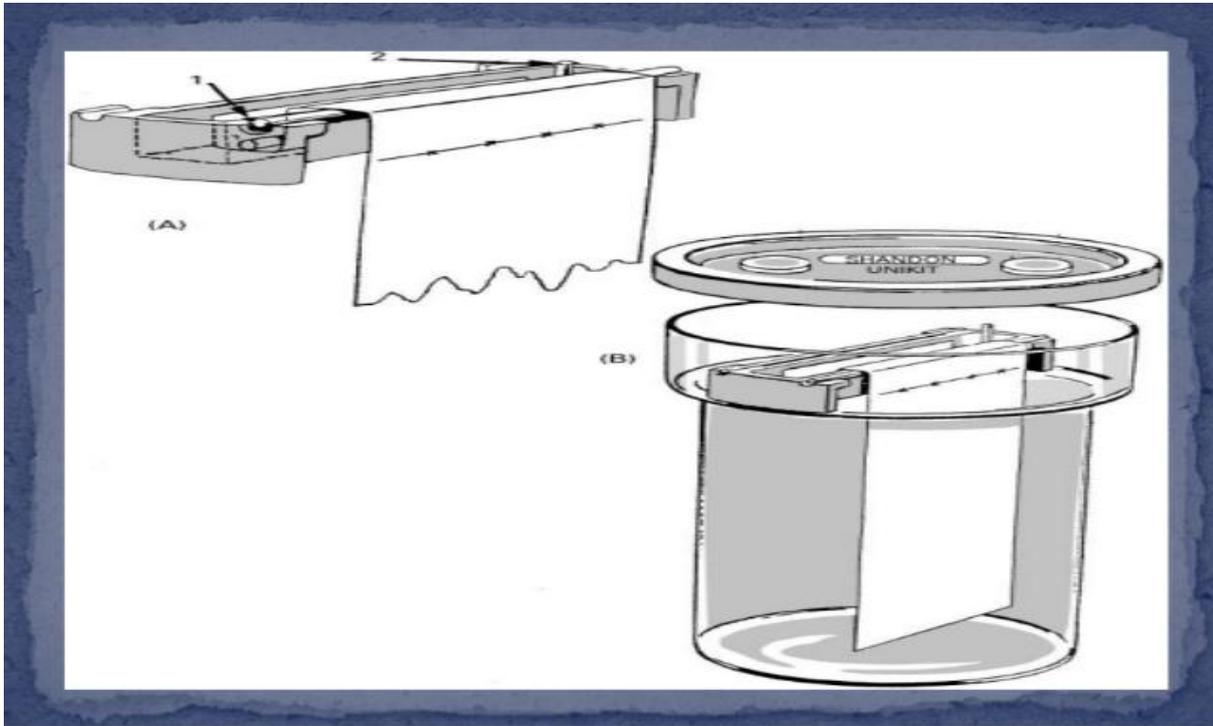
حيث ان مدة الفصل تكون محدودة الوقت. بعد ذلك ترش الورقة بمحلول مُظهر (مثل الننهايدرين) حيث تظهر البقع للمجهول وتُقارن مع الستاندرد ويتم التعرف على مكونات المزيج.



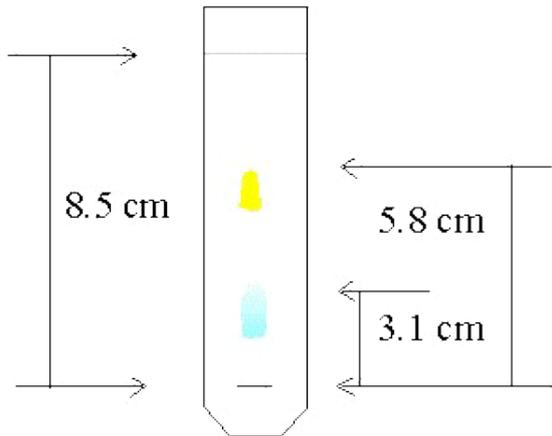
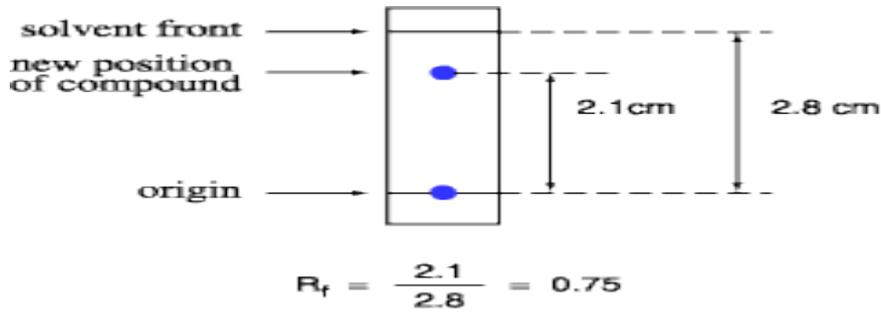


ويوجد نوعين من طرق الكروماتوغرافيا الورقية

١-الصاعدة ٢-النازلة



ويتم التعرف عليها من خلال عامل الاعاقة والذي يساوي المسافة التي قطعها المذاب مقسومة على المسافة التي قطعها المذيب



$$R_f (\text{yellow}) = \frac{5.8 \text{ cm}}{8.5 \text{ cm}} = 0.72$$

$$R_f (\text{cyan}) = \frac{3.1 \text{ cm}}{8.5 \text{ cm}} = 0.36$$

وتقارن قيم مكونات مزيج مجهول مع الستاندر (المعلوم القياسي) ز فالذي لديه نفس قيم R او متقاربة هما نفس المادة وهكذا.

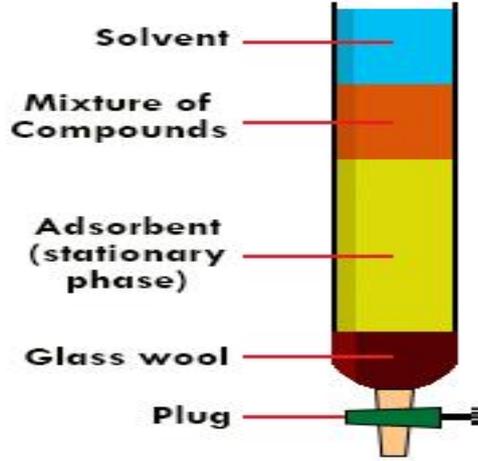
*هناك كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC) Thin layer chromatography

والتي فيها ترسب طبقة رقيقة من الطور الثابت على صفيحة زجاجية (او بلاستيكية) بابعاد معينة والطور المتحرك موجود في حوض مثل مذيب كروماتوغرافيا الورق وتسير بقية العملية بنفس الطريقة السابقة.

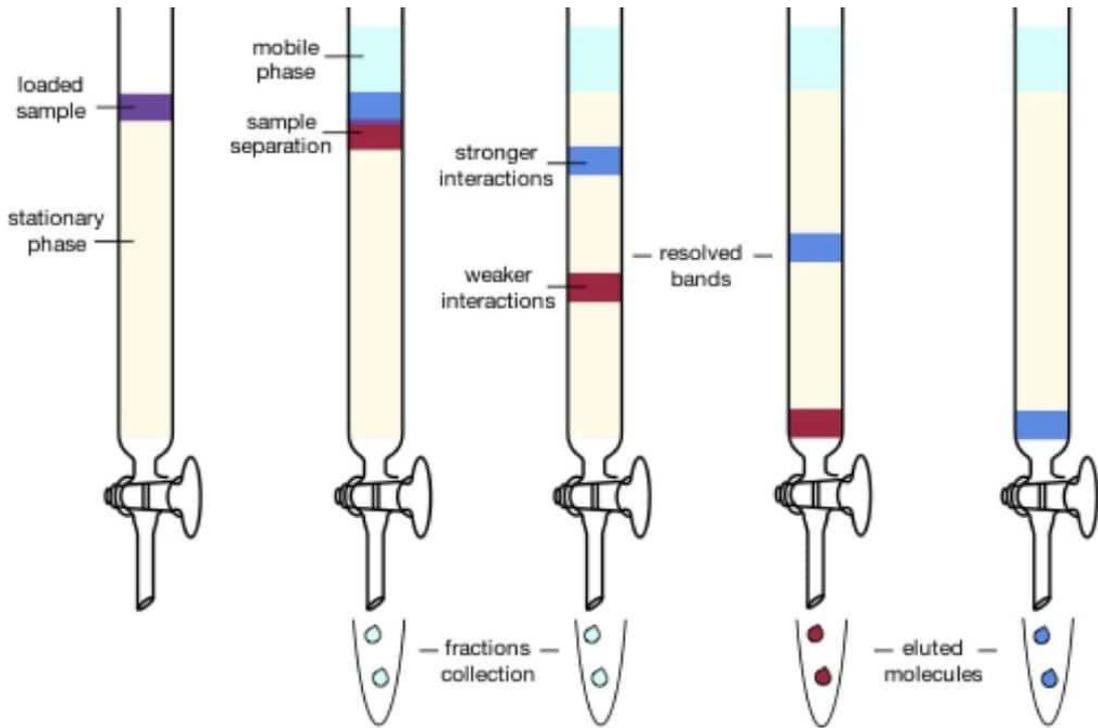
كروماتوغرافيا الاعمدة Column chromatography:

وفيها يعبا الطور الثابت في العمود بعد تنقيعه بالمذيب المناسب وعندما يعبا يكون مغطى بالمذيب الى اعلاه.

*عادة المذيب محلول مائي عند اس هيدروجيني معين .



اما مزيج المجهول المراد فصله فيوضع في الطور المتحرك المذيب والذي يسمى المتدفق Eluent او محلول الشطف ويمرر على العمود وتعتمد قدرة فصل مكونات المزيج على قابلية سرعة تحركها مع الطور المتحرك او البقاء او الاعاقة او التجاذب مع الطور الثابت. ثم يتم تعيين هذه الحوامض المنفصلة عن بعضها.



٢-الترحيل الكهربائي Electrophoresis:

وهو عملية فصل الاحماض الامينية من مزيجها بالاعتماد على صافي شحنتها وتعتمد عملية الفصل على حركتها المختلفة في المجال الكهربائي ، وان حركة الاحماض (حركة الترحيل الكهربائي او الهجرة الكهربائية) تعتمد على نسبة الشحنة الى الكتلة (شحنة/كتلة) بالنسبة الى كل حامض والتي يعبر عنها بالعلاقة الرياضية التالية

$$\text{Movment} = -K \Delta P / m.wt = -K(\text{pH}-\text{pI}) / m.wt$$

$K =$ ثابت يرتبط بالفولتية والوسط. وتكون قيمة الحركة موجبة تمثل الاتجاه نحو القطب الموجب وتكون سالبة معناه اتجاه الحركة نحو القطب السالب

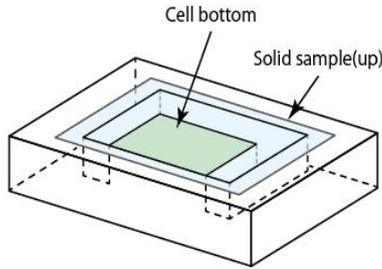
الإشارة السالبة للمعادلة تشير إلى حركة الحامض باتجاه القطب المعاكس لقيم صافي الشحنة على الكتلة

فكلما كانت قيمة $(\text{pH}-\text{pI}) / m.wt =$ ذات قيمة سالبة أكبر سوف يتحرك الحامض أسرع نحو القطب الموجب.

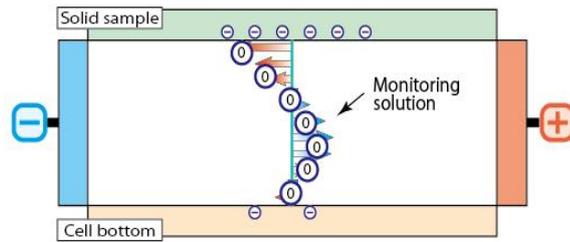
وكلما كانت قيمة $(\text{pH}-\text{pI}) / m.wt =$ ذات قيمة موجبة أكبر معناه ان الحامض سوف يتحرك أسرع نحو القطب السالب.

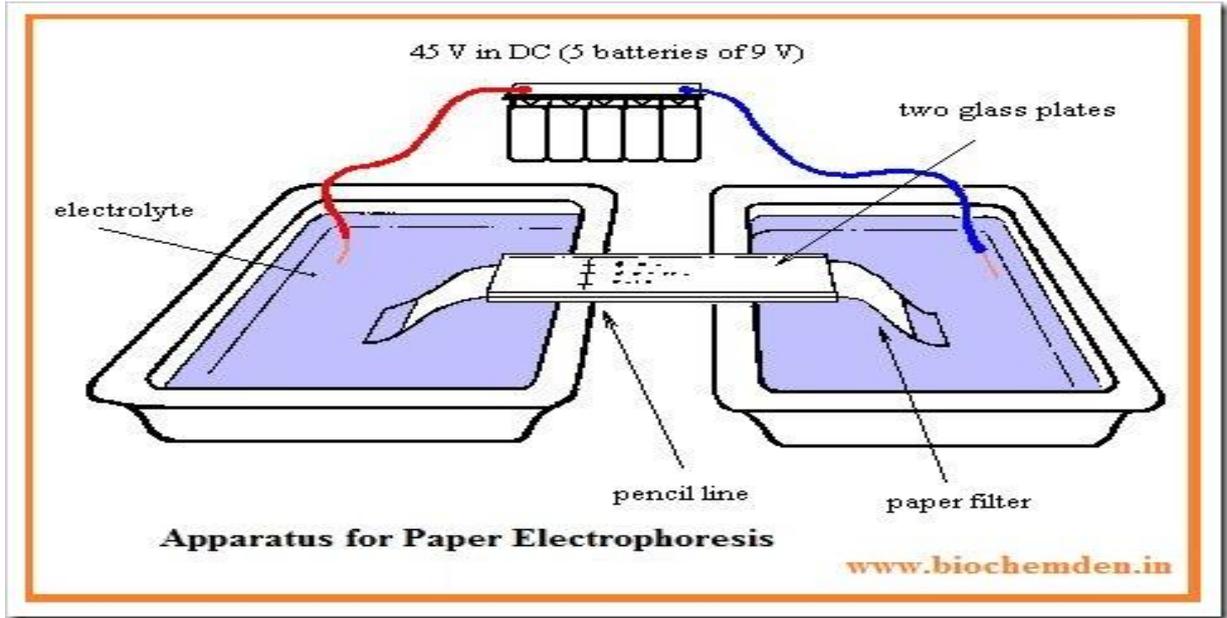
*أي ان عملية الفصل تعتمد على صافي الشحنة في pH معين إلى الكتلة فالحوامض التي تحمل صافي شحنة موجبة سوف تتحرك نحو القطب السالب وكلما زادت قيمة صافي الشحنة إلى الكتلة سوف يتحرك الحامض أسرع إلى القطب السالب. وبالعكس بالنسبة للأحماض السالبة. وبعد تحرك الأحماض المتأينة وانفصالها عن بعضها يتم تظهيرها بواسطة مظهر والتعرف إليها بمقارنتها مع ستاندر **Standard** (قياسي معلوم). وهذه التقنية مهمة في فصل وتشخيص الأحماض الأمينية وهي ذات أنواع أيضا .

المبدأ العام للترحيل الكهربائي



Solid sample cell





وعند امرار التيار تتحرك الحوامض في المزيج المجهول والقياسي المعلوم والحركة تعتمد على صافي الشحنة الى الحجم .

بعد فترة زمنية يوقف امرار التيار وتقارن مكونات المزيج المجهول مع القياسي المعلوم للتعرف على الحوامض.