# بیوشیمی فیزیک

# *Physical biochemistry*

**By: Eng.salma karamad**

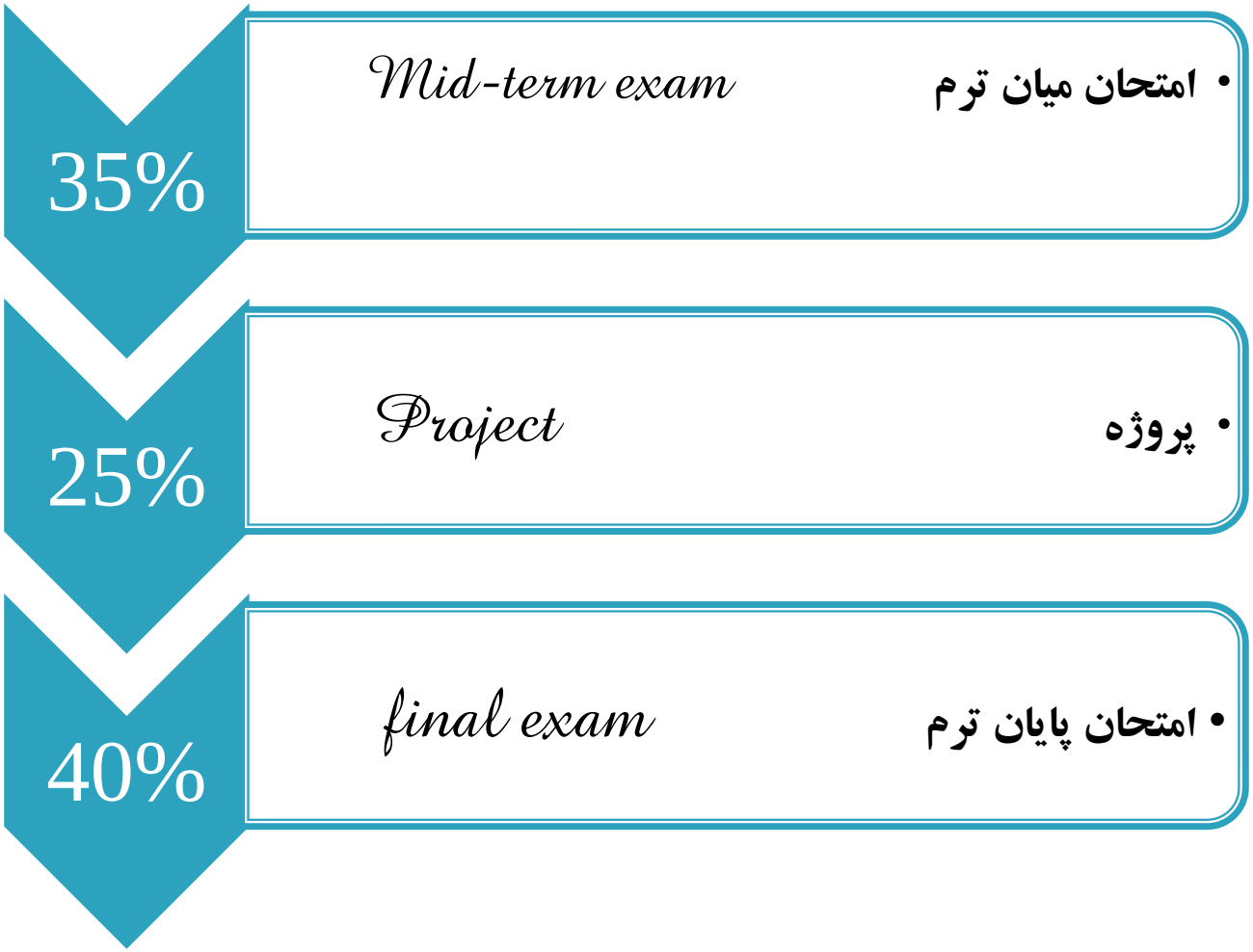
**E mail:**
**salmakaramad@gmail.com**

## کتابهای مرجع:

**Text book(English):**

- Principles of ***PHYSICAL BIOCHEMISTRY,*** *Kensal E.Van Hold-W.Curtis Johnson-P.Shing Ho*

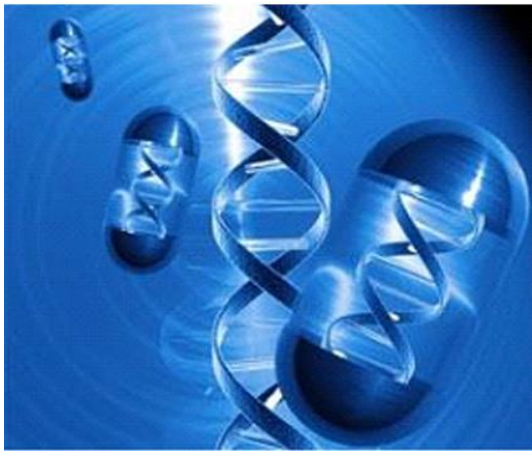
- بیوشیمی فیزیک- تالیف بهرام گلیایی،علی اکبر موسوی موحدی،جمشید خان چمنی-انتشارات دانشگاه تهران


35%
Mid-term exam
• امتحان میان ترم
25%
Project
• پروژه
40%
final exam
• امتحان پایان ترم

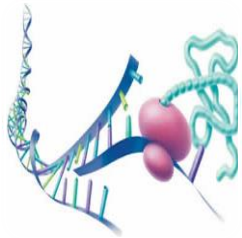
# Project titles

## Current term:

**Biomacromolecules Simulation**



# مروری بر مباحث بیوشیمی فیزیک



**تشخیص و توصیف ماکروملکولهای زیستی**

- اسپکتروسکوپی
- پراکنش اشعه ایکس
- بیوترمودینامیک

**خواص ماکروملکولهای زیستی**

- محاسبه ابعاد ملکولی
- بررسی پیوندهای بین ملکولی
- بررسی ساختارهای طبیعی و غیرطبیعی ماکروملکولها
- و.....

**جداسازی ماکروملکولهای زیستی**

- روشهای هیدرودینامیکی شامل ته نشین سازی
- الکتروفورز و کروماتوگرافی
- و.....

## بیوشیمی فیزیک: مطالعه خواص فیزیکی درشت ملکولهای زیستی(پروتئینها ،اسیدهای نوکلئیک و پلی ساکاریدها)

بیوشیمی فیزیک علم مطالعه خواص فیزیکی درشت ملکولهای زیستی مانند پروتئینها، اسیدهای نوکلئیک و پلی ساکاریدها میباشد. این خواص فیزیکی امکان توصیف ساختار درشت ملکولها در سطوح مختلف از سطح اتمی تا مجموعه ای چند زیرواحدی بزرگ را فراهم می آورند.

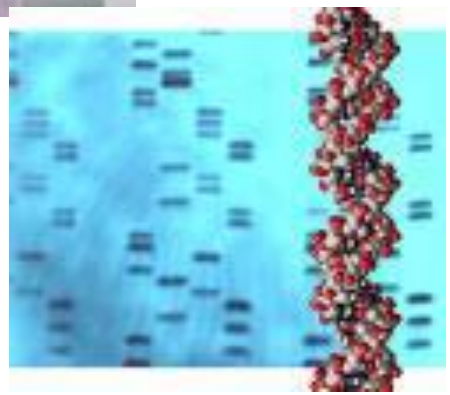
برای اندازه گیری این خواص فیزیکی بایستی اندرکنش (اثر متقابل) این ملکولها را با انواع مختلف پرتوها و رفتار آنها را در میدانهای الکتریکی،مغناطیسی و... بررسی و مطالعه نمود.

**بیوشیمی فیزیک نگرشی کمی به مطالعه ساختمان ماکروملکولها دارد**

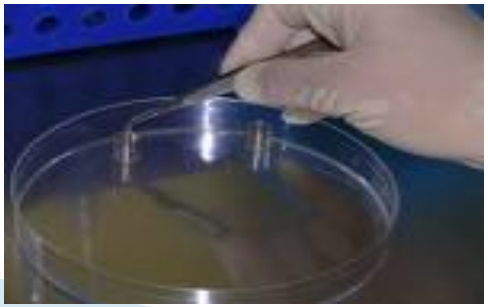
## فصل اول: خواص درشت ملکولهای زیستی

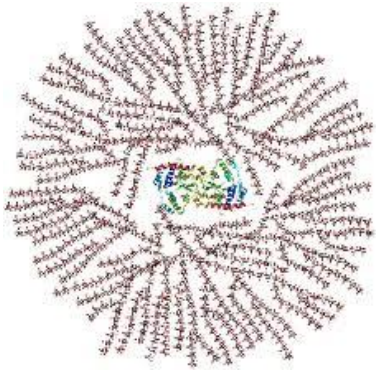
❖ در این فصل به خواصی که مستقیما بر ساختمان درشت ملکولها تاثیر دارند پرداخته میشود :

- ✓ پیکربندی و صورتبندی
- ✓ اندر کنشهای ملکولی در ساختار درشت ملکولها (نیروهای بین ملکولی و درون ملکولی در زیر واحدها)
- ✓ روابط تقارنی بین ملکولها
- ✓ محیط سلول



- ✓ جرم مولی
- ✓ ابعاد ماکروملکولها
- ✓ مفاهیم ساختمانهای طبیعی و غیر طبیعی شده
- ✓ ارتباط میان ساختمان و عملکرد ماکروملکولها



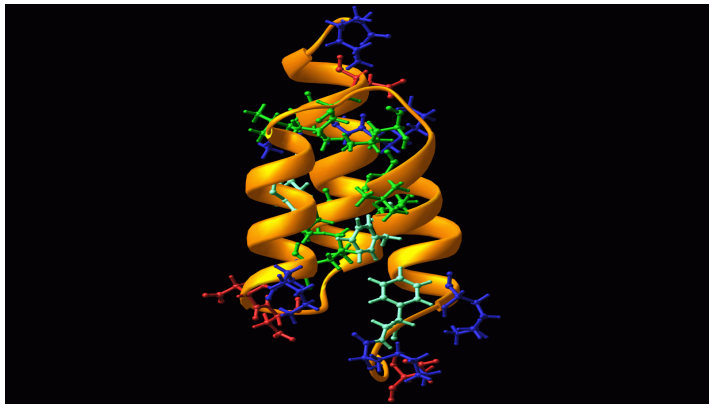


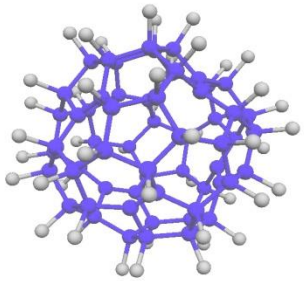
❖ و سپس:

✓ ساختار پلی ساکاریدها

✓ ساختار پروتئینها

✓ ساختار اسیدهای نوکلئیک

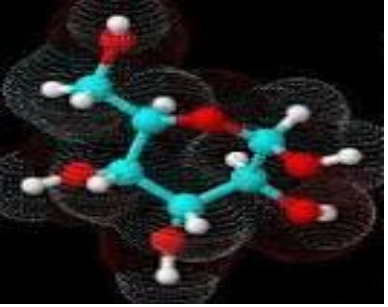




❖ ملکول چیست؟ تعریف ملکول زیستی با تعریف ملکول در شیمی متفاوت است

- ✓ **ملکول در شیمی:** ترکیبی از دو یا چند اتم که بطور کووالانسی با نسبتهای معین منطبق بر وزن یا استوکیومتری پیوند یافته و دارای ساختار هندسی معین میباشد. هم ساختار هندسی و هم استوکیومتری(فرمول شیمیایی) ملکول دارای اهمیت است.
- ✓ **ملکول زیستی:** جزئی که دارای استوکیومتری و هندسه معین است و به راحتی تجزیه نمیشود.لازم نیست تمام قسمتها با پیوند کووالانسی بهم متصل باشند ، بلکه ممکن است اجتماعی از بسپارهایی باشد که با پیوندهای غیرکووالانسی در کنار هم قرار گرفته اند مانند هموگلوبین
- ✓ **ماکروملکولهای زیستی:** ملکولهای پیچیده ای متشکل از واحدهای سازنده زیستی و اجتماعی از تکپارها(مونومرها) هستند.
- ✓ ماکروملکول چیست؟ یک ملکول بزرگ یا پلیمر

- ✓ **درجه پلیمریزاسیون:** تعداد مونومرها در پلیمر را درجه پلیمریزاسیون گویند.حد پایین پلیمریزاسیون نامعلوم است ومعمولا یک تترامر را ماکروملکول نمی نامند.به یک ملکول تشکیل شده از بیست مونومر ماکروملکول گویند.
- ✓ **اولیگومر:** ماکروملکولی که از بیش از یک مونومر تشکیل شده باشد را الیگومر گویند، ولی به اندازه کافی بزرگ نیست تا پلیمر اطلاق شود.



- *کوچکترین ملکول :* ملکولهای آلی و معدنی- RNA با وزن ملکولی $10^4 \times 2.5$ دالتون
- *بزرگترین ملکول :* DNA با وزن ملکولی $10^{10} \times 2.5$ دالتون

**دسته بندی پلیمرها:**

- **هوموپلیمر:** متشکل از یک نوع مونومر
- **کوپلیمر:** متشکل از دو یا چند نوع مونومر متفاوت است.ملکولهای پروتئین( توالی اسیدهای آمینه) ،اسیدهای نوکلئیک(توالی نوکلئوتیدها) و پلی ساکاریدها (پلیمر قندها) نمونه هایی از کوپلیمرهای بیولوژیک هستند.

❖ **سطوح ساختمانی پلیمرها:**

- **تکپار(مونومر):** واحدهای ساختاری ساده-از پلیمریزه شدن آنها درشت ملکول بوجود می آید-مانند قندهای ساده ،اسیدهای آمینه،نوکلئوتیدها
- **ساختمان اول($1^\circ$):**تعداد،نوع و توالی مونومرها-آرایش خطی مونومرها- مانند توالی اسیدهای آمینه در پروتئینها و توالی نوکلئوتیدها در اسیدهای نوکلئیک
- **ساختمان دوم($2^\circ$):**وجود نظم های متوالی و میان کنشهای بویژه هیدروژنی- ساختارهای مارپیچ- مانند ساختمانهای $\alpha$،$\beta$ در پروتئین ها و مارپیچهای مضاعف در اسیدهای نوکلئیک
- **ساختمان سوم($3^\circ$):**تمامی میان کنشهای اتمهای یک ماکروملکول در فضای سه بعدی-تاخوردگیهای شبکه سه بعدی یا توپولوژی درشت ملکول
- **ساختمان چهارم($4^\circ$):**بسیاری از پلیمرهای بیولوژیک با یکدیگر میان کنش داده و تشکیل ساختمانهای پیچیده ای از قبیل پروتئینهای چند زیر واحدی،ویروس ها،غشاء ها،فیلامانها و ...میدهند.

- **یکی از اهداف بیوشیمی فیزیک، درک نقش و ارتباط این سطوح ساختاری و پیچیدگی آنهاست**

- ***ما مستقیما نمیتوانیم ساختار ملکول را ببینیم بلکه فقط میتوانیم خواص آن را اندازه بگیریم،*** لذا تصویر یک ملکول در واقع تنها مدل توصیف کننده اتمها در موقعیت آنها و در فضای سه بعدی ست.یک مدل وقتی صحیح است که خواص اندازه گیری شده را تایید کند.

- **در بیوشیمی فیزیک برای تعیین ساختار ملکولی، اندرکنش ملکول با پرتوها در میدان های الکتریکی،مغناطیسی و... مطالعه میشود.**

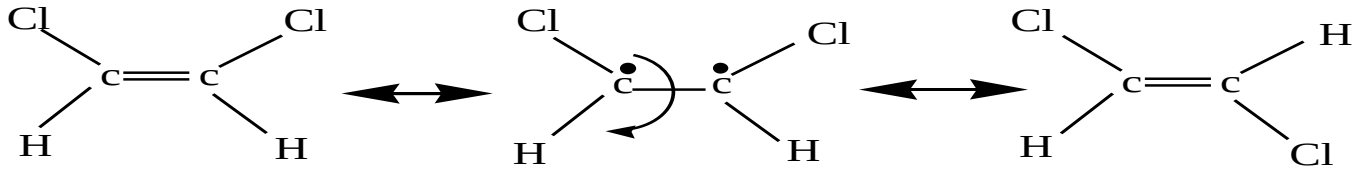
- آنچه به عنوان شکل ملکول نشان داده میشود تنها یک مدل ساختمانی ست که موقعیت اتمها در فضای سه بعدی را نشان میدهد.صحیح تر آن است که ساختمان بصورت سیستمی از اتمها و مختصات آنها $(X,Y,Z)$ نشان داده شود.

## پیکربندی و صورتبندی: توصیف کننده آرایش اتمها یا گروهی از اتمها در ملکول

❖ **پیکربندی:** عبارتست از موقعیت گروهها حول یک یا چند پیوند یا حول یک مرکز کایرال، اتم بدون صفحه و یا مرکز تقارن

✓ **ملکول کایرال:** ملکولی که در آن چهار گروه شیمیایی مختلف حول اتم چهاروجهی(معمولا کربن) آرایش یافته است.

✓ مثال: پیکربندی سیس۱و۲ دی کلرواتیلن–دو کلر در یک طرف پیوند دوگانه بدون چرخش قرار دارند،برای تغییر پیکربندی پیوند دوگانه شکسته شده سیس تبدیل به ترانس ۱و۲ دی کلرواتیلن میشود.




سیس ۱و۲ دی کلرو اتیلن ترانس ۱و۲ دی کلرواتیلن

✓ در درشت ملکولهای بیولوژیکی پیکربندی استرئوشیمی ملکول را توصیف میکند.

✓ برای تغییر پیکربندی یا کایرالیته بایستی یک پیوند شکسته شود تا واسطه مسطح تشکیل شده و سپس در طرف مقابل صفحه پیوند شود.ملکول منتج **استریوایزومر یا انانتیومر** ملکول اولیه میباشد.

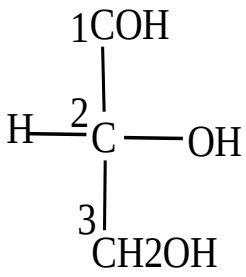
✓ **استریو ایزومرها اگرچه ترکیب شیمیایی یکسان دارند،ملکولهای کاملا متفاوت میباشند و خواص بیولوژیکی مجزایی دارند.**

✓ قندهایی که بیش از یک مرکز کایرال دارند ، بسیار پیچیده اند.

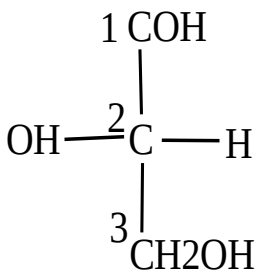
- استرئوشیمی تکپارها: تکپارها (مونومرها) ی سازنده درشت ملکولهای زیستی، ملکولهای کایرال میباشند (بجز چند استثناء)

- استرئوشیمی واحدهای سازنده در بیوشیمی طبق پیکربندیهای مطلق (absolute configuration) آنها در نظر گرفته میشود. این عمل باعث تعریف سازگار برای پیکربندی تمام تکپارها بویژه در بیوبسپارها میگردد.

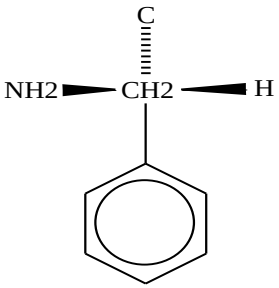
- به عنوان مثال پیکربندی قندها ، اسیدهای آمینه ، باقیمانده های اسید نوکلئیک نسبت به ساختارهای L,D گلیسر آلدئید سنجیده میشود. در ترکیب گلیسرآلدئید کربن شماره ۲ یک کربن نامتقارن است–عامل OH را به عنوان گروه فعال در نظر میگیرند–اگر OH در سمت راست باشد ایزومر از نوع D و اگر در سمت چپ باشد از نوع L خواهد بود.



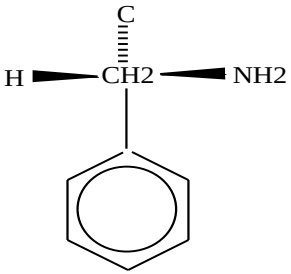

D–گلیسر آلدئید




L–گلیسرآلدئید




L-Phenylalanine



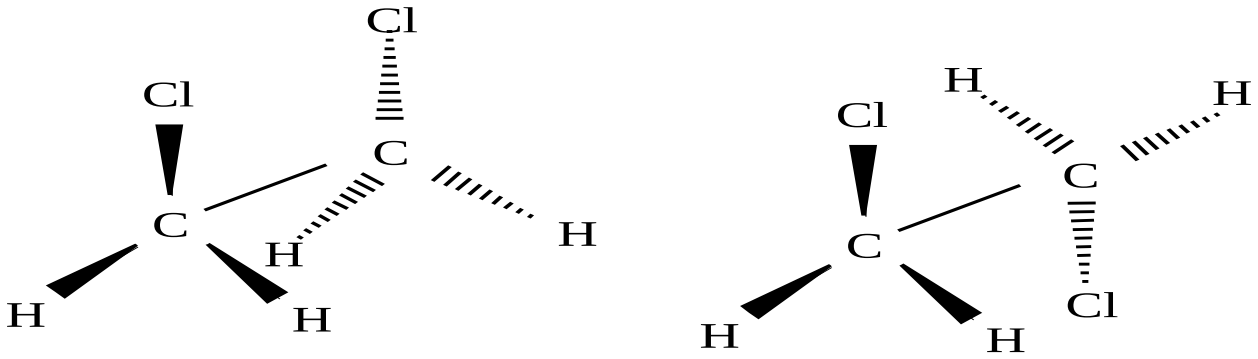

D-Phenylalanine

## ❖ ایزومرهای نوری D,L :

- ✓ یکی از راههای تشخیص انانتیومرها ، استفاده از ویژگی و توانایی آنها در چرخش نور پلاریزه (نور قطبیده) است.
- ✓ اگر ایزومری نور قطبیده را با درجات مشخصی به راست بچرخاند، آن را بوسیله پلاریمتر با علامت D (راست) واگر نور قطبیده را به چپ بچرخاند با علامت L (چپ) مشخص میکنند.
- ✓ ایزومرهای D,L قراردادی–وضعیت فضایی اتمهای اطراف کربن را نشان میدهد

❖ **صورتبندی:** عبارتست از آرایش فضایی گروهها حول یک یا چند پیوند ساده که چرخش آزاد دارند.

✓ **مثال:** ۱و۲ دی کلرواتان( فرم اشباع شده دی کلرواتیلن) برای چرخش حول پیوندهای شیمیایی محدودیت ندارد–اتمهای کلر میتوانند آزادانه در یک طرف یا طرف مقابل قرار گیرند.

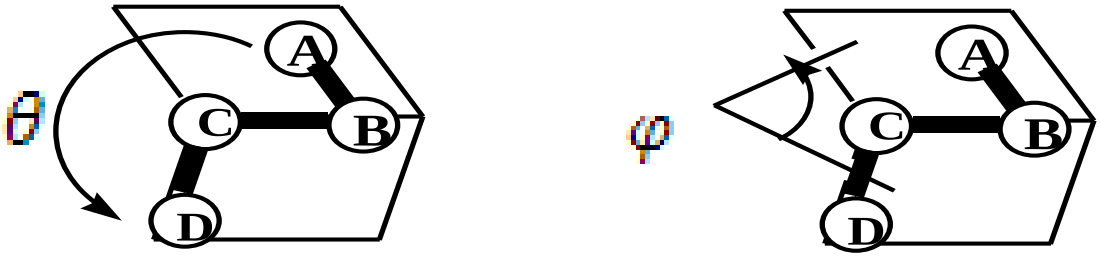



✓ **صورتبندی یک ملکول، ایزومرهای ایجاد شده بوسیله چرخش حول پیوندهای ساده را توصیف میکند.**

✓ **برای تغییر صورتبندی لازم نیست پیوندهای شیمیایی تغییر یابند.**

- **به دلیل وجود پیوندهای زیادی که میتوانند چرخش آزاد داشته باشند ، برخلاف پیکربندی ، تعداد صورتبندیهای درشت ملکولها بسیار زیاد است.**

- صورتبندی درشت ملکولها: بر اساس تعاریفی از قبیل ( آنتی/گوچ - پوشیده/نپوشیده - زاویه پیچش و دووجهی) میباشد.
- **صورت‌بندی «آنتی» ۱و۲-دی کلرو اتان، ۱.۱۵ کیلوژول بر مول پایدار تر از صورت‌بندی «گوچ» است.**
- **زاویه پیچش(θ)(Torsion angle):** زاویه بین دو گروه روی طرفین پیوند شیمیایی قابل چرخش

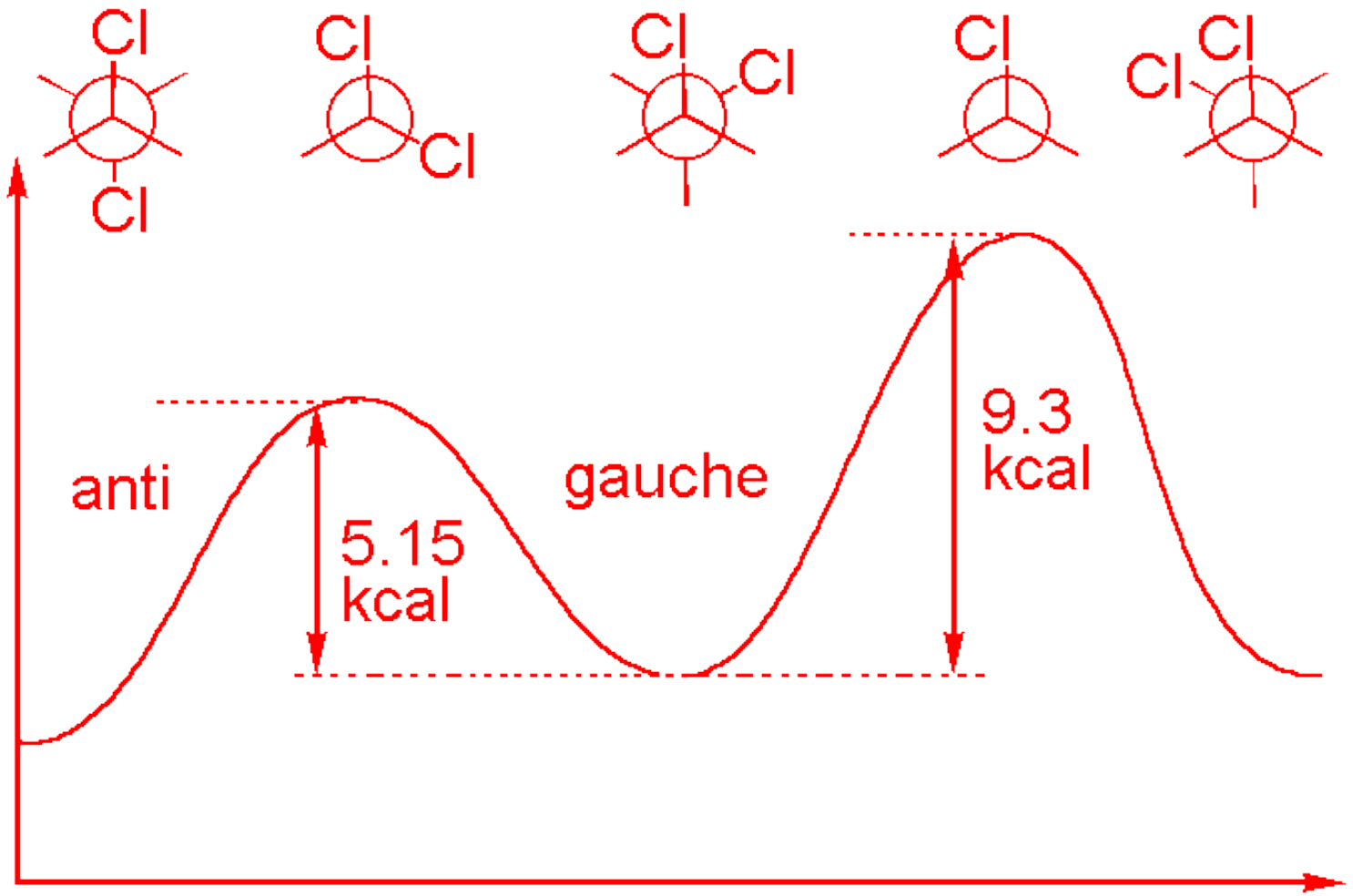



- **زاویه دووجهی(ϕ):** زاویه پیوندی بین دو گروه از اتمها **زاویه دو وجهی**(ϕ) نامیده میشود و با زاویه پیچش متفاوت است.این زاویه در حقیقت زاویه بین صفحات است.

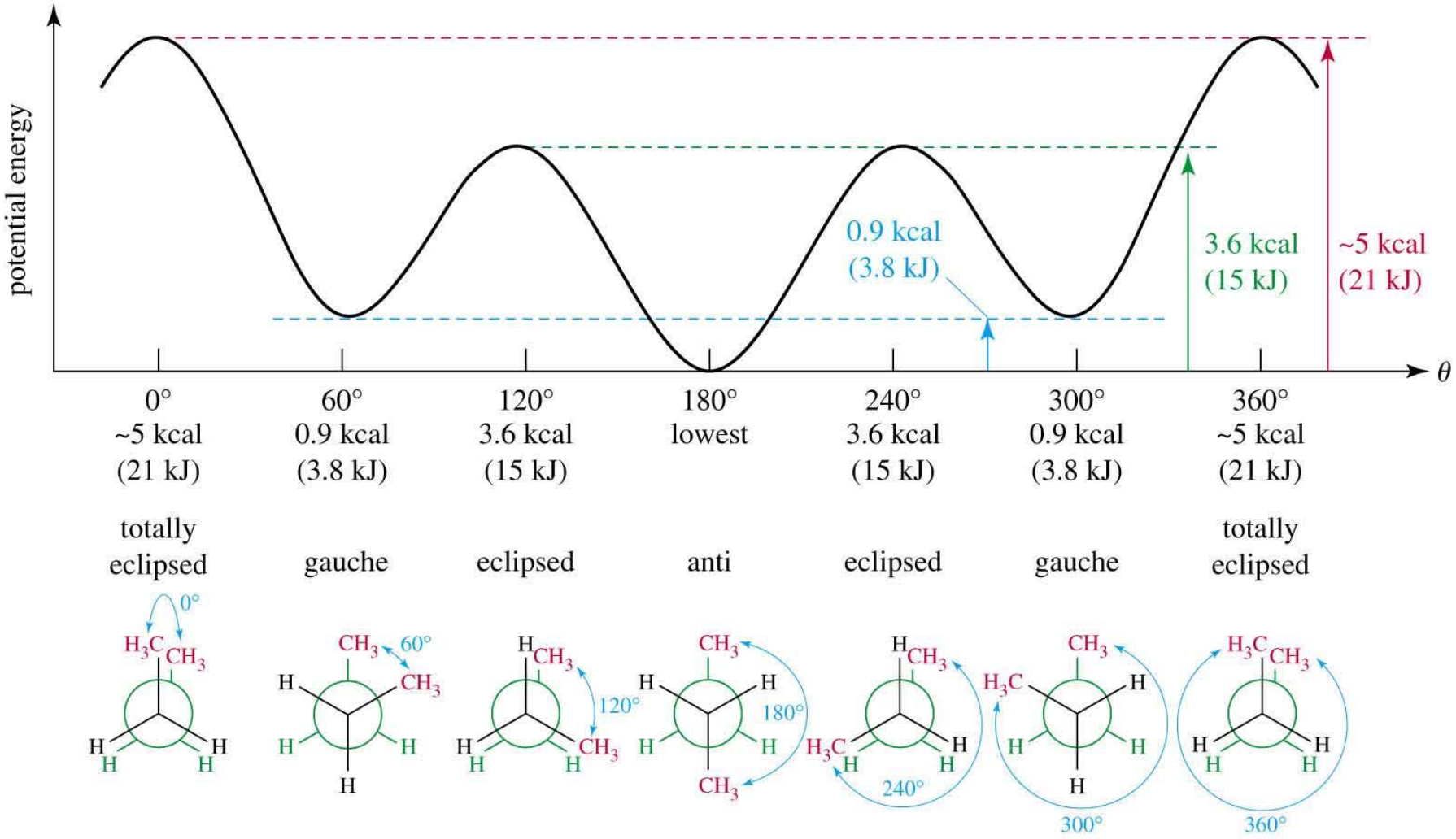
  صفحات A-B-C و B-C-D

- زاویه دووجهی مکمل زاویه پیچش است ($\phi=\theta+180^{\circ}$)

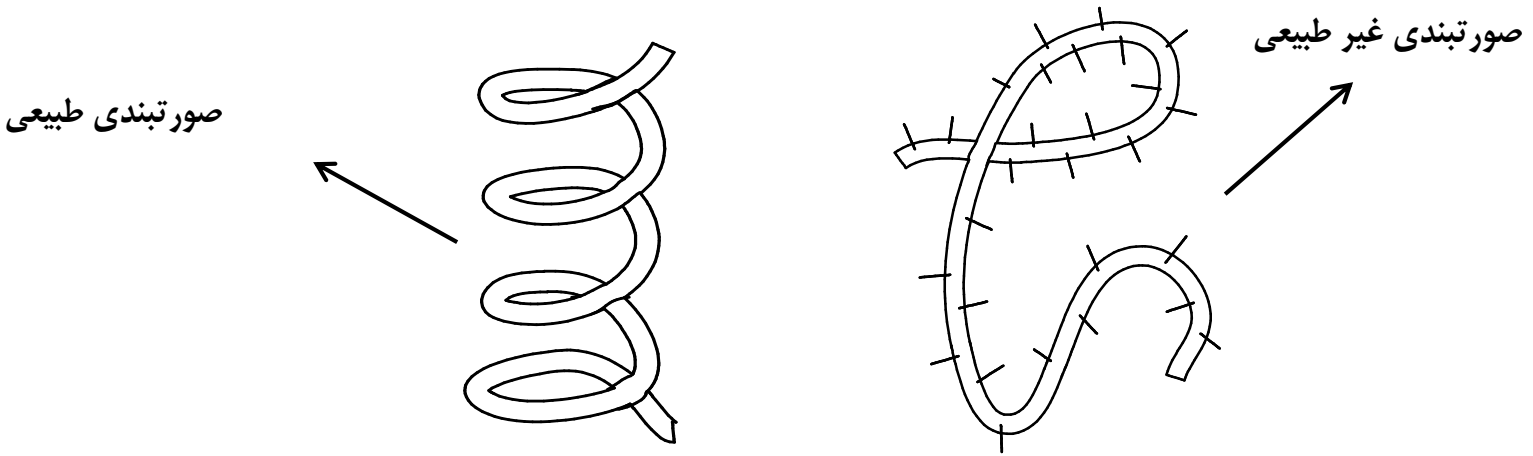
- ϕ برای صورتبندیهای ابتدایی و انتهایی با θ(-180,+180)، از صفر تا $360^{\circ}$ تغییر میکند.


Cl
Cl
Cl
Cl
Cl
Cl
Cl
Cl
Cl
anti
5.15
kcal
gauche
9.3
kcal

# آنالیز کنفرماسیونی



- **تغییر صورتبندی یک ملکول ،ملکول جدیدی ایجاد نمیکند بلکه گاهی خواص آن را تغییر میدهد.**
- برای مثال صورتبندی تاخورده پروتئین ،صورتبندی طبیعی پروتئین و شکل طبیعی عملگر آن در نظر گرفته میشود.در صورتیکه شکل تا نخورده یا صورتبندی غیر طبیعی پروتئین  غیر عملگر بوده و اغلب باعث پروتولیز میشود.




- هم پیکربندی و هم صورتبندی برای نشان دادن عملگری(عملکرد صحیح ملکول) و ساختار مهم هستند.

# جرم ملکولی-جرم مولی

- **جرم ملکولی (Molecular mass) :** جرم یک ملکول است. برای بد ست آوردن جرم مولی، جرم ملکولی را در عدد آووگادرو ضرب میکنیم.این واحد به دالتون بیان میشود.

- **دالتون :** یک دالتون برابر است با ۱/۱۲ جرم کربن ۱۲(معادل جرم یک اتم هیدروژن)- یک کیلو دالتون ۱۰۰۰ دالتون و یک مگا دالتون $10^6$ دالتون است

- جرم ملکولی پروتئینها از شش هزار تا حدود یک میلیون دالتون متفاوت میباشد-بطور مثال جرم ملکولی آلفا لاکتالبولین حدود ۱۴۲۰۰ و هموگلوبین ۶۴۵۰۰ دالتون است.

- **از روی جرم ملکولی یک پروتئین میتوان بطور متوسط تعداد اسیدهای آمینه آن را مشخص کرد-محدوده جرمهای ملکولی اسیدهای آمینه از ۷۵ (گلیسین) تا ۱۸۶(تریپتوفان ) است- متوسط جرم ملکولی در حدود ۱۱۰ دالتون بوده و بنابر این پروتئینی با جرم ملکولی ۳۳۰۰۰ دالتون تقریبا شامل ۳۰۰ اسید آمینه است.**

- جرم ملکولی در مورد ماکروملکولها معنای متفاوتی دارد.در یک محلول سوکروز تمامی ملکولهای حل شونده جرم ملکولی یکسانی دارند و روشهای مختلف تعیین جرم مقدار عددی یکسانی خواهد داد.محلولهای حاوی هموگلوبین و یا دیگر پروتئینها جرمهای ملکولی یکسانی دارند ولی برای پلی استایرن، DNA، پروتئین های رشته ای، لاستیک و دیگر مواد پلیمری چنین نخواهد بود .

در هریک از این سیستمها، ملکولها یکسان نیستند و توزیعی از جرمهای ملکولی وجود نخواهد داشت.

- ✓ **مونودیسپرس :** سیستم پلیمری که تمام ملکولهایش جرم مولی یکسان دارند.
- ✓ **پلی دیسپرس :** سیستم پلیمری که تمام ملکولهایش جرم مولی یکسان ندارند.

- ✓ **جرم ملکولی پلیمر بر اساس دو تعریف عمده بیان میشود:**
- ✓ متوسط عددی
- ✓ متوسط وزنی

## ❖ متوسط عددی:

- ✓ یک سیستم پلیمری با N ملکول حاوی $n_1$ ملکول با جرم ملکولی $M_1$، $n_2$ ملکول با جرم ملکولی $M_2$ و... را در نظر بگیرید. متوسط عددی عبارتست از:

$$\bar{M}n = \frac{n1M1 + n2M2 + n3M3 + \cdots}{n1 + n2 + n3} = \frac{\sum_i niMi}{\sum_i ni} = \frac{\sum_i niMi}{N} = \sum_i fiMi$$

$$fi = \frac{ni}{N} \qquad N = \sum_i ni$$

- ✓ **Ni** تعداد ملکولهای با جرم ملکولی Mi و **fi** کسری از تعداد کل ملکولهاست که دارای جرم مولی Mi هستند.
- ✓ $\bar{M}n$ همان میانگین حسابی یا معدل است.

## ❖ متوسط وزنی:

- ✓ میانگین وزنی جرم ملکولی بصورت زیر تعریف میشود:

$$\bar{M}w = \frac{\sum_i wiMi}{wi}, wi = niMi \Rightarrow \frac{n1M1^2 + n2M2^2 + \cdots}{n1M1 + n2M2 + \cdots} = \frac{\sum_i niMi^2}{\sum_i niMi}$$

$$\Rightarrow \frac{\sum_i fiMi^2}{\sum_i fiMi} = \frac{\sum_i fiMi^2}{\bar{M}n}$$

- **شعاع ژیراسیون (RG):**
- شعاع چرخشی (ژیراسیون) ریشه میانگین مجذورهای فواصل تمامی بخشهای یک ملکول از مرکز جرم آن است (شعاع کوچکترین کره ای است که ماکروملکول توسط آن محاط میشود) و بصورت زیر تعریف میشود:

$$RG = \sqrt{\frac{\sum_i miri^2}{\sum_i mi}}$$

- که در آن mi جرم عنصر iام در فاصله ri از مرکز جرم است.
- مقدار RG را میتوان از روی پخش نور عبوری از محلول ماکروملکولها محاسبه نمود.
- برای شکلهای ساده و همچنین پیچه نامنظم **RG** را میتوان محاسبه نمود:

- شکل کره

$$RG = \sqrt{\frac{3}{5}}r \rightarrow r = \text{شعاع کره}$$

- شکل میله ای

$$RG = \sqrt{\frac{1}{12}}L \rightarrow L = \text{طول میله}$$

- راندوم کویل

$$RG = \sqrt{\frac{N}{6}}\, l \rightarrow N = l \text{ تعداد واحدها به طول}$$

- مقدار **RG** را میتوان برای برآورد شکل ملکول مورد استفاده قرار داد.

- با مقایسه مقدار اندازه گیری شده ($R_{G,observed}$) با آنچه برای کره مورد نیاز است ($R_{G,sphere}$) میتوان شکل ملکول را تخمین زد.

$$R_{G,sphere} = \sqrt{\frac{3}{5}}\, r \qquad r = \left(\frac{3Mv^-}{4\pi N_A}\right)^{1/3} \qquad \Rightarrow \qquad R_{G,sphere} = \sqrt{\frac{3}{5}}\left(\frac{3Mv^-}{4\pi N_A}\right)^{1/3}$$

- شعاع چرخشی چند ماکروملکول: ( مقیاس آنگستروم Å )

- لیزوزیم ←

$$RG(obs) = 14.3 \quad RG(sphere) = 12.2 \Rightarrow \frac{RG(obs)}{RG(sphere)} = 1.17$$

- میوگلوبین ←

$$RG(obs) = 16 \quad RG(sphere) = 13.2 \Rightarrow \frac{RG(obs)}{RG(sphere)} = 1.2$$

- tRNA ←

$$RG(obs) = 21.7 \quad RG(sphere) = 13.8 \Rightarrow \frac{RG(obs)}{RG(sphere)} = 1.57$$

- میوزین ←

$$RG(obs) = 468 \quad RG(sphere) = 45.2 \Rightarrow \frac{RG(obs)}{RG(sphere)} = 10.4$$

- DNA ←

$$RG(obs) = 1170 \quad RG(sphere) = 74 \Rightarrow \frac{RG(obs)}{RG(sphere)} = 15.8$$

- مقادیر بالا نشان میدهد که لیزوزیم و میوگلوبین شکلی نزدیک به کره دارند ( نسبت نزدیک به یک)، در حالیکه میوزین و DNA از شکل کروی فاصله زیادی دارند و به شکل میله ای نزدیکند.

## اندرکنشهای ملکولی در ساختار درشت ملکولها ( نیروهای بین ملکولی و درون ملکولی در زیر واحدها)

- **پیکربندی درشت ملکولها** در سلول بوسیله پیوندهای کووالانسی ثابت گردیده است.
- **اندرکنشهای بین ملکولی در تعیین صورتبندیها** بسیار متغیر بوده و به چند پارامتر بستگی دارند.
- **مثال:** تاخوردگی درشت ملکولها که به توالی اسیدهای آمینه وابسته است (ساختارهای اول، دوم، سوم، چهارم) ، به تعدادی اندرکنش ویژه بستگی دارد.

- **ساختمان سه بعدی یک ماکروملکول توسط سه فاکتور تعیین میشود:**

۱-زوایای پیوندی مجاز

۲-اندرکنش بین اجزاء ماکروملکول (بین مونومرها)

۳-اندرکنش بین اجزاء ماکروملکول و محیط اطراف (حلال)

- **اندرکنشهایی که ساختمان ملکولی را تعیین میکنند، محدوده ای از اندرکنشهای قوی شامل پیوندهای کووالانسی (۲۰۰ تا ۸۰۰ kJ/mol) تا اندرکنشهای ضعیف شامل یون-یون، دوقطبی-دو قطبی، پراکندگی و هیدروژنی (۰ تا ۶۰ kJ/mol) را در برمیگیرند.**

## ❖ اندرکنشهای ضعیف

- ✓ شکستن پیوندهای کووالانسی نگهدارنده اتمها در ملکول مشکل است.این پیوندها هنگام تشکیل مقدار زیادی انرژی آزاد میکنند.لذا هنگام شکستن بایستی مقدار زیادی به آنها انرژی داد. **برای یک درشت ملکول این پیوندها ثابت در نظر گرفته میشود.**
- ✓ صورتبندی درشت ملکول بوسیله اندرکنشهای ضعیف با انرژیهای تشکیلی که حداقل یک مرتبه از نظر بزرگی از پیوندهای کووالانسی کمتر میباشند، پایدار میشوند.
- ✓ **اندرکنشهای ضعیف نحوه جذب یا دفع اتمها را توصیف میکنند. این اندرکنشها به صورتی هستند که انرژی صورتبندی حداقل شود.**
- ✓ این اندرکنشها بطور معکوس با فاصله یا توانی از فاصله ($r^2$ ، $r^3$ ،....) بین دو گروه متناسب میباشند.در صورتیکه اندرکنش وابستگی بیشتری به فاصله داشته باشد، با افزایش r به سمت صفر می رود. لذا تنها در بردهای کوتاه اندرکنش خواهیم داشت.

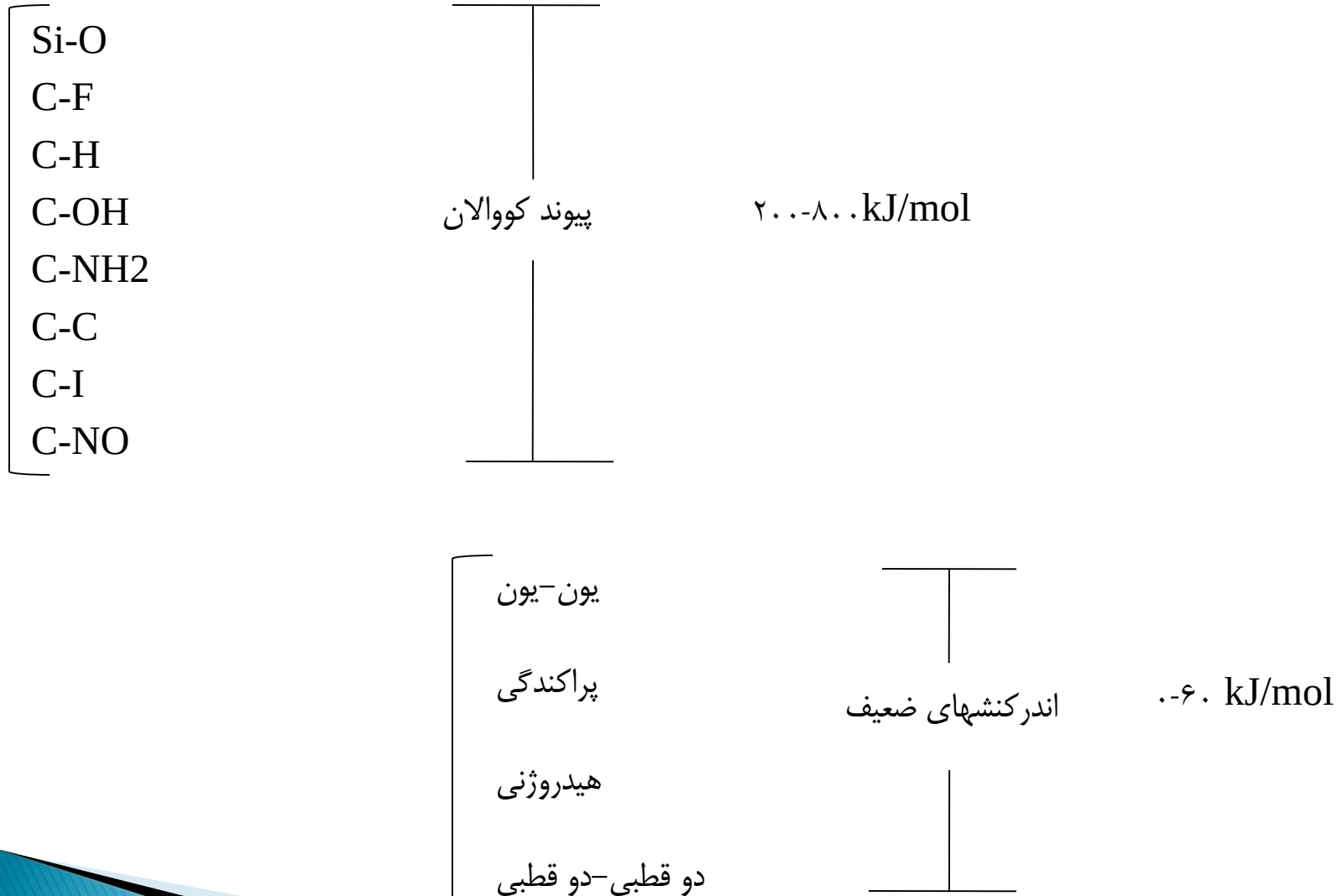
## ❖ اندرکنش های اصلی مثبت در ماکروملکولها :

- ✓ پیوندهای هیدروژنی
- ✓ پیوندهای یونی
- ✓ جاذبه های واندروالس

- **پیوندهای هیدروژنی:** مسئول شکل گیری ساختمان مضاعف DNA و ساختمانهای $\alpha$ و $\beta$ پروتئین هاست.
- **پیوندهای یونی :**در پروتئین ها بارهای مثبت و منفی موجود در زنجیرهای جانبی، اسیدهای آمینه را به هم متصل میکنند و در نوکلئوپروتئین ها ،بارهای مثبت زنجیرهای جانبی، اسیدهای آمینه لیزین و آرژنین را به فسفات های منفی ستون فقرات اسیدهای نوکلئیک متصل می نمایند.
- **نیروهای جاذبه واندروالس:** نیروهای ضعیفی هستند که بین تمام ملکولها وجود دارند ودر فواصل کوتاه عمل میکنند–اگر دو ناحیه یک ماکروملکول شکلهای مکمل یکدیگر داشته باشند،این دو ناحیه کاملا به یکدیگر نزدیک شده و پیوندهای واندروالس قوی تشکیل میدهند.

* * *

- **انرژی اندرکنش بار–بار:** با $1/r$ تغییر میکند واز نوع دوربرد است
- **اندرکنش دو قطبی القایی(پراکندگی) :** این اندرکنش تمایل طبیعی اتمها برای جذب، دور کردن بار و قطبش به خاطر قطبش پذیری ابر الکترونی را توصیف میکند و با $1/r^6$ متناسب است.دارای برد کوتاه میباشد و در فواصل بیش از 1nm قابل صرفنظر کردن است.
- **دافعه فضایی :** در فواصل کوتاه رخ میدهد و با $1/r^{12}$ متناسب است. اجازه نمیدهد دو اتم در آن واحد در یک موقعیت فضایی قرار گیرند.


Si-O
C-F
C-H
C-OH
C-NH2
C-C
C-I
C-NO
پیوند کووالان
۲۰۰-۸۰۰kJ/mol
یون–یون
پراکندگی
هیدروژنی
دو قطبی–دو قطبی
اندرکنشهای ضعیف
۰-۶۰ kJ/mol

- اندرکنشهای پراکندگی جذبی و دفعی، یک فاصله بهینه برای جداشدن دو اتم در یک انرژی حداقل را بوجود می آورند.این فاصله بهینه شعاع موثر (شعاع واندروالس $r_{vdw}$) هر اتم میباشد.

- انرژی اندرکنشهای دوربرد (بار–بار، بار–دو قطبی، دو قطبی–دو قطبی) به محیط و اطراف بستگی دارد.اندرکنش میان دو اتم باردار **در محیط قطبی به دلیل حفاظت و پوشیده شدن بارها کاهش می یابد.**

- معادلات انرژی اندرکنشهای دوربرد بطور معکوس با ثابت دی الکتریک محیط رابطه دارند ، این اندرکنشها در محیطهای با ثابت دی الکتریک بالا نظیر آب ضعیف میشوند.

- **ثابت دی الکتریک به عنوان پارامتری در پایدارکنندگی صورتبندی درشت ملکولها محسوب میشود.**

[ **تمامی اندرکنشهای بین زیرواحدهای ماکروملکولها باعث میشوند که ماکروملکول ساختمان سه بعدی خاص خود را بدست آورد که متناسب با عملکرد بیولوژیک خاص آن است** ]

## روابط تقارنی بین ملکولها

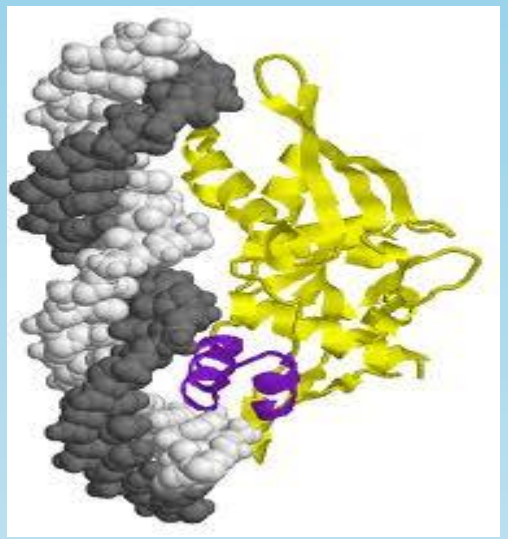
- ✓ سیستمهای بیولوژیکی از شکل ارگانیسم تا ساختمان ملکولها در ارگانیسم ،به تقارن تمایل دارند.این مطلب علی رغم نامتقارن بودن واحدهای سازنده ( به عنوان مثال اسیدهای آمینه) صحیح است.

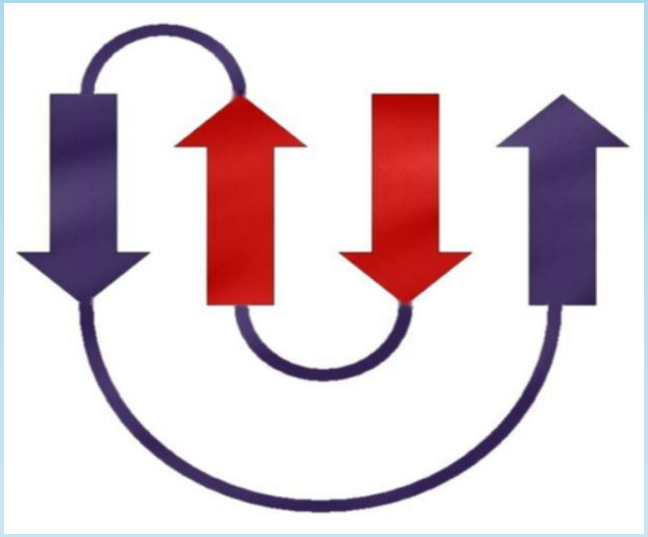
- ✓ **مونومرها طوری ترکیب میشوند تا تشکیل یک ساختار متقارن بدهند.**
- ✓ بطور معمول روابط تقارنی درشت ملکولهای زیستی از نظر مفهومی و ریاضی وار شرح داده میشود. مدل ریاضی وسیله ای برای تصور ارتباط دو شیء متقارن یا بنا کردن مجموعه ای از روابط تقارنی برای یک مدل مخصوص را فراهم می آورد.
- ✓ این فرمول بندیها در ساده سازی مسائل بیوشیمی نظیر پیش بینی ساختمان، تعیین ساختمان بوسیله روشهایی نظیر پراکنش اشعه X و نتایج حاصل از میکروسکوپهای الکترونی و اتمی بکار میرود.

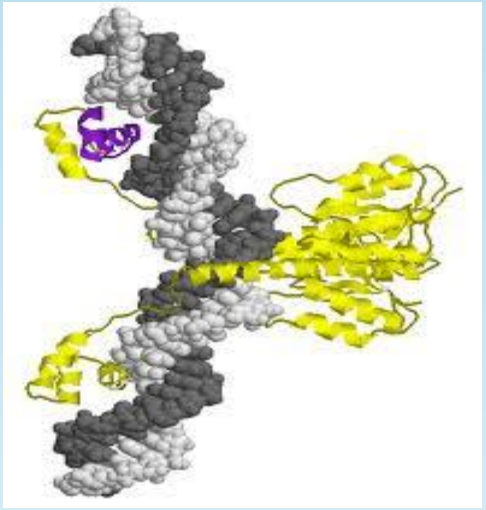
- ✓ **تعریف تقارن:** موقعیت نسبی قسمتهایی از ترکیب در اطراف یک خط مقسم ، صفحه یا توزیع حول یک محور یا مرکز است. برای وجود تقارن باید دو یا چند شی یا قسمت وجود داشته باشد.

- ✓ **موتیف( Motif ):** هر قسمت از ترکیب که به قسمت دیگر در یک تقارن ربط پیدا کند.
- ✓ موتیف $m$ با تکرار و بکاربردن عمل تقارن $\hat{O}$ به موتیف $m'$ ارتباط پیدا میکند:

$$\hat{O}(m)=m'$$







- ✓ **عنصر تقارنی:** نقطه، خط یا صفحه ای که از مرکز موتیف ها می گذرد.
- ❑ طبق تعریف تقارن ، موتیف هایی که بوسیله روابط تقارنی یکسان به هم ربط پیدا میکنند در یک گروه نقطه ای یکسان قرار میگیرند.

چند نمونه ازانواع تقارن:

- ✓ **تقارن نقطه ای**
- ✓ **تقارن آینه ای**
- ✓ **تقارن چرخشی**
- ✓ **تقارن پیچشی**

- ✓ **تقارن نقطه ای:** بیولوژی و ملکولی

( بنظر میرسد حتی ارگانیسمهای چند سلولی ساده نیز دارای تمام اشکال تقارنی ممکن باشند)

- ✓ **تقارن آینه ای:** موتیف را در دو جهت مخالف یک خط یا صفحه مقسم مرتبط میکند

( هم ارگانیسمهای ساده و هم پیشرفته تقارن آینه ای را حتی بصورت ظاهری نشان میدهند)

- ❑ استریوایزومرها در مونومرهای کایرال دارای تقارن آینه ای هستند.
- ✓ **تقارن چرخشی:** تقارن حول یک نقطه یا محور تقارن چرخشی است.در این مورد معکوس شدن موتیف رخ نمیدهد بلکه یک تجدید جهت یابی حول مرکز جرم است.
- ❑ برای زاویه چرخشی $\theta$ گفته میشود تقارن از مرتبه n است، به صورتی که n تعداد دفعات انجام عمل چرخشی حول محور است $(n=360/\theta)$

*** عناصر تقارنی چندگانه ممکن است برای سطوح بالاتر تقارنی بین موتیفها بکار رود.

*** در درشت ملکولهای زیستی مجموعه ای از عناصر تقارنی چندگانه، زیر واحدهای یکسان را که در سطوح ساختار چهارم قرار دارند بهم مربوط می کنند.

✓ **تقارن پیچشی:** در این تقارن یک عنصر تقارنی انتقالی تعریف میشود.

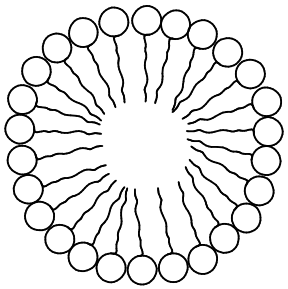
- انتقال : یک موتیف را از نقطه ای به نقطه دیگر منتقل میکند، بدون اینکه جهت گیری آن را تغییر دهد.
- تقارن پیچشی برای ساختارهای پیچی درشت ملکولها بکار میرود.
- اگر جزء چرخش عمل تقارنی n بار تکرار شود تا یک چرخش کامل از مارپیچ بوجود آید، مارپیچ دارای تقارن مرتبه n است.
- ساختار مارپیچی معین کننده ساختار دوم درشت ملکولها را شرح میدهد.

# محیط سلول

- ساختار درشت ملکولها شدیدا تحت تاثیر محیط اطراف آن قرار میگیرد.
- برای بیوبسپارها ، حلال درون سلول محیط محسوب میشود.
- چون بطور نوعی ۷۰٪ جرم سلول مربوط به آب است ، اینطور بنظر میرسد که میتوان سیستمهای بیولوژیکی را به عنوان محلولهای آبی بحساب آورد.

- ملکولهای دارای هر دو گروه آبدوست و آبگریز، ( آمفیپاتیک) نامیده میشوند که دارای یک دنباله قطبی بوده که در حلالهای آلی حل میشود و یک دنباله هیدروکربنی که در حلالهای آبی حل میشود.
- پروتئینها و اسیدهای نوکلئیک آمفیپاتیک هستند.پروتئینها دارای اسید آمینه های قطبی و غیر قطبی میباشند در صورتیکه اسیدهای نوکلئیک ترکیبی از بازهای آبگریز و فسفاتهای با بار منفی هستند.

- در محلول آبی این بیوبسپارها تا خورده و ساختاری شبیه میسل به خود میگیرند. باقیمانده های آبدوست با آب واکنش میدهند و باقیمانده های آبگریز از آب دور میشوند، این اساس اثر هیدروفوبی است که باعث تاخوردگی درشت ملکولها در محیط آبی میشود.



## ساختارهای طبیعی و غیرطبیعی شده

- ✓ برای توصیف ساختارهای طبیعی چند تعریف مورد استفاده قرار میگیرد:
  - ❖ ساختاری از ماکروملکول که در طبیعت وجود دارد.
  - ❖ ساختاری از ماکروملکول استخراج شده اگر فعالیت بیولوژیکی خود را حفظ کند.
  - ❖ شکلی از ماکروملکول که فاقد فعالیت بیولوژیکی است ولی ساختار دوم خود را حفظ کرده است.

- ✓ ساختار غیرطبیعی به ساختاری گفته میشود که ساختار دوم آن در مقایسه با شکل طبیعی کمتر است.

در پروتئینها از ساختار راندوم کویل به عنوان حالت غیرطبیعی نام برده میشود و برای DNA دو رشته ای، حالت غیرطبیعی زمانی است که DNA تک رشته ای شود.

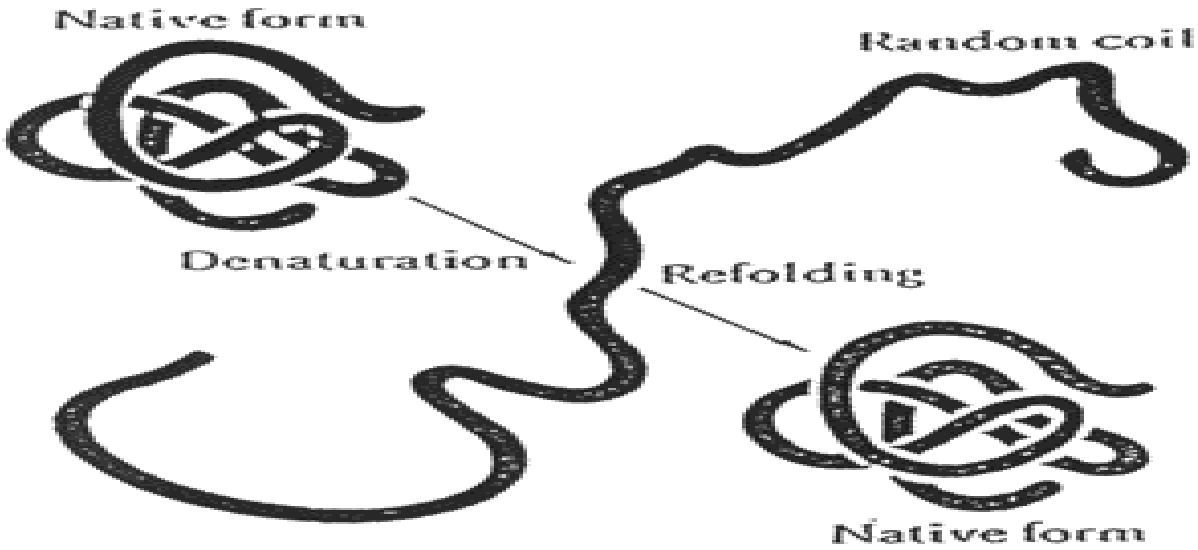
- ✓ **در تغییر ساختار ماکروملکولها اگر بعضی از ساختارهای طبیعی ملکول حفظ شده باشد ، ساختار جدید را غیرطبیعی شده جزئی می نامند.**

- ✓ **انتقال یک ساختار به ساختار نامنظم را در ماکروملکولها ، انتقال هلیکس به کویل می گویند حتی اگر ساختار طبیعی مارپیچ نباشد.انتقال هلیکس به کویل معمولا به وسیله تغییر در بعضی از خواص فیزیکی نظیر ویسکوزیته ذاتی ، دانسیته نوری ، ضریب ته نشین سازی و... همراه است.**

- معرفهای معمولی که برای غیرطبیعی کردن ماکروملکولها یا انتقال هلیکس به کویل مورد استفاده قرار میگیرند عبارتند از: pH، دما ، نمک غلیظ ، غیرطبیعی کننده های شیمیایی نظیر اوره ، گوانیدین هیدروکلراید ، SDS ، DTAB ، برای پروتئین ها و فرم آمید، فرم آلدئید و اتیلن گلایکول برای اسیدهای نوکلئیک.

- یکی از روشهای بررسی غیرطبیعی شدن ماکروملکولها، بررسی حرکت ماکروملکول روی ژل الکتروفورز است.زیرا هرچه ساختار پروتئین بازتر باشد حرکت آن روی ژل کندتر است.

- هنگامیکه ماکروملکول از شکل طبیعی به غیرطبیعی تغییر میکند، پارامترهای مختلفی نظیر فعالیت نوری، جذب و ویسکوزیته آن دچار تغییر میشود.



## رابطه میان ساختمان و عملکرد ماکروملکولهای زیستی

- **اصلی ترین دلیل مطالعه ساختمان یک ماکروملکول، درک عملکرد بیولوژیک آن است.**

- بسته به اینکه عمل یک ماکروملکول چه باشد ، ساختار خاص خود را نیاز دارد.مثلا بعضی از ماکروملکولها که در بافت اسکلتی حضور دارند، باید ساختار میله ای شکل سخت داشته باشند (نظیر کلاژن که پروتئین تشکیل دهنده تاندوم است).ماکروملکولهایی که برای انجام وظایف خود بایستی حرکت نمایند، شکل گلبولی یا کروی دارند نظیر هموگلوبین و آلبومین.

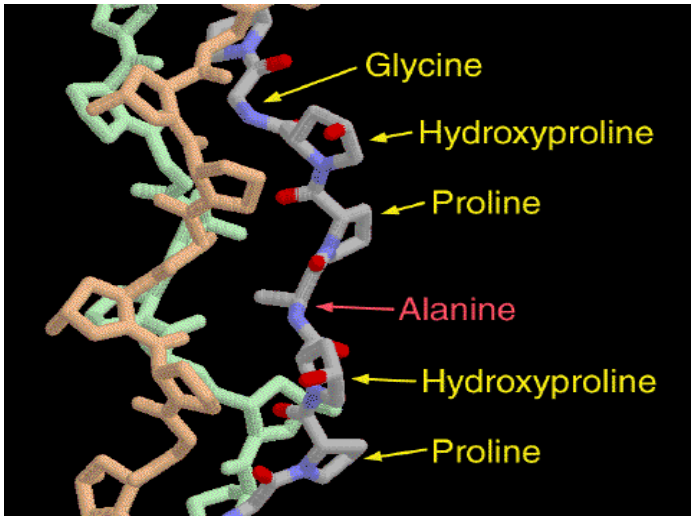
- از نظر انعطاف پذیری، ملکولی نظیر DNA نسبتا سخت است در حالیکه آلبومین سرم که وظیفه حمل اسیدهای چرب و بعضی یونهای فلزی را عهده دار است ، انعطاف پذیر است.

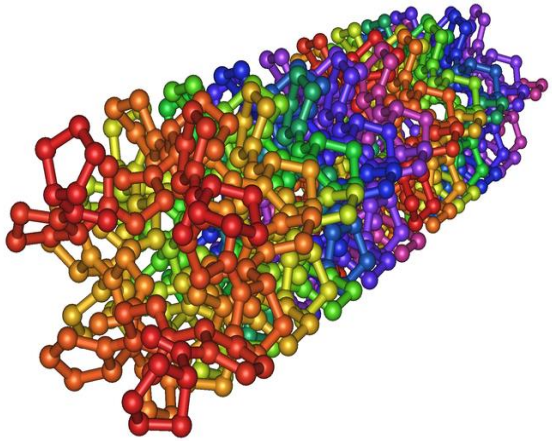
- آنزیمها برای انجام فعالیت کاتالیتیکی خود دارای جایگاه فعال هستند (جایگاه فعال بخشی از ساختار است که پذیرای ملکول سوبسترا بوده و واکنش آنزیمی در آنجا انجام میشود). هر آنزیم سوبسترای اختصاصی دارد.جایگاه فعال هر آنزیم از نظر اندازه، شکل و ماهیت با سوبسترایش هماهنگی دارد.

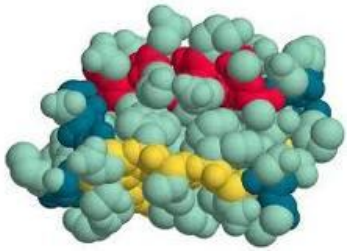
- پروتئین کلاژن یک مثال مناسب برای توصیف رابطه میان ساختار و عملکرد است.

- **وظیفه کلاژن در تاندوم فراهم کردن توان کششی لازم در طول فیبر است**.کلاژن دارای تعداد زیادی اسید آمینه پرولین است.این آمینو اسید فاقد گروه α–آمین نرمال بوده و پیوند پپتیدی خاصی را شکل میدهد.پیوند پپتیدی شکل گرفته از این اسید آمینه انعطاف پذیری کمتری نسبت به سایرین دارد.پیوندهای هیدروژنی بین زنجیری و درون زنجیری باعث نگهداری زنجیرهای منفرد کنار یکدیگر شده و در نتیجه یک مارپیچ سه رشته ای را شکل میدهد که سه رشته ای بودن آن نیروی کششی متناسب با نقش آن را تامین میکند.برای ایجاد یک فیبر طولی ، جمع شدن پهلو به پهلوی زنجیر باید صورت گیرد.قدرت نهایی فیبر توسط اصلاح شیمیایی پرولین و لیزین و تبدیل آنها به هیدروکسی پرولین و هیدروکسی لیزین تامین میشود.این اسیدهای آمینه هیدروکسیله شده میتوانند عامل ایجاد اتصالات عرضی یک رشته با رشته دیگر باشند.

- **تغییر در ساختار ماکروملکولهای حیاتی ، تغییر در عملکرد آنها را در پی دارد**.این تغییر میتواند توسط عوامل مختلفی نظیر **پیوند لیگاند به ماکروملکول** ، **درجه حرارت**، **تغییر** pH **و قدرت یونی** محیط صورت گیرد.

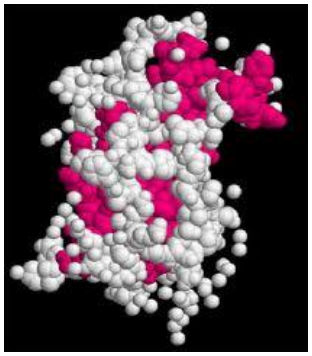




## ساختار پروتئینها:

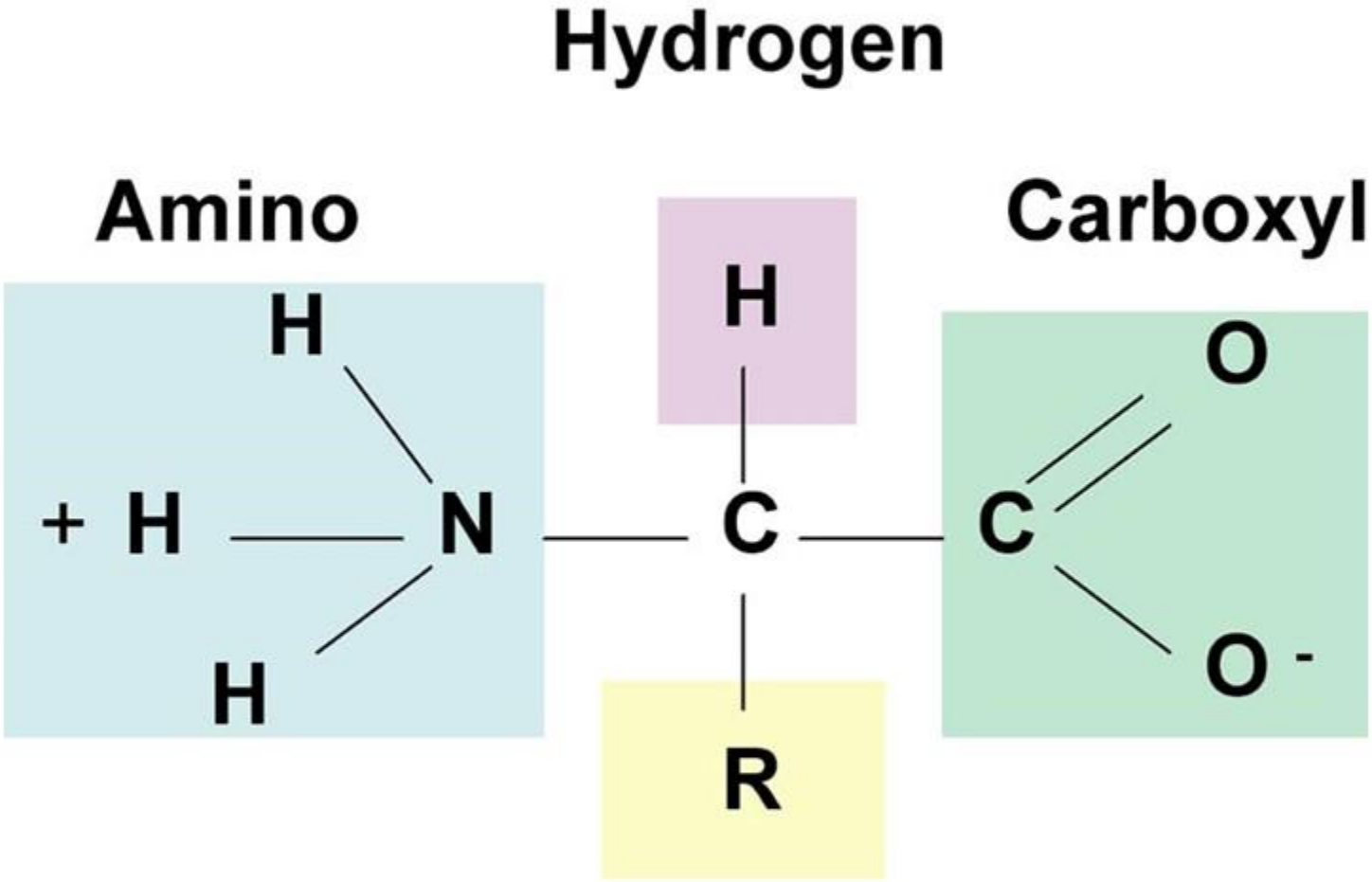
- ✓ پروتئینها از پلی پپتیدها تشکیل شده اند.
- ✓ چرا از شرح ساختار پروتئینها شروع میکنیم؟ زیرا ساختارهای پروتئین تمام سطوح ساختاری درشت ملکولها را نشان میدهند.
- ✓ خواص پروتئین تا حد زیادی به محیط شیمیایی بستگی دارد، لذا انواع مختلفی از پروتئینها وجود دارند.پروتئینهای کروی محلول در آب، پروتئینهای رشته ای نامحلول در آب و ...
- ✓ هریک از این پروتئینها توسط ترکیب و توالی اسیدهای آمینه مشخص میشوند.

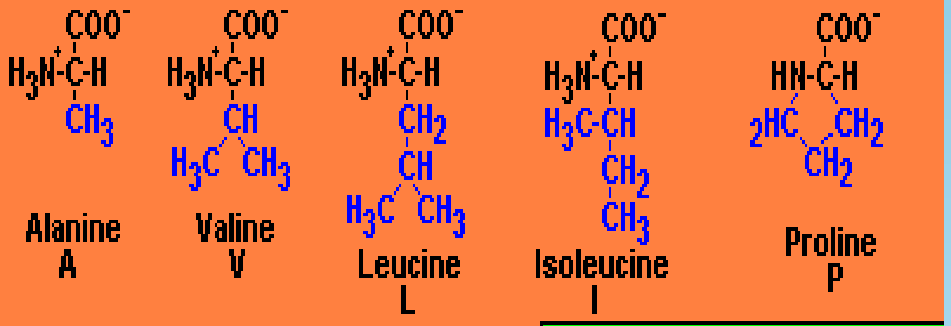


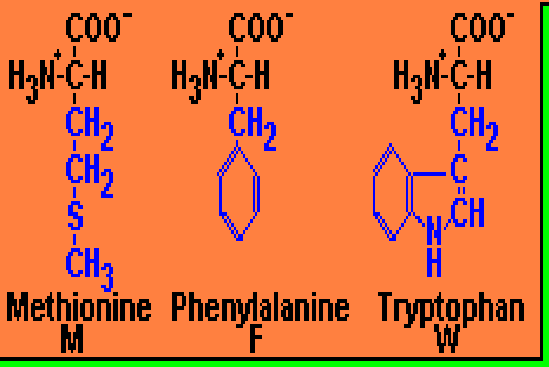
## اسیدهای آمینه:

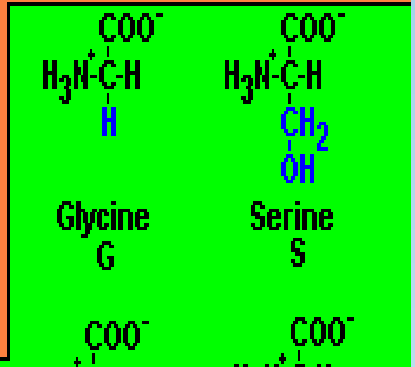
- ✓ پروتئینها از اسیدهای آمینه تشکیل شده اند.
- ✓ برای تمام ارگانیسمهای زنده ۲۰ اسید آمینه شناخته شده اند.تمامی این اسیدهای آمینه از نوع **α**–آمینواسید هستند به این معنی که گروههای کربوکسیلیک اسید و آمینو توسط یک کربن مرکزی (کربن **α** ) از هم جدا شده اند.همچنین به کربن **α** ترکیبی به نام زنجیره کناری(که با حرف R نشان داده میشود) و یک ملکول هیدروژن متصل شده است.
- ✓ همه اسیدهای آمینه بجز گلایسین کایرال بوده و ساختار L دارد.
- ✓ اسیدهای آمینه بوسیله شیمی زنجیره جانبی که به کربن **α** متصل شده است از هم متمایز میشوند.

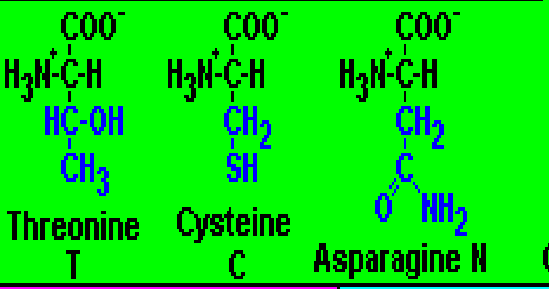
# Amino Acid Structure

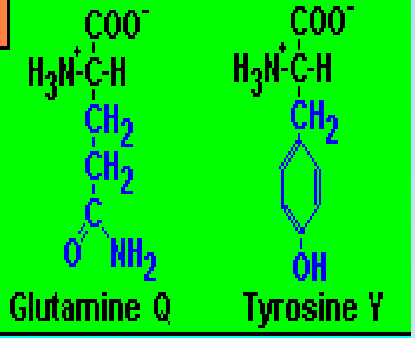


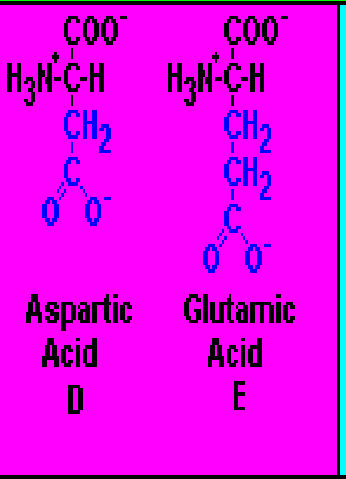

Alanine
A
Valine
V
Leucine
L
Isoleucine
I
Proline
P

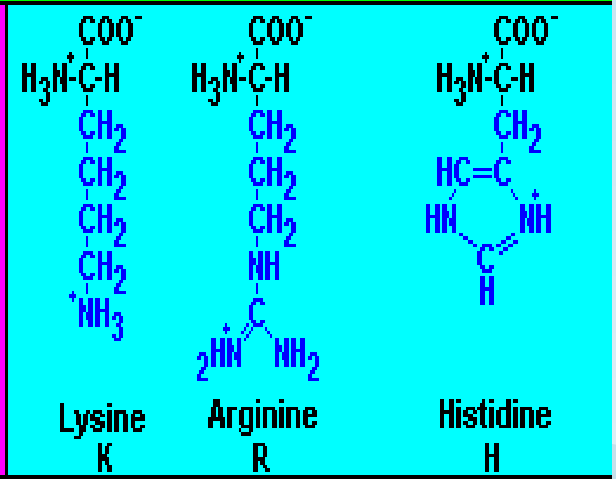

Methionine
M
Phenylalanine
F
Tryptophan
W

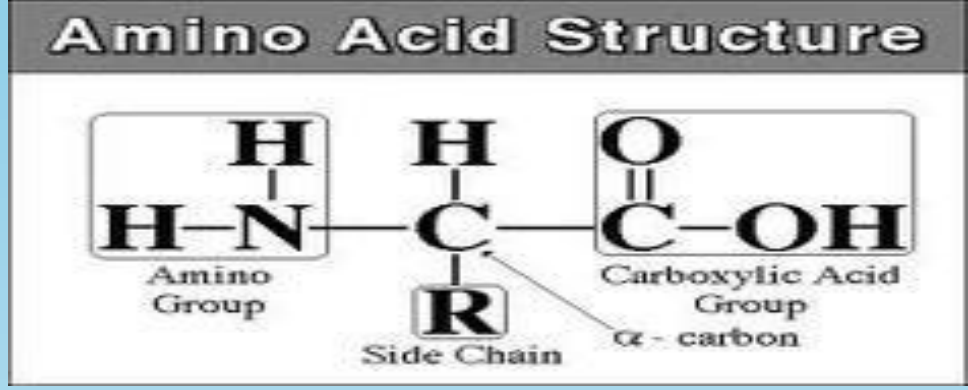

Glycine
G
Serine
S

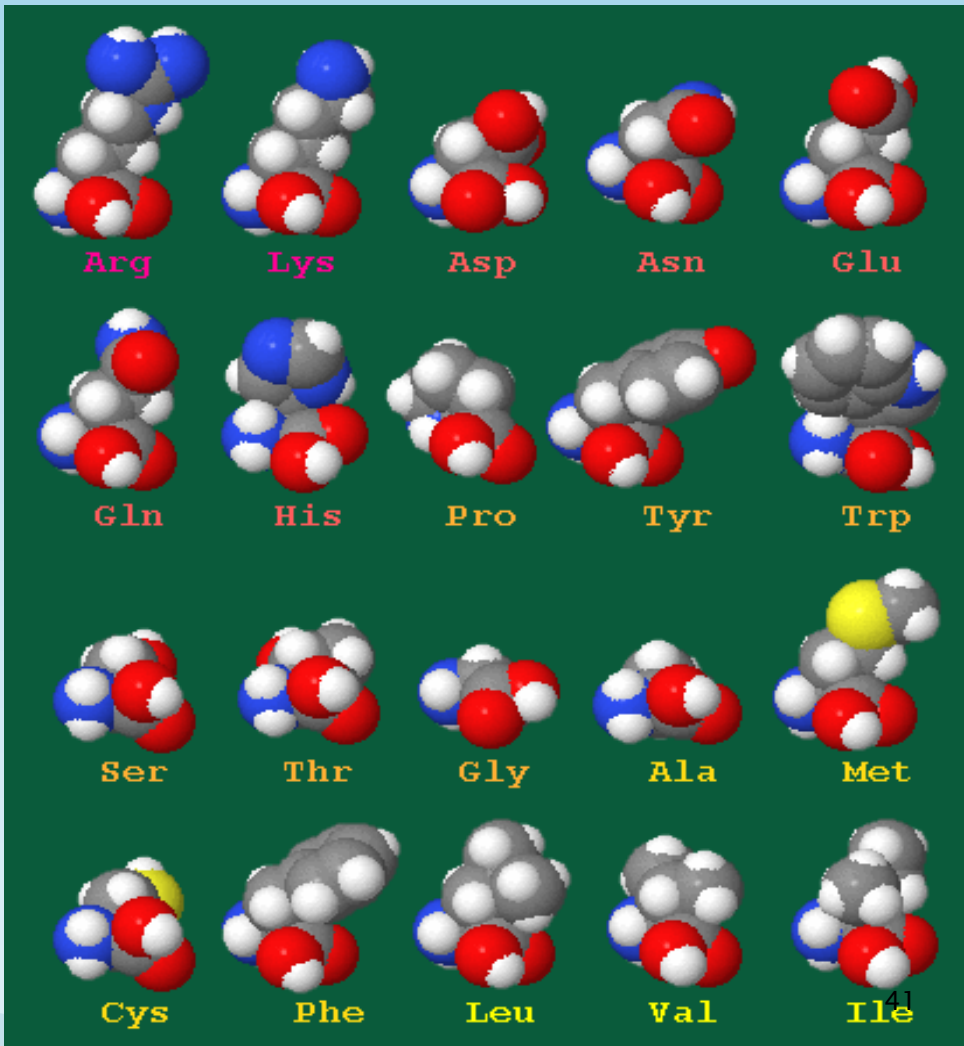

Threonine
T
Cysteine
C
Asparagine N


Glutamine Q
Tyrosine Y


Aspartic
Acid
D
Glutamic
Acid
E


Lysine
K
Arginine
R
Histidine
H


Amino Acid Structure
Amino
Group
Side Chain
Carboxylic Acid
Group
α - carbon


Arg
Lys
Asp
Asn
Glu
Gln
His
Pro
Tyr
Trp
Ser
Thr
Gly
Ala
Met
Cys
Phe
Leu
Val
Ile

- اسیدهای آمینه فقط در پروتئینها نیستند. مثلا در ضد ویروسهای والینومایسین و گرامیسیدین که توسط باکتریها تولید میشوند، اسید آمینه نوع D دیده شده است.

**استرئوشیمی اسیدهای آمینه هم برای ساختمان و هم برای عمل پروتئین مهم است**

- اسیدهای آمینه آبدوست یا آبگریزند در حالیکه بسیاری از پروتئینها آمفیپاتیک هستند.
- اسیدهای آمینه میتوانند هم دارای گروه آبگریز و هم گروه آبدوست باشند.در اسیدهای آمینه هایی که دوست دارند از آب دور شوند و در قسمت درونی پروتئین کروی و یا داخل غشاء دو لایه قرار میگیرند، باقیمانده های آبدوست بصورت هیدراته باقی میمانند.
- **نحوه قرار گرفتن اسیدهای آمینه در حلالهای آبی و غیرآبی بر اساس اثر هیدروفوبی میباشد که این اثر موجب تاخوردگی پروتئین میگردد.**

## بررسی سهم هر اسید آمینه در اثر هیدروفوبی ( هیدروفوبیسته اسیدهای آمینه):

- ✓ برای بررسی سهم هر اسیدآمینه در اثر هیدروفوبی ، از توزیع ملکول بین آب و یک حلال آلی نظیر اکتانول استفاده میکنیم. برای اینکار اسید آمینه در سیستم دو حلال که با یک مرز جدا شده اند قرار میگیرد.
- ✓ هیدروفوبیسته اسیدآمینه بر حسب ضریب توزیع (P) بیان میشود:

$$P = \frac{Xaq}{Xnonaq}$$

- ❖ Xaq= کسر مولی در فاز آبی
- ❖ Xnonaq= کسر مولی در فاز آلی

- ❖ هیدروفوبیسته مثبت: زنجیره های جانبی غیرقطبی
- ❖ هیدروفوبیسته منفی: زنجیره های جانبی قطبی و باردار

- ✓ ضرائب هیدروفوبیسته برای بیان رفتار نسبی اسیدهای آمینه در پروتئین و اثر آنها بر پایداری ترمودینامیکی پروتئین مناسب است.

| اسید آمینه | هیدروفوبیسیته |
|---|---|
| Ile | 4.5 |
| Val | 4.2 |
| Leu | 3.8 |
| Phe | 2.8 |
| Cys | 2.5 |
| Met | 1.9 |
| Ala | 1.8 |
| Gly | -0.4 |
| Thr | -0.7 |

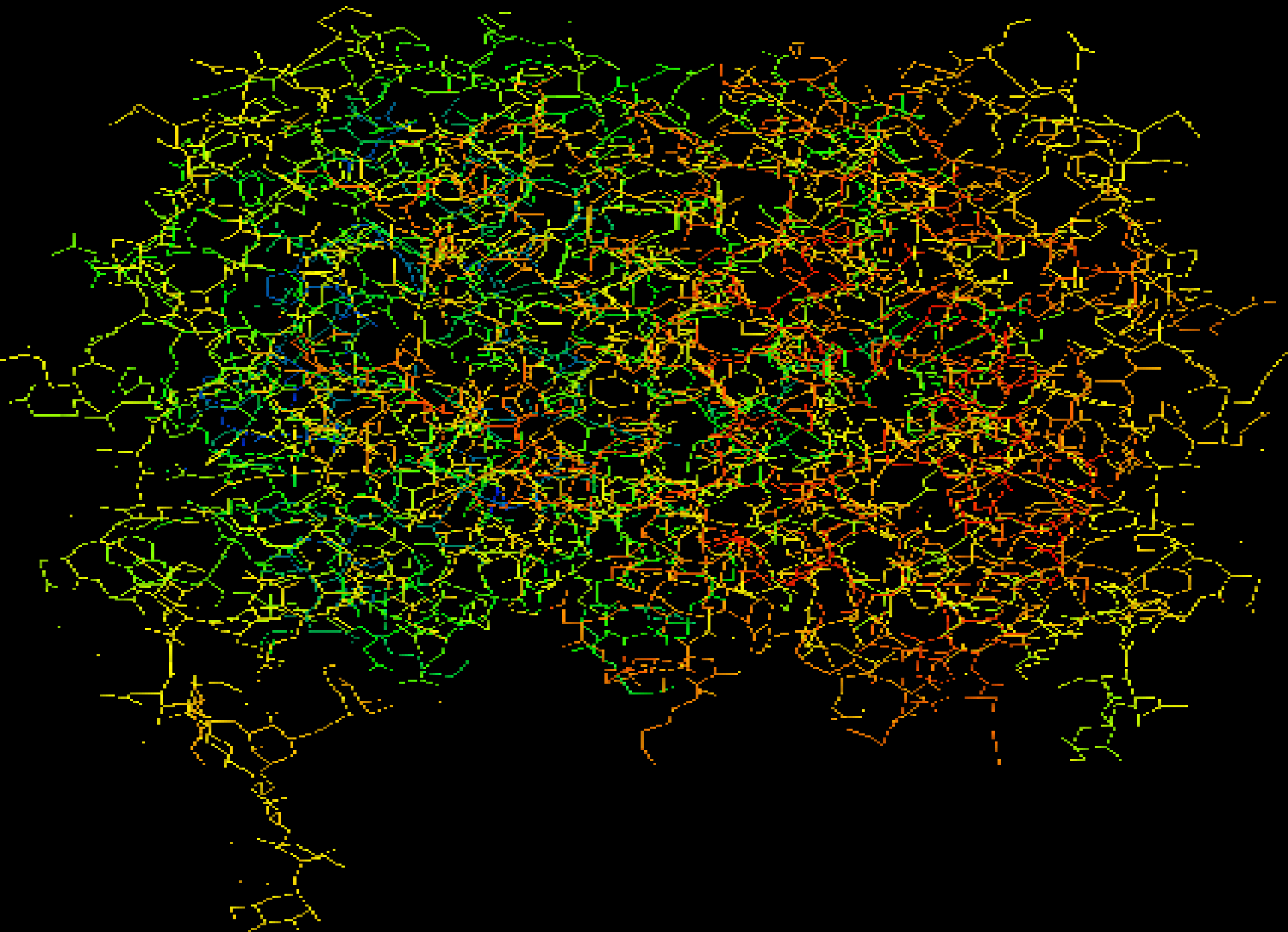
| اسید آمینه | هیدروفوبیسیته |
|---|---|
| Ser | -0.8 |
| Trp | -0.9 |
| Tyr | -1.3 |
| Pro | -1.6 |
| His | -3.2 |
| Asn | -3.5 |
| Gln | -3.5 |
| Asp | -3.5 |
| Glu | -3.5 |
| Lys | -3.9 |
| Arg | -4.5 |


45

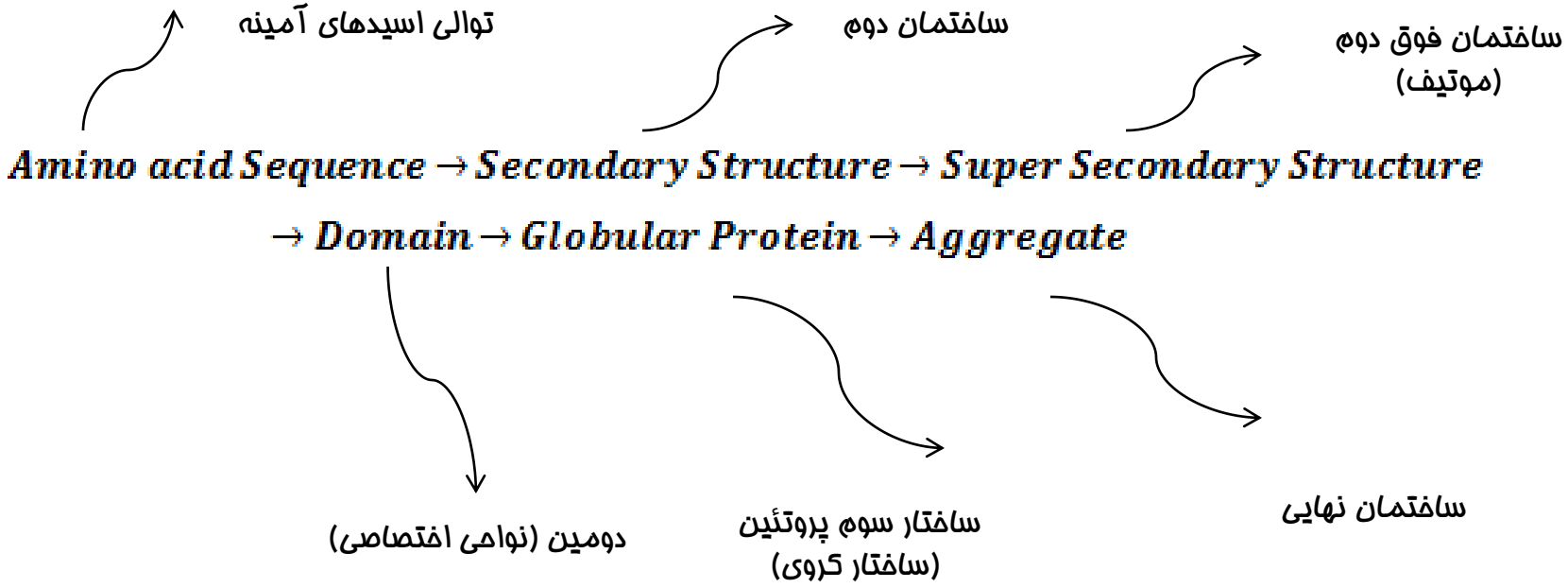
- اسیدهای آمینه آبگریز (هیدروفوب) دارای زنجیره جانبی آلکیل یا آروماتیک هستند.زنجیره های جانبی آروماتیک حجیم بوده لذا با سایر زنجیره های جانبی اندرکنش میدهد و باعث میشود که صفحات حلقه ها نسبت بهم عمود قرار گیرند.
- این جهت گیری گروههای آروماتیک شبیه آرایش عمودی ملکولهای بنزن در محلول است، لذا این آرایش ملکولهای آروماتیک از نظر آنتروپی مطلوب است.
- در مقابل بازهای نوکلئوفیل در ساختارهای DNA، RNA برای کاهش حضورشان در حلال یک توده موازی تشکیل میدهند که به نسبت آرایش عمودی توسط حلقه های آروماتیک ترجیح داده میشود زیرا لازم نیست تماس سطح خود با آب را به حداقل برسانند.
- زنجیره جانبی اسیدهای آمینه آبگریز ممکن است قطبی باشد و یا اینکه تحت pHs ، pH فیزیولوژی، باردار نیز باشد. اسیدهای آمینه باردار شامل آسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید و اسید آمینه های اسیدی و بازی نظیر هیستیدین ، لیزین و آرژینین میباشند. **بار کلی پروتئین به تعداد اسید آمینه اسیدی و بازی باردار در یک pH بخصوص بستگی دارد.**
- pH که در آن بار کلی پروتئین صفر است (تمام بارهای منفی با مثبت موازنه اند) ،نقطه ایزوالکتریک ( pI ) نامیده میشود.
- دانسیته بار پروتئین ( ρc) بصورت نسبت بار پروتئین در هر pH به وزن ملکولی پروتئین تعریف میشود:

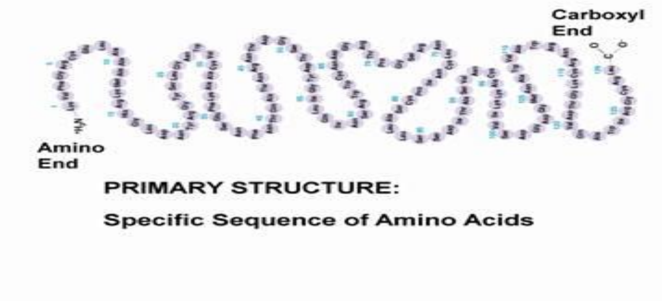
$$\rho_c = \frac{(pI - pH)}{MW}$$

- این رابطه تقریبی بوده و اثر یون مخالف در بار خالص ملکول را توجیح نمیکند.



- اختلاف در طول و توالی آمینواسیدها و پروتئین هاست که امکان تشخیص یک پروتئین از دیگری و تنوع ساختمان و عملکرد آنها را بوجود آورده است.
- اولین شمای سازمان یافته ساختمان پروتئینها توسط lang lindstrom به شکل زیر ارائه گردید:






# ساختمان اول پروتئین( توالی انحصاری پروتئین)

- به توالی خطی اسیدهای آمینه ساختار اول پروتئین گفته میشود.

- توالی یک پروتئین، اتصال کووالانسی اسیدهای آمینه توسط پیوندهای پپتیدی است.

- **توجه به تنوع پروتئینها در سلول جالب است.این سئوال مطرح میشود که چند توالی میتواند با استفاده از ترکیب یکسان واحدهای سازنده بوجود آید؟ به عنوان مثال با داشتن ۲۰ اسید آمینه شناخته شده چند تری پپتید میتوان ساخت؟**

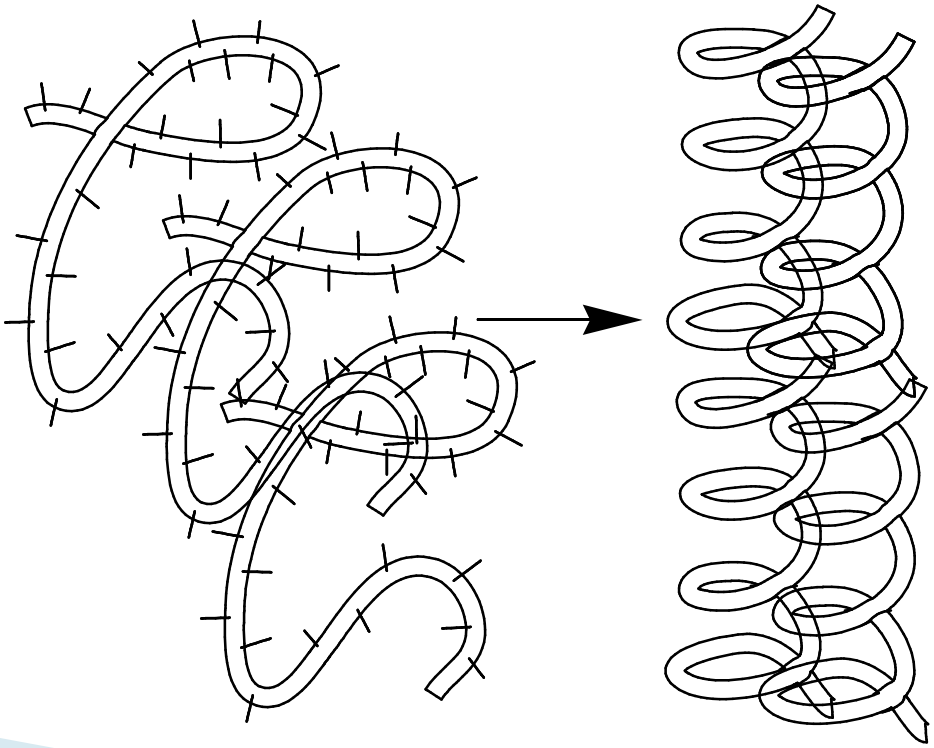
- **ساختار اول یک پروتئین هویت آن را تعیین میکند.** بدن انسان دارای چندین هزار نوع پروتئین مانند هموگلوبین(ناقل اکسیژن در خون)، تریپسین(آنزیم تجزیه گر پروتئینها که بوسیله لوزالمعده تولید میشود) و غیره است.

- ساختار اول پروتئینهای مختلف با یکدیگر فرق میکند. در کل دو ملکول با توالی همولوگ (همانند)، توالی ساختار مستقیم و سه بعدی، بسیار شبیه بهم میباشند. **اما نیازی نیست ملکولهایی با ساختار مشابه ، توالی همولوگ داشته باشند.** به عنوان مثال نوکلئوپروتئین $H_5$ و فاکتور رونویسی کننده یوکاریوتی پروتئین (HNF-3/for- k. head) در ساختار شبیه میباشند با اینکه تنها ۹ اسید آمینه از ۷۲ اسید آمینه آنها مشترک است. از سوی دیگر همه ملکولهای یک نوع پروتئین معین دارای ساختار اول یکسانی هستند؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟؟

- **ساختار اول یک پروتئین چگونگی تاخوردگی زنجیره آن را تعیین میکند، در نتیجه ساختارهای دوم، سوم و چهارم یک پروتئین به ساختار اول آن بستگی دارد.**

# مهندسی تاخوردگی(Folding Engineering)

- یکی از اشکالاتی که در پیش بینی ساختمان پروتئینها و یا در طراحی پروتئینهای جدید وجود دارد این است که قواعد حاکم بر تاخوردگی آنها به خوبی درک نشده است.
- این مشکل با در نظر گرفتن اینکه دو پروتئین با اختلاف ۷۰ درصد در توالی ، دارای ساختار سه بعدی یکسان میباشند پیچیده تر میشود.
- مهندسان ادعا کرده اند که بدون اینکه بیش از ۵۰٪ از توالیها را تصحیح کنند ، پروتئینی با تاخوردگی کاملا متفاوت تهیه کرده اند.

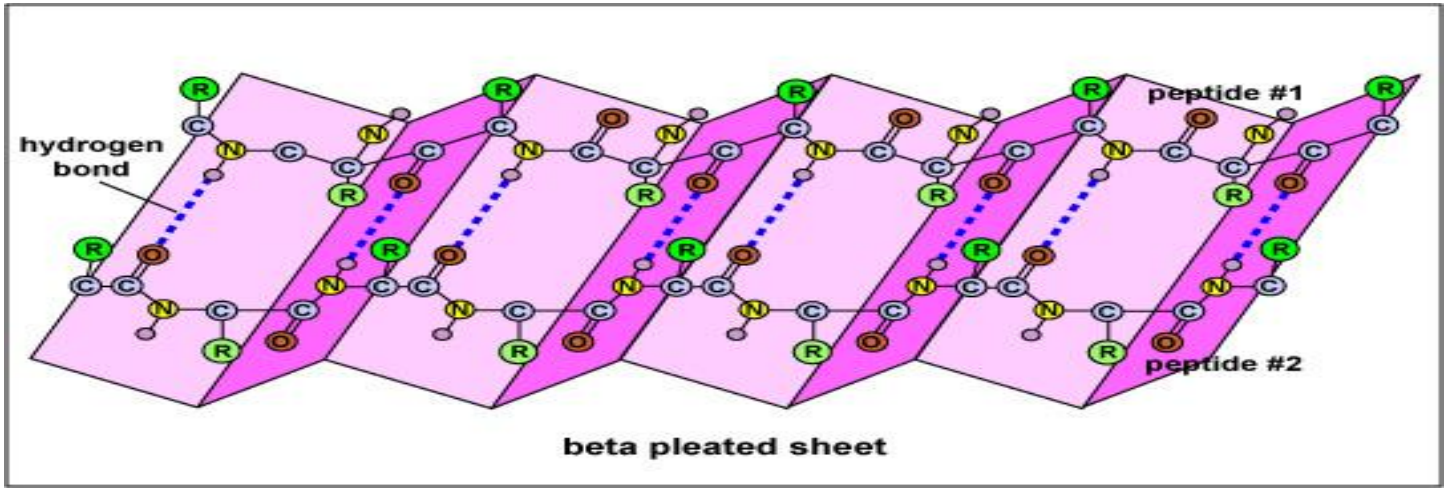


# ساختار دوم پروتئین Secondary Structure

- ✓ نظم و ساختار تکراری پلی پپتیدها ساختار دوم را تشکیل میدهد.
- ✓ ساختار دوم پروتئینها ، مارپیچهایی که توسط زنجیره های پلی پپتیدی ساخته شده اند را شرح میدهد.
- ✓ این ساختار شامل مارپیچهای آلفا هلیکس ، صفحات بتا و پیچه های کوچک ( turnes ) میباشد.
- ✓ اگر زنجیره پلی پپتیدی حول هر کربن α به یک اندازه چرخش داشته باشد، اسکلت پلی پپتیدی بصورت مارپیچ درخواهد آمد. **معمولترین نوع مارپیچی که در پلی پپتیدها یافت میشود به مارپیچ α موسوم است.**
- ✓ مارپیچ α از یک مارپیچ منظم راستگرد تشکیل شده است که در آن گروه NH هر پیوند پپتیدی با چهارمین گروه CO زنجیره پلی پپتیدی پیوند هیدروژنی برقرار میکند.
- ✓ در یک مارپیچ آلفا ، تمام گروههای CO و NH پیوند پپتیدی، پیوند هیدروژنی تشکیل میدهند و این پیوندها نسبت به محور مارپیچ موازی قرار گرفته اند.اسکلت پلی پپتید بخش مرکزی مارپیچ را تشکیل میدهد و زنجیره های جانبی به سمت خارج متوجه بوده و بدین ترتیب سطح مارپیچ را میپوشانند. بنابراین شکل سطح مارپیچ به نوع و ردیف اسیدهای آمینه ساختار اول بستگی دارد.
- ✓ **ممانعت فضایی بین زنجیره های جانبی حجیم و دافعه الکتریکی بین گروههای جانبی هم بار سبب پایان یافتن مارپیچ میشود.**

- ✓ ساختار دوم دیگری که در پروتئینها مشاهده میشود، صفحه چین دار β است.
- ✓ دورهای بتا نوعی ساختار دوم هستند که در آنها گروه CO یک اسید آمینه با سومین NH زنجیره پلی پپتیدی پیوند هیدروژنی برقرار میکنند.
- ✓ در این شکل فضایی ، زنجیره پلی پپتیدی تقریبا بطور کامل باز شده است.گروههای جانبی اسیدهای آمینه متوالی در دو جهت مخالف یکدیگر به اسکلت پلی پپتیدی متصل شده اند.

secondary structure
(α-helix)

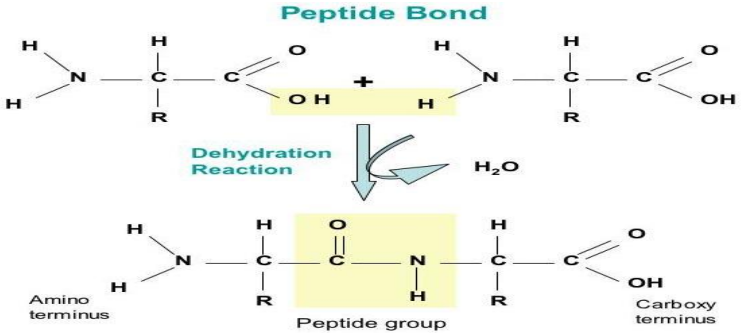


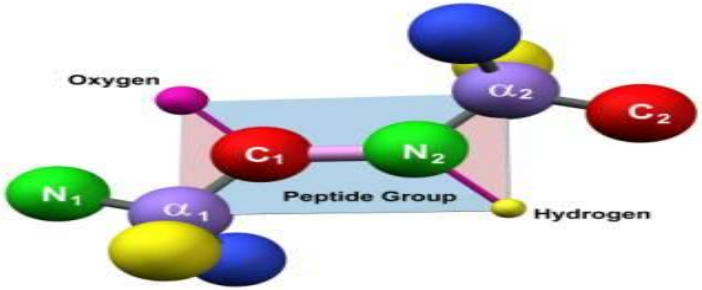

beta pleated sheet

- ✓ هنگامیکه دو یا چند قطعه پلی پپتیدی در کنار یکدیگر قرار گیرند بطوریکه امکان ایجاد پیوند هیدروژنی بین زنجیره های مجاور بوجود آید، ساختار دوم صفحه چین دار بتا بوجود می آید.

## ❖ اثر پیوند پپتیدی بر صورتبندیهای پروتئین

- ✓ **ساختمان پیوند پپتیدی، صورتبندیهای ممکن را برای پروتئین محدود میکند** زیرا پیوندهای با چرخش آزادانه در اسکلت پلی پپتیدی به دلیل خصلت دوگانه جزئی C-N محدود هستند.




- ✓ پیوند پپتیدی میتواند هم صورتبندی سیس و هم ترانس داشته باشد که شبیه سیس و ترانس دی کلرواتیلن است.

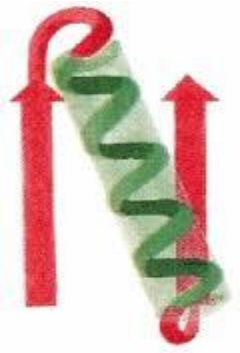
- ✓ **صورتبندی سیس عموما نامطلوب است زیرا برخورد بین زنجیره های مجاور باقیمانده ها وجود دارد.پرولین یک استثناء است و دو ساختار هندسی آن تقریبا هم انرژی هستند، با این حال فرم ترانس تحت شرایط بیولوژیکی کمی مطلوبتر است.**

## ساختمان فوق دوم (موتیف) در پروتئینها Super Secondary Structure

- ✓ اغلب المانهای ساختار دوم که شامل آلفا هلیکس ها ، صفحات بتا و پیچه های کوچک هستند، با نسبتهای گوناگون در پروتئینهای کروی با یکدیگر ترکیب میشوند.

- ❖ مثال: هموگلوبین و میوگلوبین ( ساختمان دوم شامل درصد زیادی آلفا هلیکس)
- ❖ مثال: پروتئین Concanavalin A (ساختمان دوم شامل درصد زیادی از صفحات بتا)
- ❖ مثال: پروتئین تریوز فسفات ایزومراز و کربوکسی پپتیداز A (ساختمان دوم شامل درصد زیادی آلفا هلیکس و ساختار بتا- حدودا ۳۱ ٪ آلفا هلیکس و ۲۸٪ از ساختار بتا)

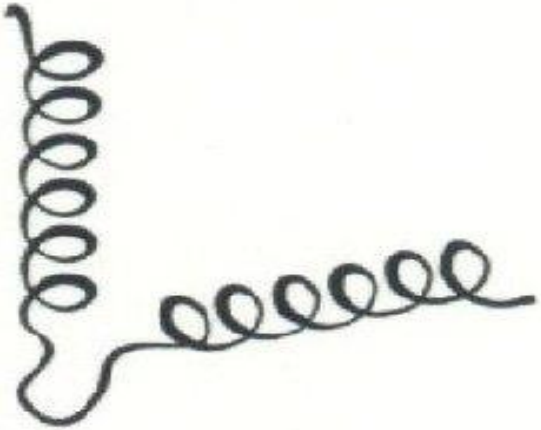
**به مجموعه زیرساختارها یا کلافهای گروهی مکرر حاصل از المانهای ساختمان دوم، موتیف یا ساختمان فوق دوم گفته میشود**



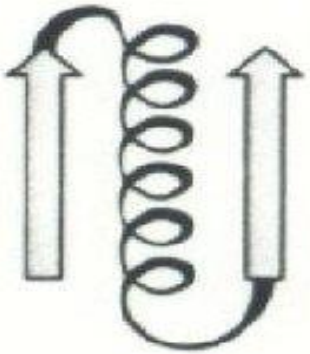
- ✓ موتیفها ترکیبی از ساختارهای آلفا و بتا هستند.
- ✓ متداولترین نوع موتیف ، نوع βαβ است.

نکته: موتیفهای پیچیده تر میتوانند از موتیفهای ساده بوجود آیند.

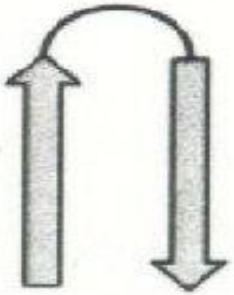
(a) Helix-loop-helix



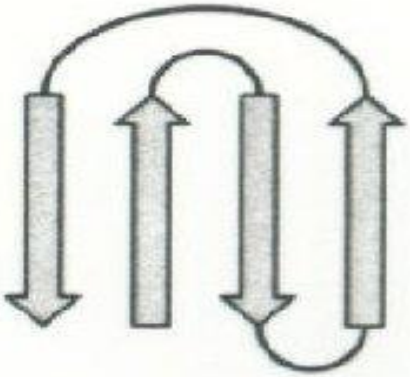
(b) βαβ unit



(c) Hairpin

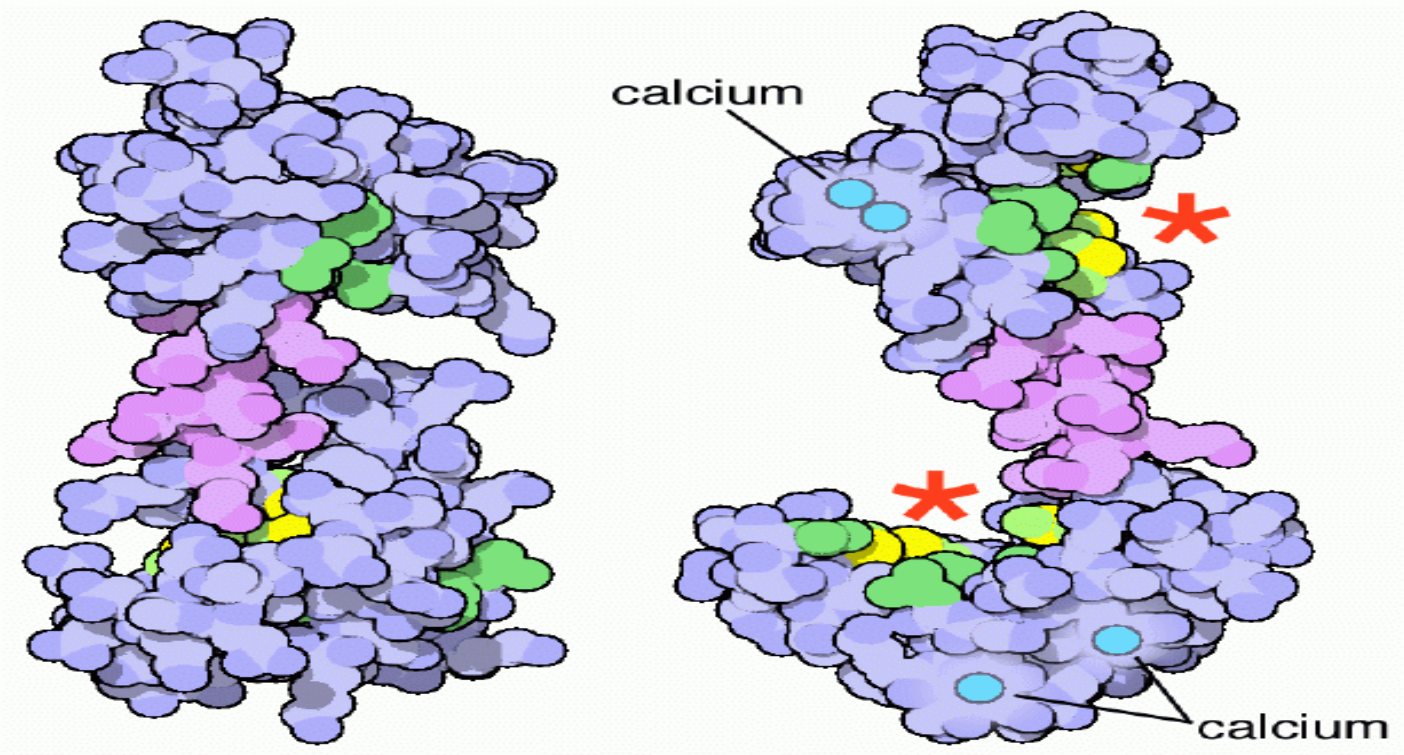


(d) Greek key



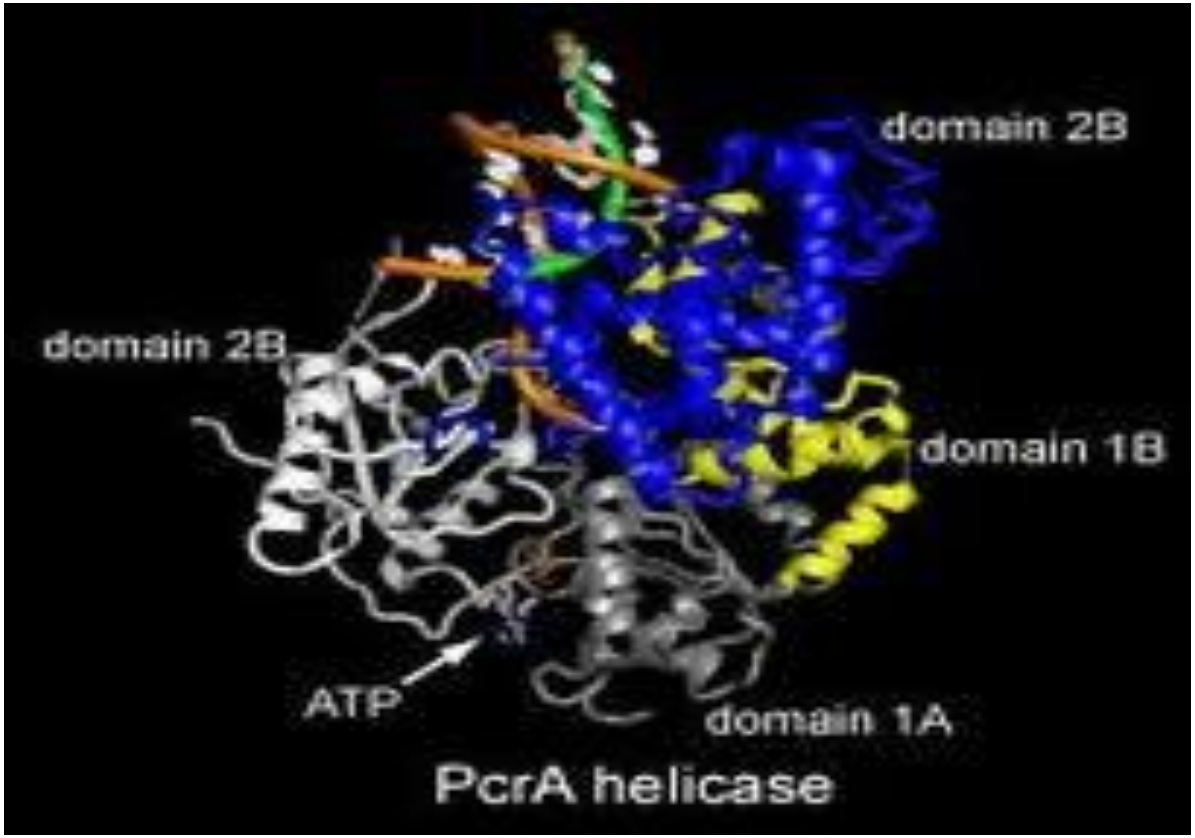
## دومین Domain

- یک زنجیره پلی پپتیدی میتواند به تعدادی ساختار مجزا و نواحی عاملی بزرگتر نسبت به ساختارهای فوق دوم تا بخورد که در این صورت به آن دومین می گویند.
- مثالی از دومینهای مشخص ⟵ بلور کالماژولین
- این پروتئین دارای دو دومین (کلسیم پیوندی) با پیوند کلسیم که به یک مارپیچ آلفا طویل متصل شده اند میباشد.



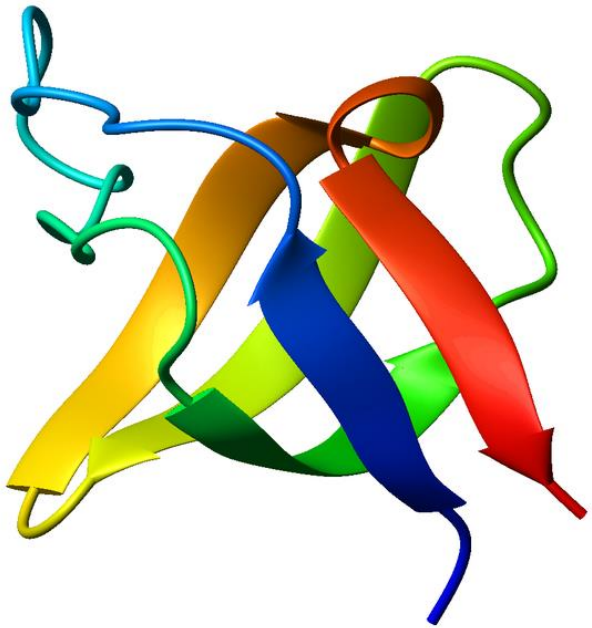
- فعالیت پروتئین توسط اتصال کلسیمی به همراه تغییر طول این مارپیچ که دو دومین را بهم وصل میکند ، تغییر میکند.

- دومینها با در نظر گرفتن ساختمانشان از نظر نوع عمل متمایز میشوند.بسیاری از آنزیمهای نظیرtRNA ، دومینهای با عملکرد مجزا برای سوبسترای پیوندی دارند و با سایر پروتئینها نیز اندرکنش میدهند.



- ✓ دومین بخشی از پروتئین است که نواحی کروی کاملا مشخص و مجزایی را بوجود میاورد.
- ✓ از تراکم دومین ها پروتئین بوجود می آید.
- ✓ دومین ها اغلب دارای عملکرد ویژه ای ( مانند اتصال به ملکولهای کوچک) هستند.

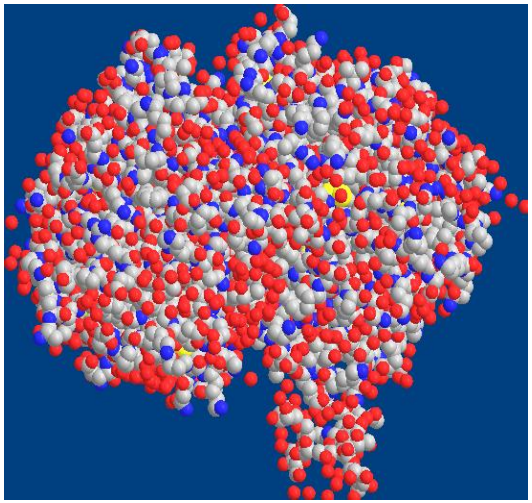
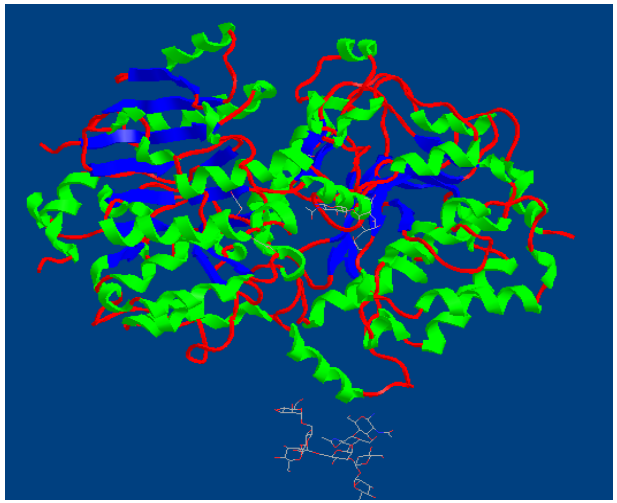
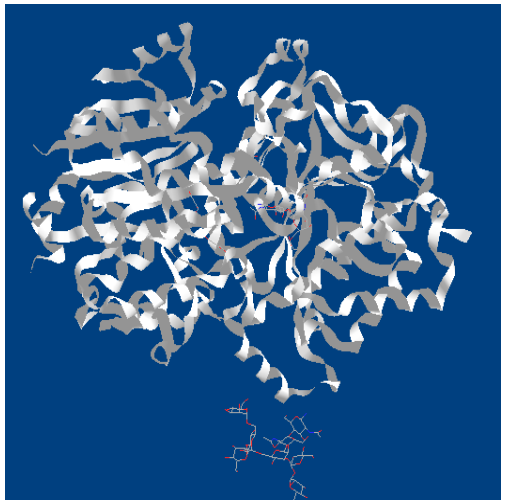
- ✓ **دومینها در تاکسونومی به چند دسته تقسیم میشوند:**
  - ❖ **آلفا دومین ها**
  - ❖ **بتا دومین ها**
  - ❖ **α /B دومین ها**
  - ❖ **α +B دومین ها**



# ساختار سوم پروتئین

## Globular Protein

- ساختار سوم یک پروتئین کروی ،صورتبندی نهایی سه بعدی یک زنجیره پلی پپتید است.چند روش برای نشان دادن این ساختار وجود دارد که در جزئیات با هم اختلاف دارند.

- **فعالیت بیولوژیک پروتئینها فقط در صورت داشتن ساختمان سوم امکانپذیر است.**

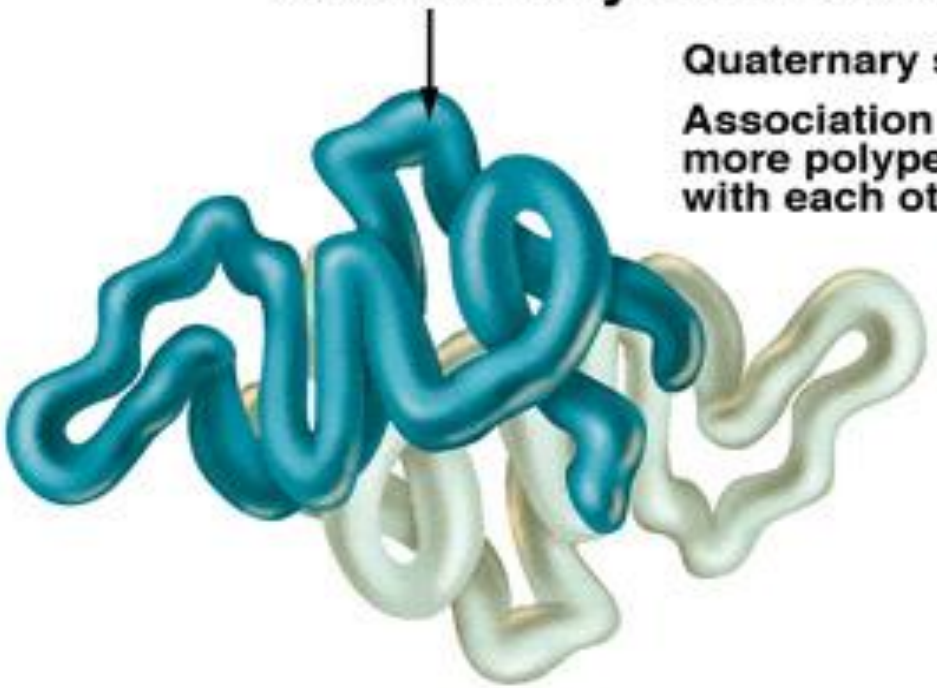
- ساختار اسیدهای آمینه توسط پراش اشعه X و طیف سنجی NMR تعیین میشود.سرانجام مدل ساده ای از مارپیچها که در اشکال بالا آورده شده است ارائه میشود.در ابتدا نیاز است که اسیدهای آمینه بصورت تاخورده یا بدون تا طراحی شوند تا این عمل ابزار تجزیه ای برای تحلیل ساختار پروتئین فراهم آورد.

- ساختار سوم پروتئین بر اثر تاخوردگی زنجیره پلی پپتیدی بوجود می آید.
- پروتئینها بتدریج دچار تاخوردگی شده و شکل طبیعی خود را بدست می آورند.بر اثر این تاخوردگی ، اسیدهای آمینه ای که در ساختار اول از یکدیگر دور بوده اند مجاور یکدیگر قرار میگیرند.
- بدین ترتیب ، ساختار سوم یک پروتئین از ناحیه هایی که دارای ساختار دوم آلفا و بتا هستندو همچنین ناحیه هایی که تاخوردگی نامنظم دارند تشکیل میشود.

# ساختار چهارم پروتئین Aggregate

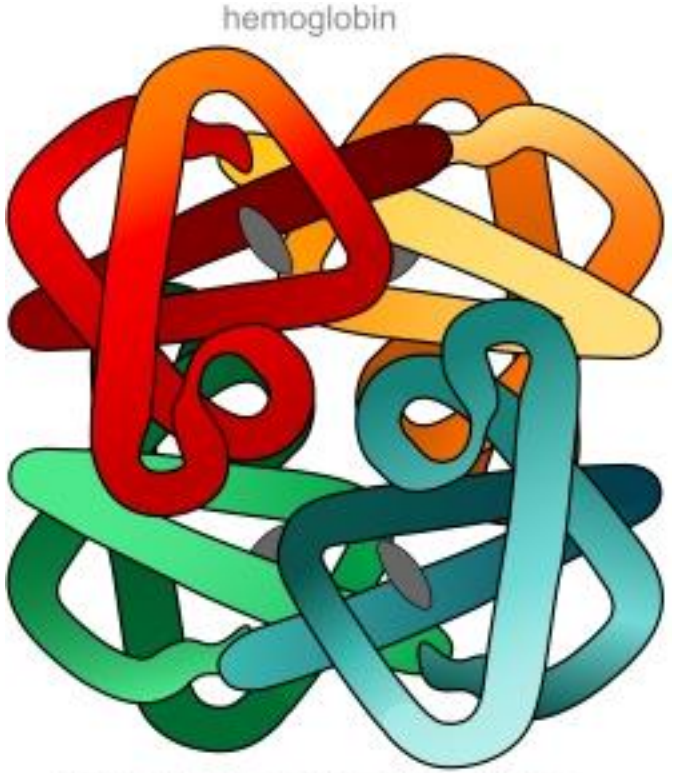
- ✓ **تجمع کووالانسی پلی پپتیدها** و تشکیل یک **کمپلکس چند واحدی** ساختار **چهارم پروتئین** را تعریف میکند.
- ✓ این سطح از ساختمان توسط انواع و تعداد زیر واحدی پلی پپتید توصیف میشود.به عنوان الگو در کمپلکس تشکیل شده توسط دو زیر واحد یکسان ، یک جور دیمر خواهیم داشت.
- ✓ از مقایسه هموگلوبین و میوگلوبین یک تصویر کلاسیک از ساختار چهارم میتوان بدست آورد.هردو ترکیب دارای پیوند با اکسیژن هستند با این حال عمل آنها در بدن متفاوت است.
- ✓ هموگلوبین یک پروتئین ناقل اکسیژن از ششها به بافتهای مختلف از جمله ماهیچه است در حالیکه میوگلوبین عهده دار ذخیره اکسیژن در سلولهای ماهیچه است.این دو ترکیب در ساختمانهای اول تا سوم از تمامی جنبه ها ، از توالی اسیدهای آمینه تا ساختمان مارپیچی و تاخوردگیهای کروی زنجیره های پلی پپتیدی آنها تا پیوندهای اکسیژنی و گروه پروستتیک هم ، یکسان هستند.
- ✓ تفاوت آنها این است که میوگلوبین تکپار است در صورتیکه هموگلوبین دارای ساختار چهارم تشکیل شده از چهار واحد ناهماهنگ مرکب از دو زنجیره $\alpha$ و دو زنجیره $\beta$ است (چهار تایی $\alpha 2\beta 2$ ).
- ✓ از نظر ساختاری هموگلوبین یک کمپلکس چهارتایی از ملکولهای میوگلوبین است.
- ✓ **اتصال زنجیره های پلی پپتیدی در ساختار چهارم بوسیله پیوندهای ضعیف صورت میگیرد (همانند پیوندهای ضعیفی که باعث تاخوردگی یک زنجیره پلی پپتیدی میشوند).**
- ✓ سطوح تماس پلی پپتیدهای تشکیل دهنده یک کمپلکس پروتئینی قالب هم بوده و از نظر شکل، بار و قطبیت مکمل هم اند.
- ✓ **کمپلکسهای پروتئینی از نظر اقتصادی و تنظیمی دارای ارزش زیستی هستند.پوشش حفاظتی ویروسها از چندین زنجیره پلی پپتیدی ساخته شده است.**

# Levels of Protein Structure — Quaternary Structure



**Quaternary structure**

**Association of two or more polypeptide chains with each other**




Quaternary structure
complex of protein molecules

## برهمکنشهای فیزیکی تعیین کننده ساختمان پروتئینها

- ✓ زنجیره های پلی پپتیدی به دلیل طول زیاد میتوانند برروی خود دچار تاخوردگی شده بطوریکه همزمان برهمکنشهای گوناگونی بوجود می آید. بدین ترتیب ساختمانی منحصربفرد و پیچیده شکل میگیرد که ساختارها و جهت یابی های فضایی گروههای عاملی و نیز بسیاری از ویژگیهای فضایی پروتئین را تامین مینماید.
- ✓ فعالیت بیولوژیکی پروتئینها علاوه بر ساختمان، به برهمکنشهای بین آنها و محیط اطرافشان از قبیل آب ، نمک ها، غشاء ها، سایر پروتئینها، اسیدهای نوکلئیک و ملکولهای کوچک و بزرگ موجود در سیستم زنده بستگی دارد.
- ✓ **تمامی این برهم کنشها ناشی از مجموعه ای محدود از نیروهای بنیادین غیرکووالان با منشاء متفاوت است.**

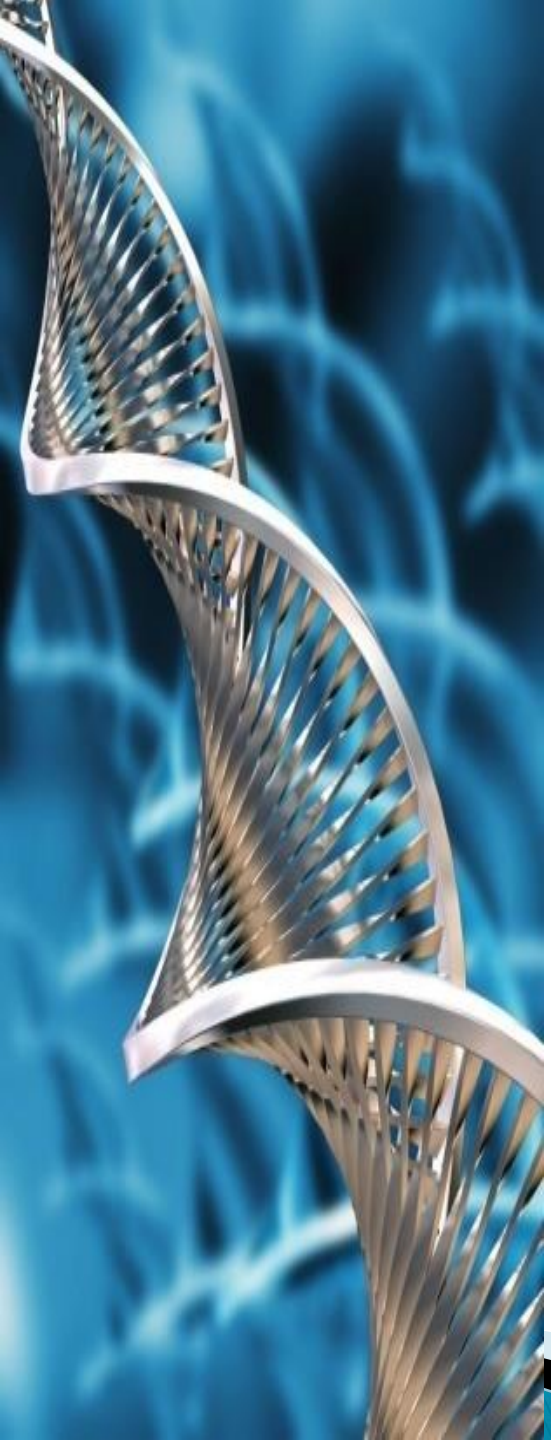
- ❖ **مهمترین نیروهای غیرکووالان دخیل در ساختمان پروتئینها عبارتند از:**

- ❖ نیروهای پراکندگی( لاندون) :این نیروها به شدت ضعیفند ، با تغییر فاصله از بین میروند و اغلب فقط بین گروههایی که تماس نزدیک با یکدیگر دارند ایجاد میشوند.

- ❖ برهمکنشهای الکترواستاتیک: شامل نیروهای یونی، دوقطبی-دوقطبی، دو قطبی القایی

- ❖ پیوندهای هیدروژنی: در آن اتم هیدروژن مشارکت دارد و به دلیل تغییر الکترونگاتیویته برهمکنش ایجاد میشود.

- ❖ نیروهای آبگریز( برهمکنشهای هیدروفوبیک) : عمده ترین عامل پایدارکننده ساختمان پروتئینها



# اسیدهای نوکلئیک

- دسته دیگری از ماکروملکولهای زیستی که از واحدهای منومری نوکلئوتیدها ساخته شده اند.این درشت ملکولها در ذخیره و انتقال اطلاعات ژنتیکی در سلولهای زنده دخالت مینمایند.
- دو نوع اسید نوکلئیک در سلول زنده وجود دارد: DNA (دزوکسی ریبونوکلئیک اسید) و RNA (ریبونوکلئیک اسید).
- **نوکلئوتیدها از سه جزء اصلی تشکیل شده اند:**

**۱- باز نیتروژن دار( مشتقی از ملکولهای پورین یا پیریمیدین)**

**۲- قند پنج کربنه(پنتوز)**

**۳- یک یا چند ملکول اسید فسفریک**

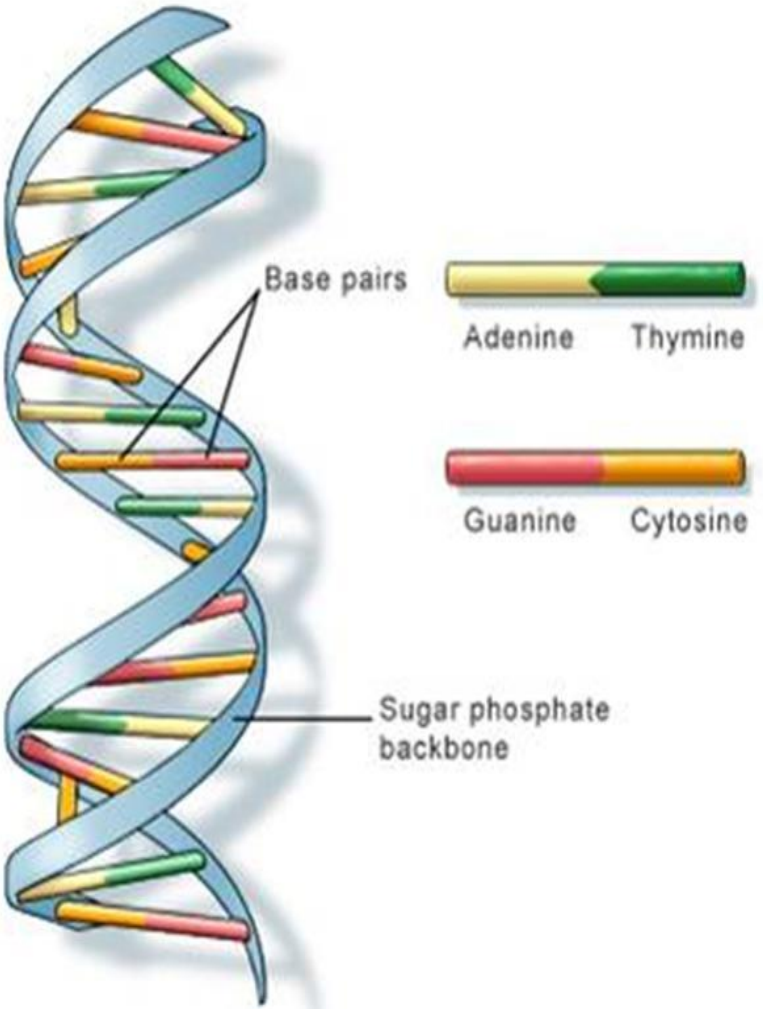
❖ **بازهای نیتروژن دار**

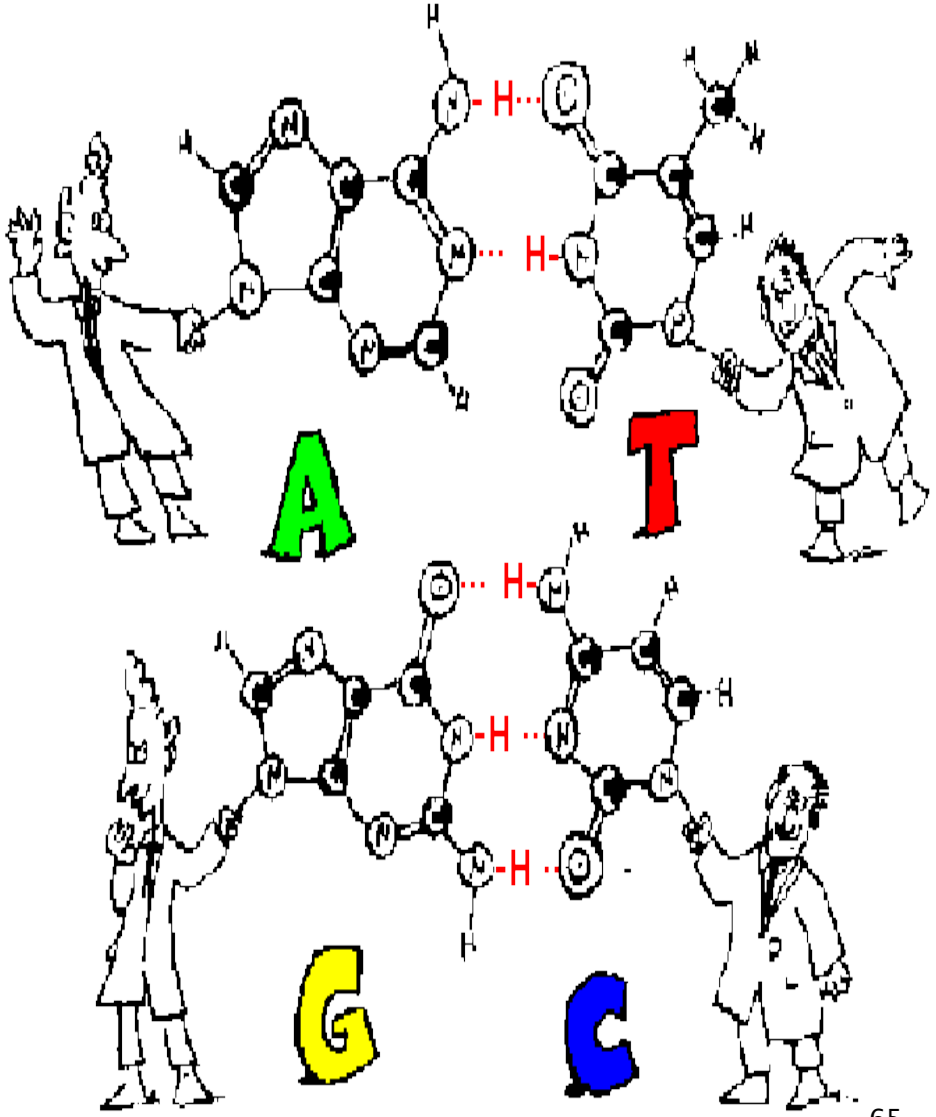
- ترکیبات آلی نیتروژن دار حلقوی که دارای دو نوع ساختار پورینی و پیریمیدینی میباشند.
- **پورین ها شامل بازهای آدنین،گوانین، هیپوگزانتین و گزانتین و پیریمیدین ها شامل بازهایی مانند اوراسیل، سیتوزین و تیمین هستند.**

❖ **قند پنج کربنه**

- **در ساختمان اسیدهای نوکلئیک دو نوع قند پنج کربنه ریبوز و دزوکسی ریبوز وجود دارد.**

- ✓ به ترکیب قند و بازهای نیتروژن دار نوکلئوزید گویند.
- ✓ نوکلئوزیدها در ترکیب با گروه فسفات نوکلئوتید را تشکیل میدهند.



❖ **انواع ساختار DNA:**

**الف- ساختار نوع اول**

- ✓ نحوه قرار گیری و توالی نوکلئوتیدها در اسیدهای نوکلئیک میباشد.
- ✓ نحوه اتصال این منومرها در DNA و RNA یکسان است.پیوندهای فسفودی استری سبب اتصال این واحدها بهم میگردند.
- ✓ یکی از موارد مهم که توسط این توالی در ساختمان سلول تعیین میگردد، عمل پروتئین سازی است.زیرا هر سه نوکلئوتید رمزی برای ورود یک آمینواسید به زنجیره پلی پپتیدی میباشدکه در صورت جابجایی این منومرها و ایجاد تغییر در توالی آنها نوع آمینواسید تفاوت میکند.

**ب- ساختار نوع دوم**

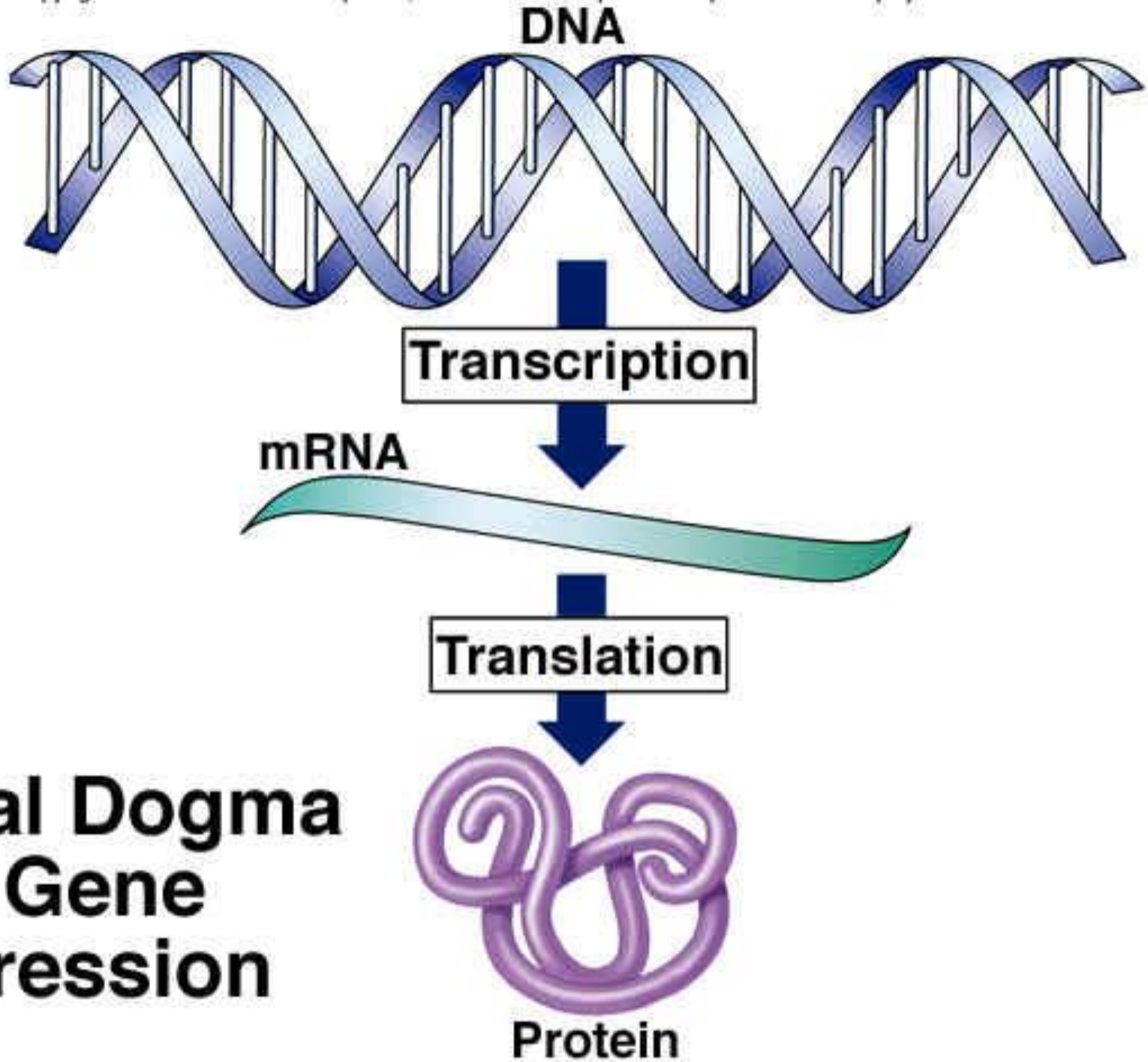
- ✓ ساختار دورشته ای DNA از لحاظ سطوح ساختاری ،ساختمان نوع دوم است.
- ✓ در این ساختار هر باز نیتروژن دار دارای یک مکمل میباشد که بین آنها پیوند هیدروژنی برقرار میباشد.در پی این فرایند زنجیره DNA بصورت مارپیچ مضاعف یا Duplex در می آید.

- ✓ در صورتیکه این پیوندهای هیدروژنی از بین بروند، DNA دناتوره میشود.

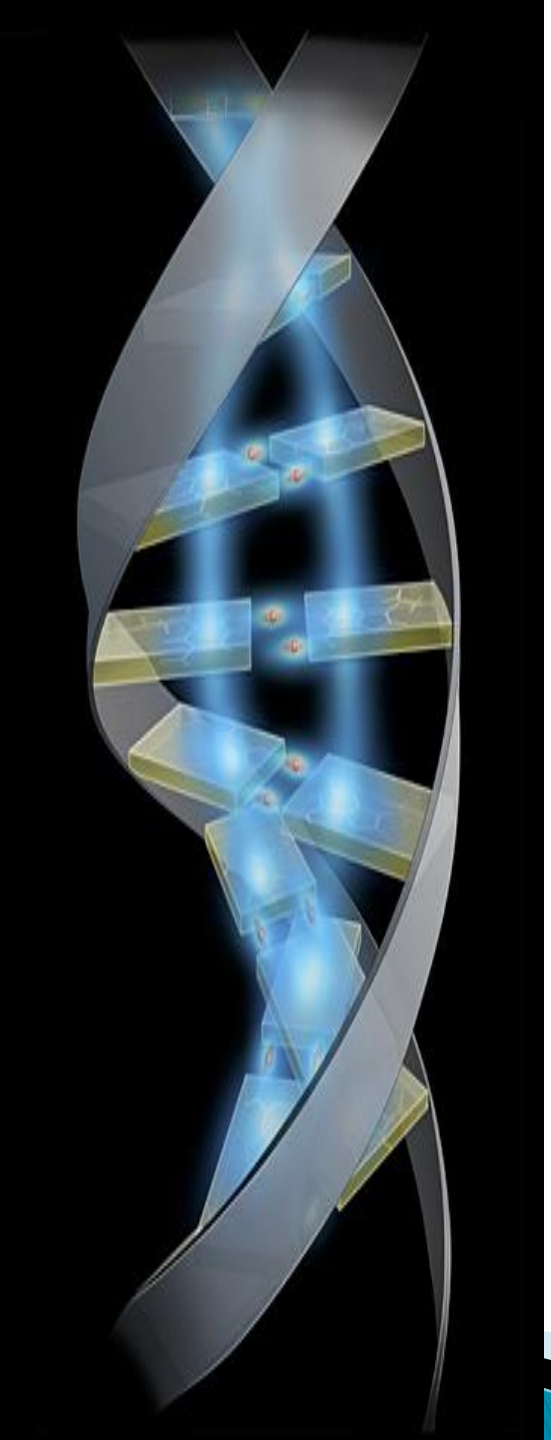
**ج-ساختار نوع سوم**

- ✓ این نوع ساختار در شرایط عادی و متعارف وجود ندارد.
- ✓ در صورت تغییر شرایط محیطی ساختار عادی DNA پیچیده شده و حالتی از Folding ایجاد میشود.
- ✓ به این ساختار پیچیده سوپر کویل (Super Coil) نیز گویند.

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.




# Central Dogma of Gene Expression



## ❖ مدل واتسون-کریک

✓ در سال ۱۹۵۳ واتسون و کریک مدلی برای ساختار سه بعدی DNA پیشنهاد کردند.طبق این مدل فرض شد:

۱- DNA از دو رشته پلی نوکلئوتیدی تشکیل شده است که در مقابل یکدیگر قرار گرفته اند.

۲- این دو رشته هر دو راستگردند.

۳- ملکولهای قند و فسفات در اسکلت آن و بازهای نیتروژن دار در بخشهای درونی آن جای دارند.

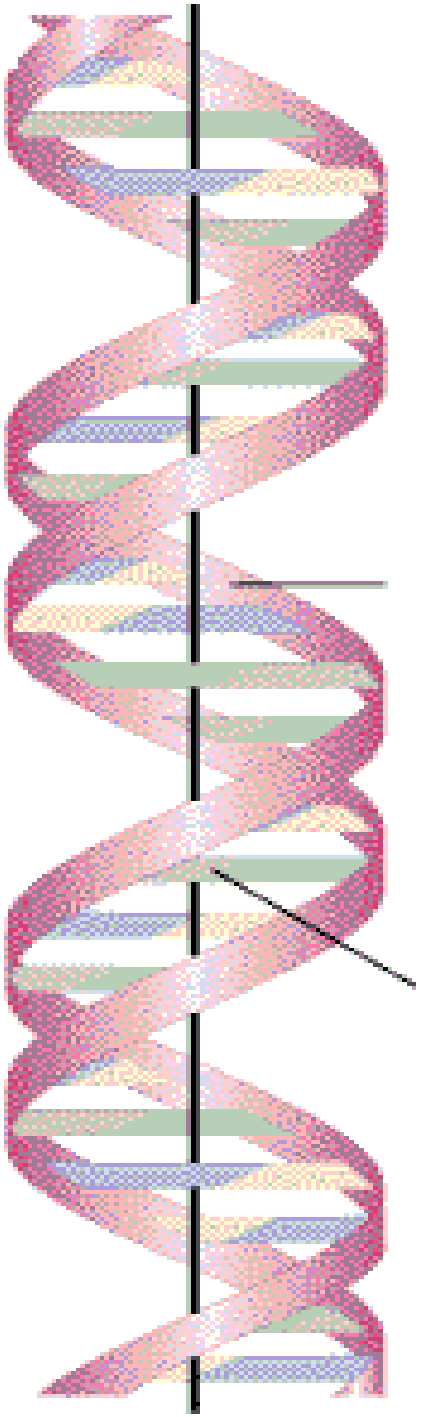
۴- در اثر پیچش دو رشته مضاعف ، دو شیار یکی با عمق کم و دیگری با عمق زیاد بوجود می آید.

۵- دو رشته DNA ناهمسو(Anti parallel) هستند.

۶- پیوندهای هیدروژنی بوجود آمده بین بازها سبب پایداری دو رشته DNA میشود.

۷- فاصله میان دو رشته در تمام طول ملکول ثابت است و این امر به واسطه نحوه قرار گیری بازها در درون ملکول DNA میباشد.

۸- هر دور مارپیچ مضاعف دارای ده جفت باز میباشد و محور مارپیچ دو رشته ای DNA بر این بازها عمود است.



Sugar-Phosphate backbone
(two; outside)

Nitrogenous base-pairs
(inside)

A + T

G + C

Held together by hydrogen bonds
(H-bonds)

## ❖ ساختار RNA

- ✓ DNA محل ذخیره سازی اطلاعات ژنتیکی سلول است.
- ✓ ملکول دیگری که توانایی انتقال اطلاعات ژنتیکی سلول را بر عهده دارد RNA است.

- ✓ **در تمام سلولهای زنده سه گروه اصلی RNA وجود دارد:**

۱- m RNA یا RNA پیک (messenger RNA)

۲- t RNA یا RNA ناقل (transfer RNA )

۳- r RNA یا RNA ریبوزومی ( ribosomal RNA)

### ❖ تفاوت میان ملکولهای RNA و DNA:

- ✓ RNA ماکروملکولی است که از منومرهای ریبونوکلئوتید تشکیل شده است ولی DNA دارای واحدهای دزوکسی نوکلئوتید است.
- ✓ RNA دارای چهار باز نیتروژن دار آدنین،گوانین،سیتوزین و اوراسیل است .در صورتیکه در DNA آدنین،گوانین، سیتوزین و تیمین وجود دارد.
- ✓ طول ملکولهای RNA متغیر و معمولا از DNA کوتاهترند.
- ✓ RNA معمولا تک رشته ای است ولی DNA دو رشته ای میباشد.

(ساختار دوم همه DNA و RNAها مارپیچی است.بر خلاف پلی پپتید مارپیچهای منظم ،پلی نوکلئوتیدها معمولا دورشته ای هستند که با یکدیگر پیوند هیدروژنی داده و تشکیل جفت باز سه باز یا چهار باز میدهند.از نظر توالی مهمترین آنها جفت باز پیدا شده در DNA ژنی بسیاری از سلولهاست.در سلول ملکول DNA معمولا بصورت دو رشته پلی نوکلئوتید مضاعف وجود دارد.)

- در DNA مضاعف dG با dC و dA با dT مانند جفت های بازی واتسون و کریک جفت میشوند و تشکیل یک ملکول دورشته ای ناموازی میدهند.دو رشته ای مکمل بوده و توالی یک رشته خود به خود با توالی رشته دیگر تعیین میشود.لذا اگرچه DNA دو رشته ای مرکب از دو بسپار است مانند یک ملکول منفرد عمل میکند. اندازه DNA توسط تعداد نوکلئوتیدها یا بوسیله تعداد بازها تعیین میشود.

- جفت بازها در RNA نیز مهم هستند ولی به دلیل اینکه RNA نوعا تک رشته است این جفت شدن درون ملکولی است و تعداد و انواع جفت بازهایی که در ساختار RNA تاخورده متراکم وجود دارد ( شامل t RNA و m RNA) بسیار متنوع میباشد)

- RNA دارای قابلیت تحرک در سطح سلول است ولی DNA در بخش هسته متمرکز میباشد.

# فصل دوم:روشهای جداسازی و توصیف درشت ملکولها

- ✓ در فصل قبل پیچیدگی ساختمان درشت ملکولها بحث شد. در این فصل توجهمان را به روشهای مختلف تعیین این ساختارها و آزمودن اندرکنشها و گذارهای ساختاری معطوف میکنیم.
- ✓ امروزه روشهای قدرتمند پراکنش اشعه X و NMR در دسترس هستند که تعیین ساختاربرخی از درشت ملکولها را به حد اعجاب آوری ممکن کرده اند.این روشها در فصول بعد بحث میشوند.
- ✓ در اینجا بایستی روشهای فیزیکی که برای جداسازی درشت ملکولها و تخلیص آنها از بستر سایر ملکولهایی که در واکنش تهیه ماکروملکولها بکار می روند مطرح شود.
- ✓ **هنگامیکه عمل تخلیص انجام میشود، میتوان اطلاعات اولیه راجع به درشت ملکول زیستی بدست آورد.**

- ✓ به عنوان مثال قبل از تعیین ساختار دقیق یک پروتئین چند پرسش ساده وجود دارد که بایستی جواب داده شود:

۱- آیا یک پروتئین تحت شرایط فیزیولوژیکی بصورت یک زنجیر پلی پپتید ساده وجود دارد یا بصورت تجمعی از چند زنجیر؟

۲- اگر مورد دوم صادق باشد آیا زنجیرها یکسان هستند یا متفاوت؟ وزنهای ملکولی تقریبی آنها چقدر است؟

۳- شکل تقریبی و اندازه تقریبی طبیعی چقدر است؟ پروتئین کروی است یا رشته ای؟

۴- خصلت یونی آن چگونه است؟ آیا غنی از اسید آمینه های اسیدی یا بازی است؟

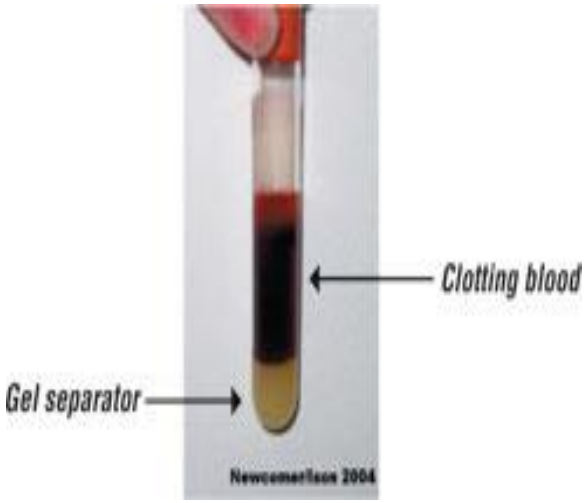
# ته نشینی

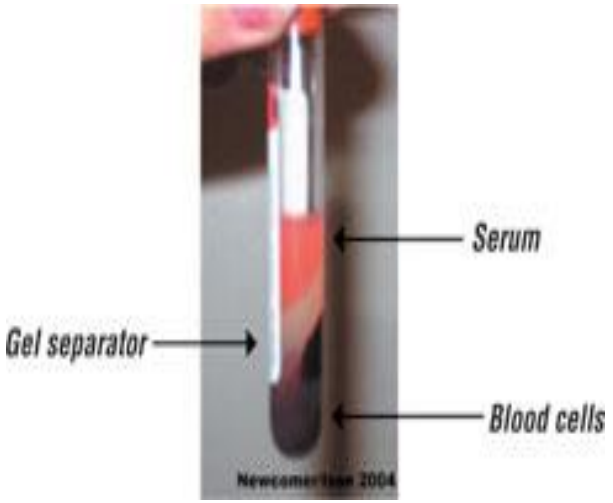
- یکی از رایج ترین روشهایی که امروزه برای شناسایی ماکروملکولها بکار میرود،روش ته نشینی است.
- با این روش میتوان **وزن ملکولی** و **شکل ملکولها** را مشخص کرده و تغییرات ایجاد شده در آنها را نیز تشخیص داد.هریک از موارد وزن و شکل ملکولها میتواند برای جداسازی ترکیبات یک مخلوط بکار رود.
- در اولتراسانتریفوژ ذرات بوسیله نیروی وارده به آنها وادار به حرکت شده و سپس پراکندگی غلظتی آنها در طول لوله سانتریفوژ در یک زمان یا زمانهای مختلف تعیین میشوند.
- یکی از سنجش هایی که هنگام حرکت ذرات در سانتریفوژ انجام میگیرد، **تعیین سرعت ته نشینی و در نتیجه ضریب ته نشینی** است.
- **ضریب ته نشینی معیاری است که اطلاعاتی در مورد وزن ملکولی و شکل ذرات در اختیار محققان قرار میدهد.**
- **هنگامیکه پراکندگی غلظتی در زمانی که به زمان وابسته نیست (تعادل نیروهای وارد بر ذره) اندازه گیری شود، اصطلاحا ذرات به تعادل ته نشینی رسیده اند.**این نوع سنجش، اطلاعاتی راجع به وزن ملکولی، دانسیته و ترکیب ذرات در اختیار قرار خواهد داد.
- در حال حاضر دو نوع استفاده عمده از سانتریفوژ در تحقیقات علم بیولوژی به عمل می آید.

در یک مورد از سانتریفوژ به عنوان وسیله ای برای جداسازی ماکروملکولها ،سلولها،اجزای سلولی و...استفاده میشود که به آن اولتراسانتریفوژ مقدماتی گویند. در مورد دیگر از آن به عنوان وسیله ای برای اندازه گیری دقیق وزن ملکولی استفاده میشود که سانتریفوژ تحلیلی نام دارد.

- ✓ دستگاهی که به منظور تعیین وزن ملکولی از آن استفاده میشود، مجهز به یک سیستم نوری برای مطالعه غلظت ذرات درون سل اولتراسانتریفوژاست.

- ✓ **اساس جداسازی در سانتریفوژ مقدماتی تفاوت دانسیته یا اندازه ذرات است.** این روش در بیوشیمی بالینی کاربرد فراوانی دارد، بطور مثال جداسازی اجزای مختلف خون به کمک این روش انجام میشود.



## ته نشینی تحت میدان جاذبه

- در میدان جاذبه سه نیروی $\mathbf{F_g}$ (نیروی جاذبه زمین)، $\mathbf{F_b}$ (نیروی شناوری) و $\mathbf{F_f}$ (نیروی اصطکاک) بر ذره ته نشین شونده وارد میشود. بعد از مدت زمان کوتاهی که سرعت ذره به مقدار حد رسید، حرکت آن یکنواخت شده، زیرا نیروی جاذبه عمل کننده بر ذره توسط نیروی شناوری و نیروی اصطکاک خنثی میشود. در این شرایط ذره با سرعت ثابت $V$ در جهت میدان جاذبه به حرکت خود ادامه میدهد.

$$\mathbf{F_g = F_b + F_f}$$

$$\mathbf{(m_p - m)g = f.V = f.dx/dt}$$

- $F_g$ = نیروی جاذبه وارد بر ذره
- $f$= ضریب اصطکاک
- $V$= سرعت ذره
- $m$و$m_p$= به ترتیب جرم ذره و جرم مایع هم حجم آن
- $g$= شتاب جاذبه
- اگر حجم ذره برابر $V_p$و دانسیته آن $\rho_p$ باشد ، رابطه بالا بدین صورت است:

$$\mathbf{(\rho_p - \rho)V_P\, g = f.dx/dt}$$

- که ρ دانسیته محیط است. با استخراج dx/dt از تساوی بالا و انتگرال گیری خواهیم داشت:

$$\frac{dx}{dt} = \frac{(\rho p - \rho)Vpg}{f} \Rightarrow \int dx = \int \frac{(\rho p - \rho)Vpg}{f} dt$$

$$\Rightarrow \Delta x = \frac{(\rho p - \rho)Vpg}{f} t$$

- با فرض کروی بودن ذره مورد نظر، حجم آن $Vp = \frac{4}{3}\pi R^3$ و ضریب اصطکاک آن بر اساس قانون استوک برابر $f = 6\pi\eta R$ است که η ضریب ویسکوزیته است. پس:

$$\Delta x = \frac{2R^2(\rho p - \rho)g}{9\eta} \Rightarrow R = \sqrt{\frac{9\eta\Delta x}{2g(\rho p - \rho)t}}$$

- با در اختیار داشتن مقادیر ρ، $\rho_p$، η و با اندازه گیری Δx و t میتوان R را از رابطه بالا بدست آورد.

## مثال:

- فرض کنید گلبولهای قرمز ذرات کروی به شعاع $R = 2.5 \times 10^{-4} cm$ و دانسیته $\rho p = 1.087 g.cm^{-3}$ هستند که در محلول NaCl به غلظت 0.154 مولار در دمای 20°c و دانسیته $\rho = 1.006\ g.cm^{-3}$ حل شده اند.ضریب ویسکوزیته یا نارواني محلول برابر $\eta$=1.021cp است.سرعت ته نشینی این گلبولها را محاسبه کنید.زمان لازم برای اینکه گلبول قرمز به میزان یک سانتی متر ته نشین شود چقدر است؟

- ✓ حل:

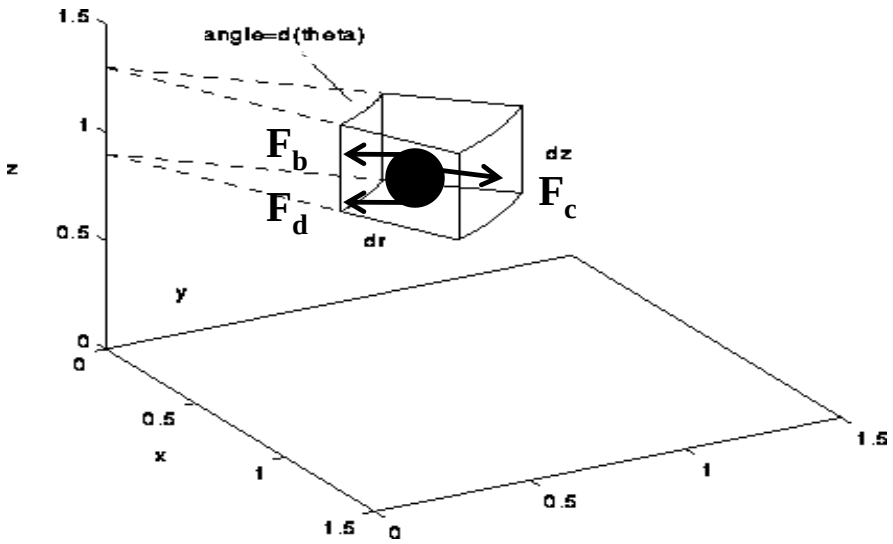
$$f = 6\pi\eta R = 6 \times 3.14 \times 1.021 \times 2.5 \times 10^{-4} = 4.8 \times 10^{-3}$$

$$Vp = \frac{4}{3}\pi R^3 = \frac{4}{3} \times 3.14 \times (2.5 \times 10^{-4})^3 = 6.54 \times 10^{-11}\ (cm^3)$$

$$V = \frac{dx}{dt} = \frac{(1.087 - 1.006)(6.54 \times 10^{-11})(980)}{4.8 \times 10^{-5}} = 1.08 \times 10^{-4} (cm.sec^{-1})$$

$$t = \frac{x}{V} = \frac{1(cm)}{1.08 \times 10^{-4}(cm.sec^{-1})} = 9.2 \times 10^{3} (\text{sec}\quad) = 2.56(hour)$$

# ته نشین سازی سرعتی




- ذرات معلق در یک محلول بوسیله نیروی جاذبه زمین به سمت پایین کشیده میشوند.این جابجایی قدری توسط خاصیت شناوری ذرات جبران میشود.از آنجایی که نیروی جاذبه زمین ضعیف است، محلول حاوی ماکروملکولها یکنواخت است که ناشی از حرکت حرارتی تصادفی ملکولها میباشد.سرعت ته نشین سازی ذرات با افزایش جرم ذرات افزایش می یابد و نسبت مستقیم نیز با قدرت میدان جاذبه دارد.

- محلولی که در یک لوله سانتریفوژ می چرخد را در نظر بگیرید.چنین محلولی تحت تاثیر یک میدان جاذبه قوی قرار دارد.نیروی سانتریفوژی که به یک ذره حل شونده در این محلول وارد میشود برابر است با:

$$F_c = mr\omega^2$$

- در این معادله m، جرم ذره حل شونده،r فاصله ذره حل شونده از مرکز دوران و $\omega$ سرعت زاویه ای چرخنده بر حسب رادیان بر ثانیه است.

- علاوه بر نیروی سانتریفوژی باید نیروی شناوری که در نتیجه جابجایی ملکولهای حلال توسط ذرات حل شونده ایجاد میشود را نیز در نظر گرفت.نیروی شناوری، نیروی وارده بر ذره را به اندازه حاصلضرب شتاب سانتریفوژی در جرم حلال جابجا شده کاهش میدهد.یعنی:

$$F_b=m_s r\omega^2$$

- در این معادله $m_s$ جرم حلال جابجا شده و $r\omega^2$ شتاب سانتریفوژی است.

- میدانیم که:

$$\rho=m_s/V \rightarrow m_s=\rho V$$

- پس میتوان بجای جرم حلال جابجاشده از معادل آن یعنی ρv استفاده کرد:

$$F_b=\rho V r\omega^2$$

- در این معادله v و ρ به ترتیب حجم و چگالی حلال میباشند.بر طبق قانون دوم حرکت نیوتن ، نیروی وارد شده به یک ذره موجب شتاب آن خواهد شد.در مورد ته نشین سازی، شتاب اولیه فقط برای مدت زمان کوتاهی (در مرتبه نانوثانیه) تداوم دارد و پس از آن ذره با سرعت ثابت حرکت خواهد کرد.این بدان علت است که محیط بر ذره حرکت کننده نیروی اصطکاکی وارد می آورد که متناسب با سرعت ته نشین سازی (dr/dt) است.نیروی اصطکاک برابر است با:

$$F_f= f(dr/dt)= f V$$

- در شرایط پایا برآیند نیروهای وارد بر ذره صفر است.یعنی:

$$F_c+F_b+F_f=0$$

$$mr\omega^2 + \left(-\rho V r\omega^2\right) + \left(-\frac{fdr}{dt}\right) = 0$$

$$\frac{fdr}{dt} = mr\omega^2 - \rho V r\omega^2$$

- ✓ اندازه گیری حجم ذره یا حجم حلال جابجا شده مشکل است.از اینرو از حجم ویژه جزئی ( $\bar{v}$ ) استفاده میشود.
- ✓ کمیت ( $m\bar{v}$ ) معادل افزایش حجم است، وقتی یک ملکول با جرم m به حلال اضافه میشود.به عبارت دیگر( $m\bar{v}$ ) برابر با حجم ذره است.
- ✓ برای بیشتر پروتئین ها مقدار ( $\bar{v}$ ) حدود $0.74\, ml.g^{-1}$ است.
- ✓ حال میتوان معادله برایند نیروها را بصورت زیر نوشت:

$$\frac{fdr}{dt} = mr\omega^2 - m\rho\bar{v}r\omega^2 = mr\omega^2(1 - \bar{v}\rho)$$

- ✓ در این معادله ( $1 - \bar{v}\rho$ ) فاکتور شناوری نامیده میشود.با نوآرایی این معادله میتوان ضریب ته نشین سازی را تعریف نمود:

$$\frac{dr/dt}{r\omega^2} = \frac{m(1 - \bar{v}\rho)}{f} = s = \frac{M(1 - \bar{v}\rho)}{N_A f}$$

- ✓ در این معادله S ضریب ته نشین سازی، M جرم ملکولی حل شونده و $N_A$ عدد آووگادرو است.

- ✓ بدین ترتیب ضریب ته نشین سازی بصورت نسبت سرعت ته نشین سازی به شتاب سانتریفوژی تعریف میشود.
- ✓ واحد ضریب ته نشین سازی سودبرگ است و یک سودبرگ برابر با $10^{-13}$**Second** میباشد.
- ✓ معادله فوق میگوید که:

۱- هرچه ملکول سنگین تر باشد ، با سرعت بیشتری ته نشین خواهد شد.

۲- هرچه ملکول چگال تر باشد (حجم ویژه کمتری داشته باشد) ،با سرعت بیشتری ته نشین خواهد شد.

۳- هرچه محلول چگالتر باشد ، ملکولهای حل شونده با سرعت کمتری ته نشین خواهد شد.

۴- هرچه ضریب اصطکاک بزرگتر باشد، ملکولها آهسته تر ته نشین خواهند شد.از این رو ماکروملکولهای گسترده تر و پیچه های نا منظم ،کندتر از ماکروملکولهای کروی ته نشین خواهند شد.

- ✓ برای ملکولهای کروی ضریب اصطکاک طبق قانون استوک برابر است با:

- ✓ در نتیجه:

$$M = \frac{sNAf}{(1-\bar{v}\rho)} = \frac{sNA6\pi r\eta}{(1-\bar{v}\rho)}$$

- ✓ و طبق معادله استوک–انیشتن:

$$f = kT/D$$

- ✓ بنابراین خواهیم داشت:

$$M = \frac{sNAkT}{D(1-\bar{v}\rho)}$$

- از آنجایی که D و $\bar{v}$ را میتوان توسط آزمایشات مجزا تعیین نمود، تنها کمیتی که در تعیین جرم ملکولی نیاز به اندازه گیری دارد ضریب ته نشین سازی است.
- ضریب ته نشین سازی را توسط ته نشینی مرز متحرک اندازه گیری می کنند.در این نوع ته نشین سازی که در سرعتهای بسیار بالا انجام میشود، با اعمال میدان سانتریفوژی ماکروملکولها شروع به حرکت میکنند و ناحیه مجاور سطح تماس هوا و محلول کاملا از حل شونده تهی میشود و در نتیجه یک مرز متحرک تشکیل میگردد که با اندازه گیری سرعت حرکت این مرز متحرک میتوان ضریب ته نشین سازی را محاسبه نمود.
- همانطور که گفته شد، ضریب ته نشینی عبارت است از نسبت سرعت ته نشینی به قدرت میدان سانتریفوژی.یعنی:

$$s = \frac{dr/dt}{r\omega^2}$$

- و یا:

$$sdt = \frac{1}{\omega^2}\frac{dr}{r}$$

- با انتگرال گیری بر روی فاصله طی شده توسط ذره از $r=r_0$ $(t=t_0)$ تا $r=r$ $(t=t)$ خواهیم داشت:

$$\ln\frac{r}{r_0} = s\omega^2 t$$

- با رسم نمودار تغییرات $\ln(r/r_0)$ در مقابل زمان میتوان ضریب ته نشین سازی را از شیب نمودار بدست آورد..
- **برای تعقیب حرکت ذرات ته نشین شونده در یک زمان معین از روشهای نوری مناسب مثل اندازه گیری ضریب شکست نور استفاده میشود.با دانستن سرعت زاویه ای چرخنده (ω )، میتوان ضریب ته نشین سازی (s) و سپس جرم ملکولی حل شونده (M) را محاسبه نمود.**
- باید توجه داشت که ضریب ته نشین سازی یک ملکول معین مستقل از سرعت زاویه ای روتر است زیرا با افزایش $r\omega^2$ ، dr/dt نیز به نحوی افزایش می یابد که نسبت آنها ثابت باقی می ماند.

## فاکتورهای موثر بر سرعت ته نشین سازی

- ضریب ته نشین سازی بستگی به غلظت دارد و در غلظت های بالاتر ضریب ته نشین سازی کوچکتر است زیرا ملکولها هرچه بیشتر باشند اصطکاک آنها بیشتر است. وقتی که ملکولها نامتقارن باشند، آنگاه وابستگی ضریب ته نشین سازی به غلظت بیشتر خواهد بود.
- ضریب ته نشین سازی ماکروملکولها بستگی به فاکتورهای مختلفی دارد:

۱- شکل ماکروملکول که بستگی به ترکیب حلال دارد.

۲- بسیاری از ملکولها ممکن است باردار باشند.

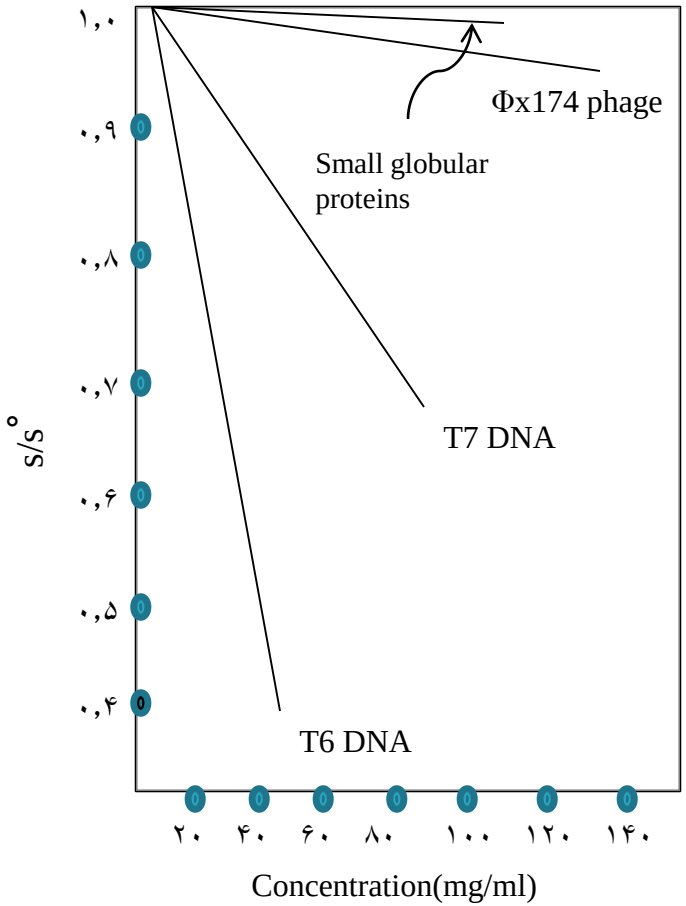
۳- بسیاری از ماکروملکولها ممکن است نسبت به ملکولهای حلال بسیار بزرگتر باشند.

۴- برخی از ماکروملکولها ممکن است در حین حرکت دفرمه شوند.

### وابستگی ضریب ته نشین سازی به غلظت:

- ماکروملکولهای درشت و یا بسیار گسترده (مثل پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک) در محلول با یکدیگر برخورد میکنند زیرا در هنگام چرخش حجم بزرگی از محلول را اشغال میکنند. وقتی این ماکروملکولها به یکدیگر میرسند، ملکولهای حلال برای حرکت در جهت مخالف با مشکل روبرو هستند.به عبارت دیگر ویسکوزیته حلال در مجاورت ماکروملکولها افزایش می یابد.این افزایش ویسکوزیته موجب کاهش سرعت حرکت ماکروملکولها به سمت ته سل سانتریفوژ میگردد و در نتیجه ضریب ته نشینی کاهش می یابد.

- در شکل وابستگی ضریب ته نشینی به غلظت بصورت نمودار $s/s^{\circ}$ در مقابل C نشان داده شده است:




- برای ملکولهای کروی مثل پروتئینهای کوچک و DNA حلقوی فاژ φ174 وابستگی s به C خیلی کم است.
- وابستگی s به C از رابطه تجربی:

$$sc = \frac{s^\circ}{1 + kc}$$

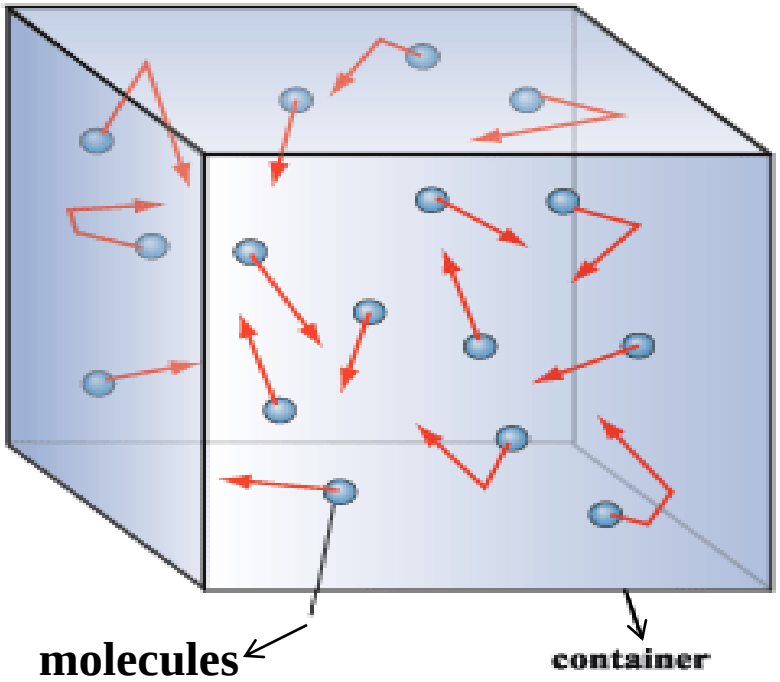
- sC مقدار s در غلظت C ، $s^\circ$مقدار s در غلظت صفر، C غلظت و K ثابتی است که ویژه هر ملکول است.
- مقدار $s^\circ$بوسیله اندازه گیری s در غلظتهای مختلف و رسم نمودار 1/sدر مقابل C و تعیین $1/s^\circ$ با برون یابی تا غلظت صفر بدست می آید.

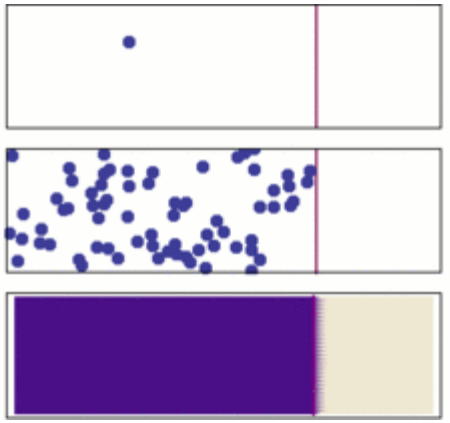
## ❖ وابستگی ضریب ته نشین سازی به بار الکتریکی:

- ✓ ماکروملکولها معمولا دارای بار الکتریکی هستند و یون های با بار مخالف همراه آنها میباشد.
- ✓ مقدار ضریب ته نشین سازی ماکروملکولها در مقایسه با ضریب ته نشین سازی یونهای همراهشان بسیار بزرگ است.در نتیجه ماکروملکولها بسیار سریعتر از یونهای همراهشان ته نشین میشوند.
- ✓ این جدایی بار منجر به ایجاد یک شیب پتانسیل الکتریکی علیه جهت ته نشین سازی میشود که موجب کاهش مقدار S خواهد شد.
- ✓ این مشکل را میتوان بوسیله اجتناب از قدرت یونی بالا از بین برد.

# تئوری نفوذ Diffusion Theory

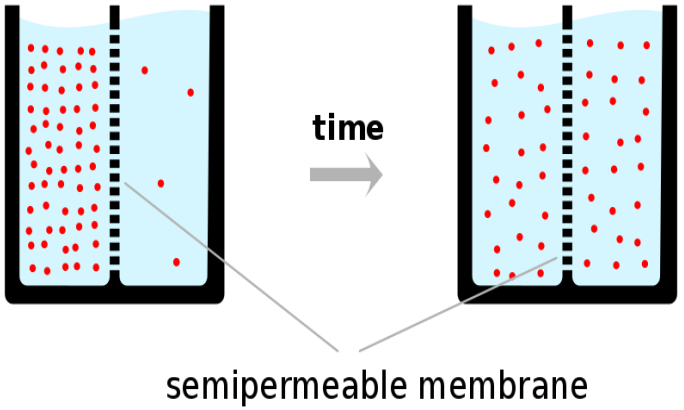
- ماکروملکولها به واسطه انرژی حرارتی شان و نیز بمباران توسط ملکولهای حلال در حرکت مداوم هستند.این حرکت دارای جهت تصادفی میباشد و اگر ابتدا تمامی ماکروملکولها در یک بخش محلول وجود داشته باشند، به تدریج در محلول حرکت خواهند کرد تا غلظت آنها در همه جای محلول یکسان گردد.این فرایند **نفوذ یا انتشار** نامیده میشود.



- فرایند نفوذ در سیستمهای شیمیایی و بیولوژیکی دارای اهمیت زیادی است.به عنوان مثال **رسیدن دی اکسید کربن به جایگاه های فتوسنتز در کلروپلاست ها** عمدتا توسط این مکانیزم صورت میگیرد.
- فیک نشان داد که سرعت جاری شدن متناسب با شیب غلظت است.
- سرعت جاری شدن بصورت تعداد ملکولهای حل شونده که از واحد سطح در واحد زمان نفوذ میکنند تعریف میشود.
- برای نفوذ در یک بعد(جهت) میتوان نوشت:

$$J \propto -\left(\frac{dc}{dx}\right) \rightarrow J = -D\left(\frac{dc}{dx}\right)$$




- در این رابطه J سرعت جاری شدن، (dC/dx) شیب غلظت و D ثابت تناسب است که ضریب نفوذ نامیده میشود.
- علامت منفی نشان میدهد که نفوذ از غلظت بالاتر به غلظت پایین تر روی میدهد و در نتیجه شیب غلظت در جهت نفوذ منفی است و J یک کمیت مثبت خواهد بود.
- این معادله قانون اول نفوذ فیک نامیده میشود.واحد ضریب نفوذ $cm^2.s^{-1}$ است.

- ملکولهای حلال در مقابل نفوذ ملکولهای حل شونده مقاومت میکنند. **انیشتن پیشنهاد کرد که ضریب نفوذ با ضریب اصطکاک نسبت عکس دارد.**

$$D = \left(\frac{kT}{f}\right)$$

- K ثابت بولتزمن، f ضریب اصطکاک و T دمای مطلق است. در سیستم CGS واحد ضریب اصطکاک dyn.s/cm و در سیستم SI ، N.s/m است.

**نیروی مقاومت اصطکاکی: حاصلضرب ضریب اصطکاک در سرعت ملکولهای حل شونده**

- **ضریب اصطکاک بستگی به شکل ملکولهای حل شونده دارد.از بین تمامی اشکال ممکن، شکل کروی ملکولهای حل شونده با کمترین نیروی مقاومت اصطکاکی حلال مواجه خواهد بود.هرچه گستردگی ملکول بیشتر باشد و یا به عبارت دیگر نسبت محوری آن بزرگتر باشد، ضریب اصطکاک بزرگتر خواهد بود.**
- ضریب اصطکاک کره را با $f_0$ نشان میدهند.بنابراین خواهیم داشت:

$$f_0 = 6\pi\eta r$$

- ضریب نفوذ یک جسم کروی را میتوان بصورت زیر تعریف کرد:

$$D = \left(\frac{kT}{6\pi\eta r}\right)$$

- در این معادله kT معیاری از انرژی جنبشی یا گرمایی ملکولهای حل شونده است.( با افزایش دما ضریب نفوذ افزایش می یابد). $\eta$ نیز معیاری از مقاومت محیط در برابر نفوذ است.

- ✓ نسبت ضریب اصطکاکی یک شکل فضایی به ضریب اصطکاکی کره ($f/f_0$) را نسبت اصطکاکی مینامند.
- ✓ این نسبت را میتوان برای تعیین مقدار انحراف شکل یک ماکروملکول از شکل کروی بکار برد.

# کروماتوگرافی و الکتروفورز

- **دو تکنیک** عمده ای که برای **استخراج و تخلیص ماکروملکولهای حیاتی** در علم بیوشیمی کاربرد فراوانی دارند، **کروماتوگرافی و الکتروفورز** هستند.

- سیستم های پیشرفته کروماتوگرافی و الکتروفورزامروزه تا حدودی استخراج و تخلیص ماکروملکولهای حیاتی را آسان تر کرده است.

- **مهمترین نکته** ای که قبل از استفاده از این دو تکنیک حائز اهمیت بوده و باید مورد توجه قرار گیرد این است که **ماکروملکولهای حیاتی در طی تخلیص پایداری و فعالیت خود را حفظ کنند**، از این رو ایجاد شرایط بهینه برای تخلیص ماکروملکولها لازم است.

- پس از آنکه ماکروملکولهای حیاتی به کمک تکنیکها و روشهای مختلف (سانتریفوژ، رسوب دادن و ...) استخراج شدند برای تخلیص آنها از دو روش کروماتوگرافی و الکتروفورز استفاده میشود.

# کروماتوگرافی

- **کروماتوگرافی مجموعه ای از تکنیک ها برای جداسازی مخلوط مواد و ترکیبات بیولوژیکی مختلف است.**
- ترکیب مورد نظر(آنالیت) که در فاز متحرک (حمل کننده ) حل شده است، از درون فاز ثابت میگذرد بصورتیکه آنالیت از دیگر ملکولهای ترکیب جدا شده و استخراج میگردد.
- **فاز ثابت** شامل ذرات ریزی است که در درون ستون کروماتوگرافی انباشته شده اند و بصورت یک بستر انباشته درآمده اند. **فاز متحرک** از درون فاز ثابت با سرعت مشخصی میگذرد.نمونه مورد نظر(آنالیت) همراه با فاز متحرک به درون ستون فرستاده میشود. **سرعت ملکولها در نمونه به اثر متقابل آنها با فاز ثابت بستگی دارد**.اگر این ملکولها با فاز ثابت هیچ واکنشی نداشته باشند، سرعت آنها مانند سرعت فاز متحرک است و بالعکس اگر ملکولهای نمونه موردنظر با فاز ثابت واکنش دهند بسته به میزان اثر متقابل آنها سرعتشان تغییر میکند.

## ❖ کاربردهای کروماتوگرافی:

- کروماتوگرافی برای جداسازی مواد مختلفی به کار میرود از جمله:

پروتئینها، اسیدهای نوکلئیک، لیپیدها، آنتی بیوتیکها، هورمونها، قندها و ...

- زمانیکه از کروماتوگرافی به منظور آنالیز ترکیبات استفاده میشود، به آن کروماتوگرافی تحلیلی گویند.

- برخی از کاربردهای مهم کروماتوگرافی عبارتند از:

- Biopharmaceutical production
- Biopharmaceutical & biomedical analysis
- Environmental analysis
- Foods & nutraceutical production
- Diagnostics
- Process monitoring

## اصطلاحات کروماتوگرافی:

۱- **آنالیت:** ماده ای که در طی عمل کروماتوگرافی جداسازی میشود.

۲-**کروماتوگرافی تحلیلی:** جهت اندازه گیری غلظت ویا وجود و عدم وجود آنالیت استفاده میشود.

۳- **فاز پیوسته:** همان فاز ثابت است که با پیوند کووالانسی به ذراتی که داخل ستون کروماتوگرافی قرار میگیرند، پیوند میخورد.

۴- **کروماتوگرام:** خروجی حاصل از کروماتوگرافی که قابل دیدن است را کروماتوگرام گویند.پیکهای مختلفی که روی کروماتوگرام ثبت شده اند، نشانگر حضور مواد مختلف در ترکیبی هستند که مورد جداسازی قرار گرفته است.

۵- **کروماتوگراف:** دستگاهی است که عمل جداسازی پیشرفته مانند کروماتوگرافی گازی و یا مایع را ممکن میسازد.

۶-**effluent:** فاز متحرک که از ستون کروماتوگرافی خارج میشود(جریان خروجی از کروماتوگرافی)

۷- **فاز تثبیت شده:** همان فاز ثابت است که روی یکسری از ذرات و یا دیواره داخلی ستون کروماتوگرافی تثبیت شده است.

۸- **فاز متحرک:** در داخل ستون کروماتوگرافی حرکت میکند.این فاز میتواند مایع ( LC) ، گاز( GC) ، و یا مایع سوپرکریتیکال باشد (SCF ).

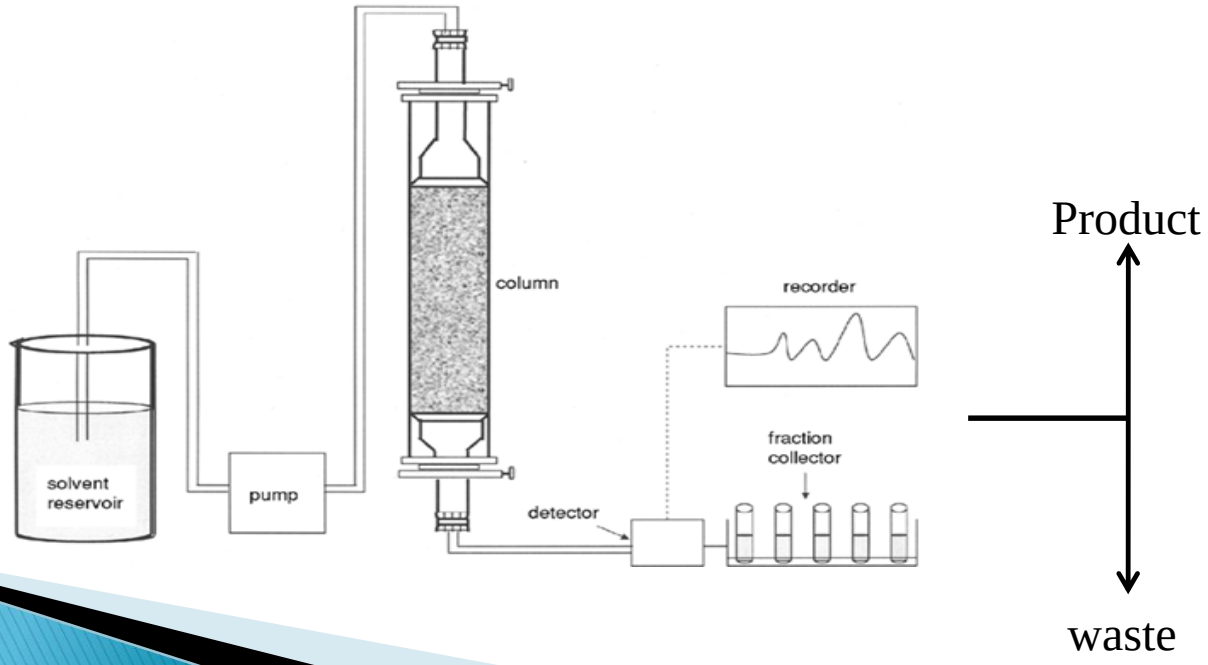
در حقیقت این فاز شامل نمونه است که باید جداسازی و آنالیز شود و حلال که نمونه را درون ستون کروماتوگرافی حرکت میدهد.نمونه در خلال حرکت با فاز ثابت واکنش میدهد و جداسازی میشود.

۹- **کروماتوگرافی مقدماتی(preparative):** جهت خالص سازی نمونه موردنظر استفاده میشود.از این نوع برای آنالیز نمونه استفاده نمیگردد.

۱۰- **زمان ماند:** مدت زمانی که آنالیت مسیر ورودی ستون کروماتوگرافی تا خروجی و رسیدن به detector را طی میکند.

۱۱- **نمونه حل شونده:** ترکیبی که باید توسط کروماتوگرافی آنالیز شود.ممکن است شامل یک ماده و یا مخلوطی از چند ماده باشد.

در پایان کروماتوگرافی، بخشی که شامل آنالیت است آنالیز شده و مابقی به قسمت پس ماند فرستاده میشود.



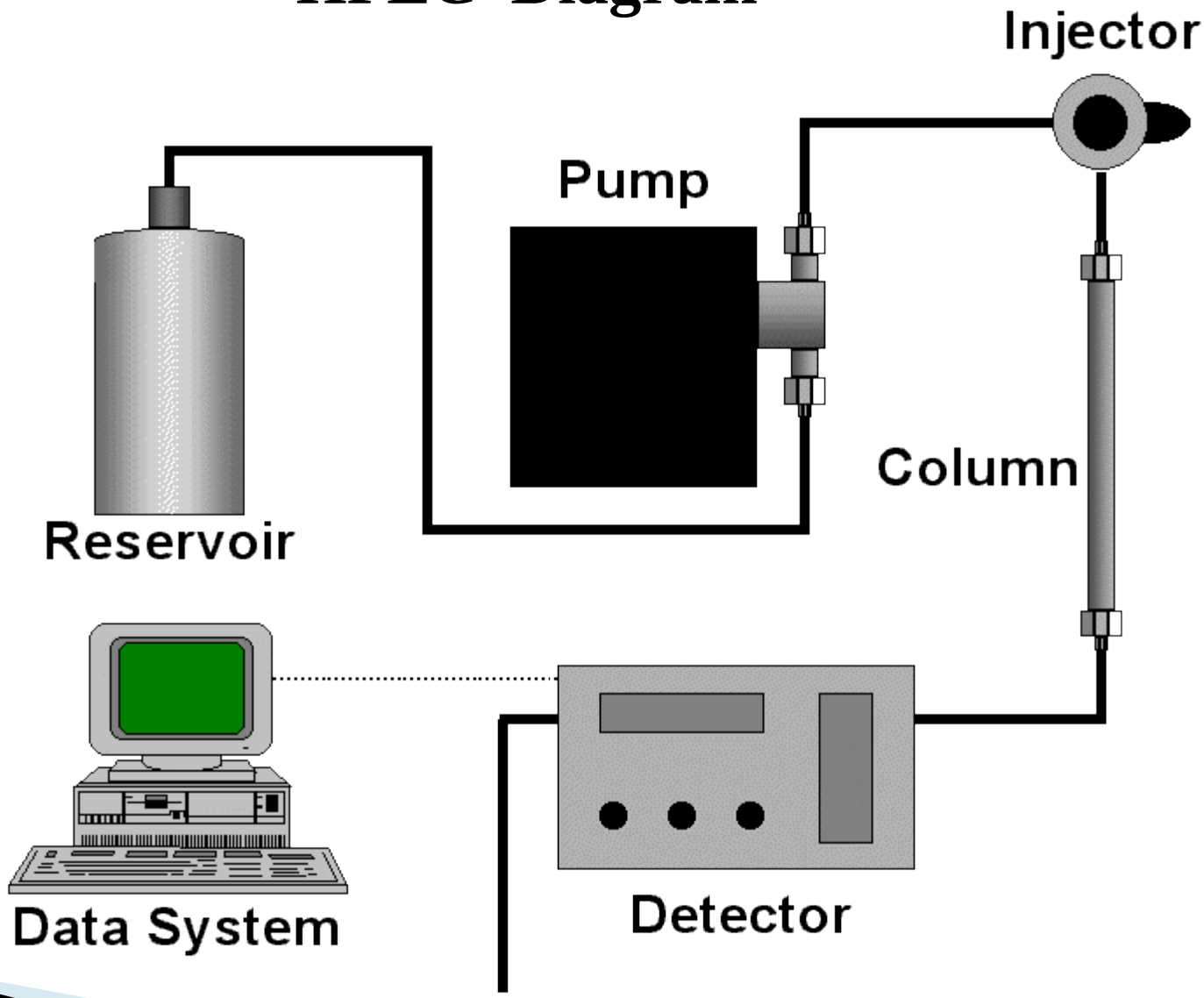
## ❖ کروماتوگرافی گازی(GC):

- ✓ که اغلب به اسم (GLC) یا کروماتوگرافی گاز–مایع شناخته میشود، یک نوع تکنیک جداسازی است که در آن فاز متحرک گاز است.
- ✓ اغلب در یک ستون کروماتوگرافی انباشته و یا با قطر کم صورت میگیرد.
- ✓ اساس این بخش بر پایه جداسازی آنالیت میان دو فاز ثابت (اغلب سیلیکونی) و متحرک (گاز هلیم) است.
- ✓ فاز ثابت اغلب روی دیواره های یک لوله با قطر کم و یا بر روی یک شبکه جامد درون ستون فلزی بزرگ قرار میگیرد.
- ✓ اغلب در بحث های مربوط به شیمی تحلیلی از این روش استفاده میشود.
- ✓ به دلیل بالابودن دما، این نوع کروماتوگرافی جهت جداسازی بیوپلیمرها و پروتئینها مناسب نمیباشد و اغلب در بخش پتروشیمی از آن استفاده میشود.

## ❖ کروماتوگرافی مایع( LC):

- ✓ در این نوع کروماتوگرافی فاز متحرک مایع است.
- ✓ امروزه نوعی از کروماتوگرافی مایع که در آن از ذرات بسیار ریز و فشار بالا استفاده میشود، به نام HPLC(high performance liquid chromatography) مشهور است.در این نوع کروماتوگرافی، نمونه با فشار به درون ستون که با ذرات ریز کروی یا لایه متخلخل یکنواخت (فاز ثابت) پوشیده شده است و فاز متحرک آن مایع است فرستاده میشود.
- ✓ HPLC به دو دسته (NPLC=NORMAL PHASE) و (RPLC=REVERSE PHASE) بر اساس میزان قطبیت فاز متحرک تقسیم میشود.
- ✓ تکنیکی که در آن فاز ثابت قطبیت بیشتری نسبت به فاز متحرک دارد ( مانند تولوئن به عنوان فاز متحرک و سیلیکا به عنوان فاز ثابت) را NPLC و بالعکس (مانند مخلوط آب و اتانول به عنوان فاز متحرک و C18=octadecylsilyl) را RPLC گویند.

# HPLC Diagram

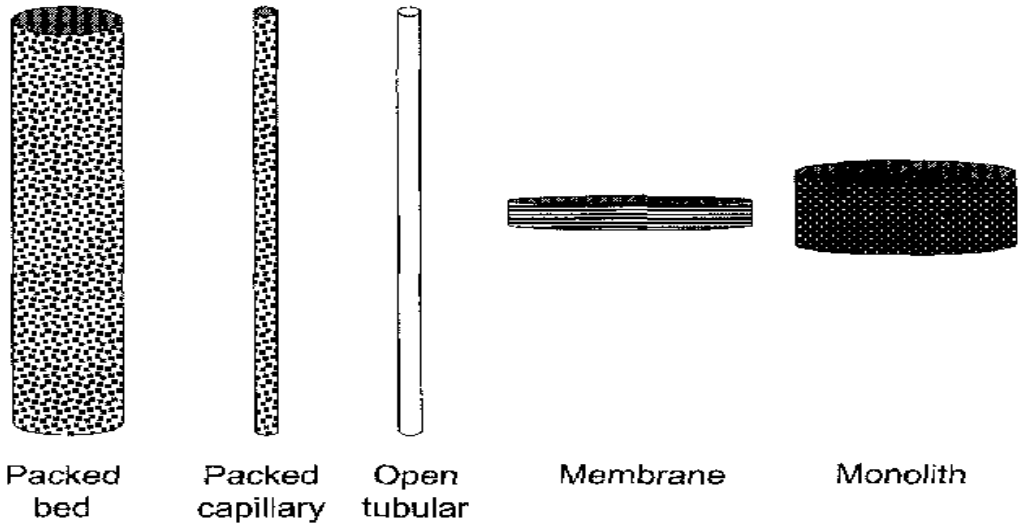


## ❖ کروماتوگرافی مایع سوپرکریتیکال:

✓ نوعی تکنیک جداسازی است که در آن فاز متحرک مایعی است که دما و فشار آن به نقطه بحرانی( Critical) نزدیک است.

## ❖ ستونهای مورد استفاده در کروماتوگرافی:

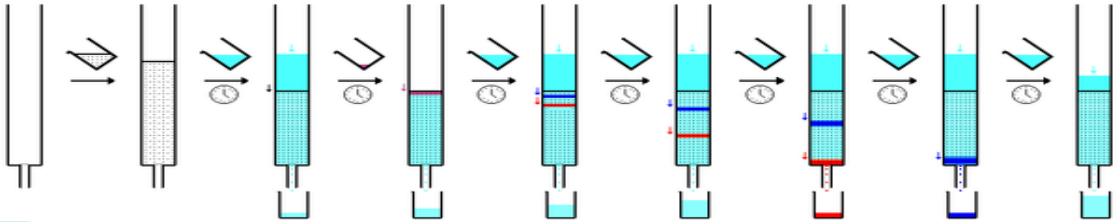
- ✓ Pached bed column
- ✓ Pached capillary column
- ✓ Open tubular column
- ✓ Membrane
- ✓ Monolith




## ❖ کروماتوگرافی ستونی:

✓ در این کروماتوگرافی عمل جداسازی در داخل یک لوله که فاز ثابت درون آن قرار دارد صورت میگیرد.

# Column Chromatography

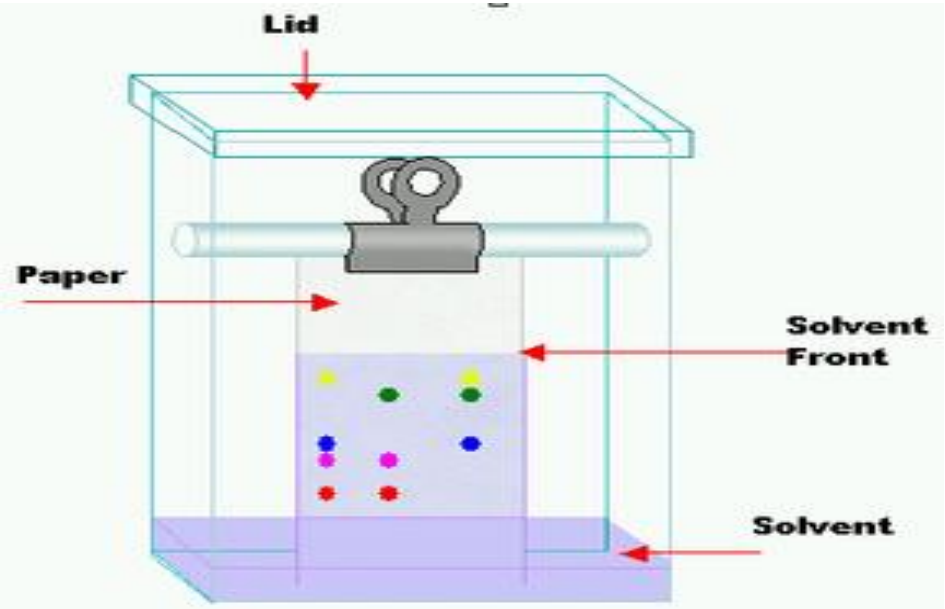


## ❖ کروماتوگرافی سطحی:

✓ در کروماتوگرافی سطحی عمل جداسازی بوسیله فاز ثابت که روی یک سطح یا کاغذ و یا یک لایه یکنواخت قرار گرفته است صورت میگیرد.

## ❖ کروماتوگرافی کاغذی:

✓ در این کروماتوگرافی لکه های کوچکی از نمونه بر روی کاغذ قرار داده میشود.این کاغذ در درون یک شیشه با دهانه بزرگ قرار داده میشود که حلال با عمق کم در آن قرار دارد.وقتی که حلال کم کم بالا می آید، با نمونه برخورد میکند و آن را جابجا میکند.چون کاغذ از سلولز و مواد قطبی تشکیل شده است، هرکدام از ترکیبات نمونه که قطبی هستند مقدار کمی جابجا میشوند و هرکدام که غیر قطبی اند از جای خود فاصله بیشتری میگیرند، بنابراین موادی که قطبی اند با سلولز واکنش میدهند.



## ❖ کروماتوگرافی لایه نازک (TLC):

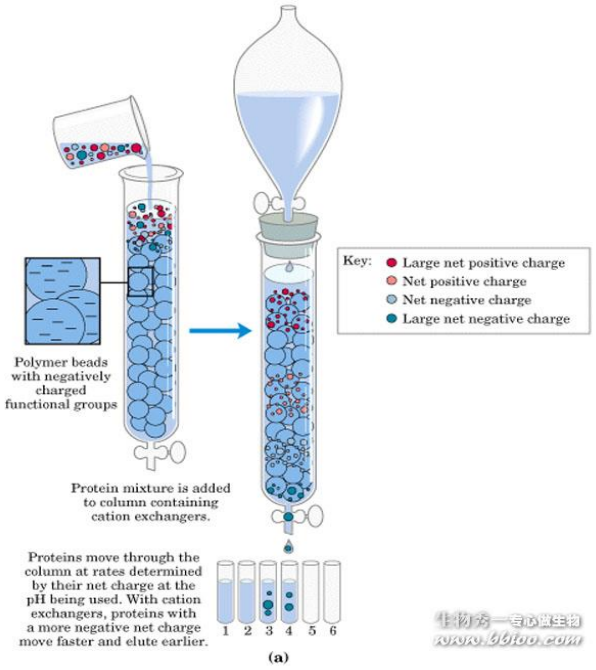
- ✓ در آزمایشگاه کاربرد زیادی دارد و عملکرد آن همانند کروماتوگرافی کاغذی است، با این تفاوت که در آن به جای کاغذ از یک لایه نازک سیلیکا یا آلومینا و...استفاده میشود.
- ✓ این نوع در مقایسه با کروماتوگرافی کاغذی از سرعت بیشتر، جداسازی بهتر و دقیق تر برخوردار است.

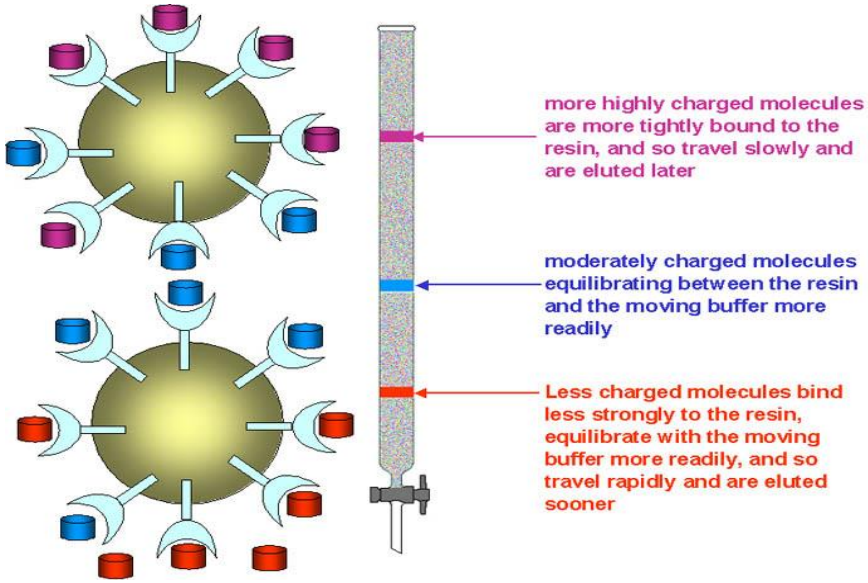
## ❖ از مهم ترین تکنیکهای جداسازی در ستون کروماتوگرافی عبارتند از:

- ✓ کروماتوگرافی تبادل یونی
- ✓ کروماتوگرافی فاز معکوس
- ✓ کروماتوگرافی هیدروفوبی (آبگریز)
- ✓ کروماتوگرافی تمایلی
- ✓ کروماتوگرافی ژل

## ❖ کروماتوگرافی تعویض یونی: (Ion exchange chromatography)

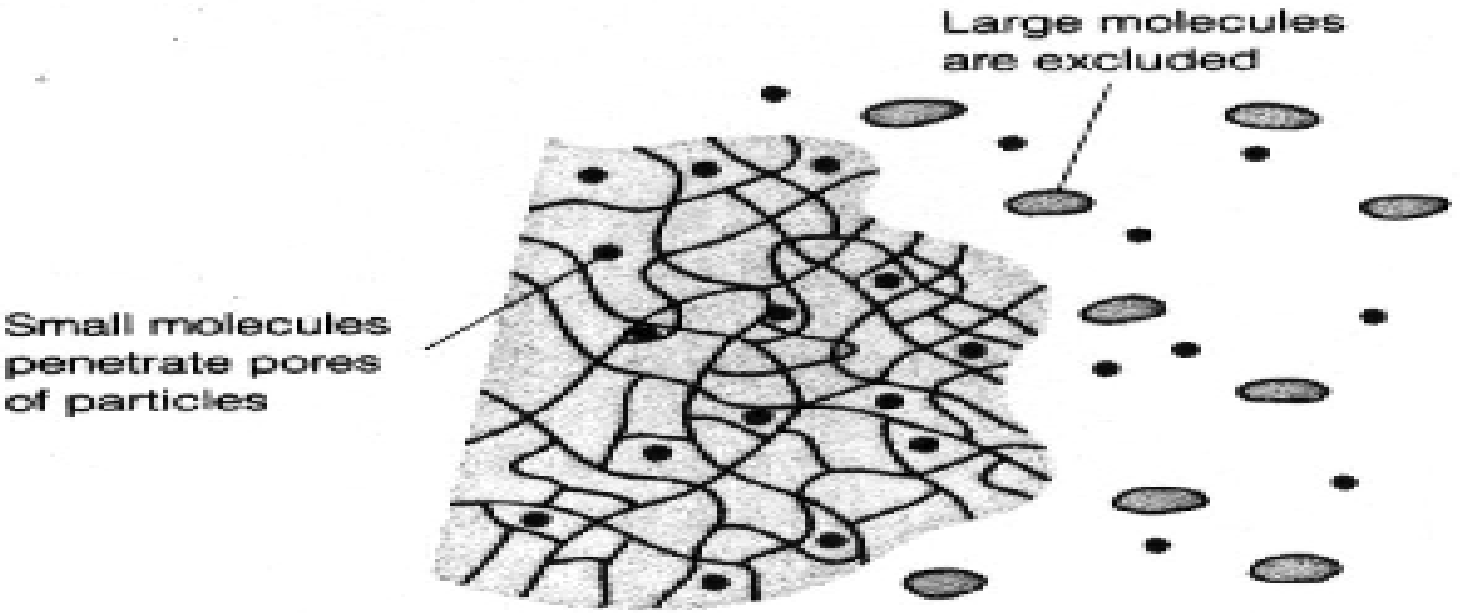
- ✓ از مکانیسم تعویض و تبدیل یونی جهت جداسازی آنالیتها استفاده میشود.
- ✓ در این نوع کروماتوگرافی از یک فاز ثابت باردار استفاده میشود که بتواند ترکیباتی چون پروتئینها، آمینواسیدها و پپتیدها را جداسازی کند.
- ✓ در گذشته از رزینهای باردار نیز جهت ایجاد پیوند با ترکیبات یونی استفاده میشده است.این رزینها با گروههای باردار واکنش داده و آنها را جذب می کردند.



## ❖ کروماتوگرافی ژل: (Gel permeation chromatography)

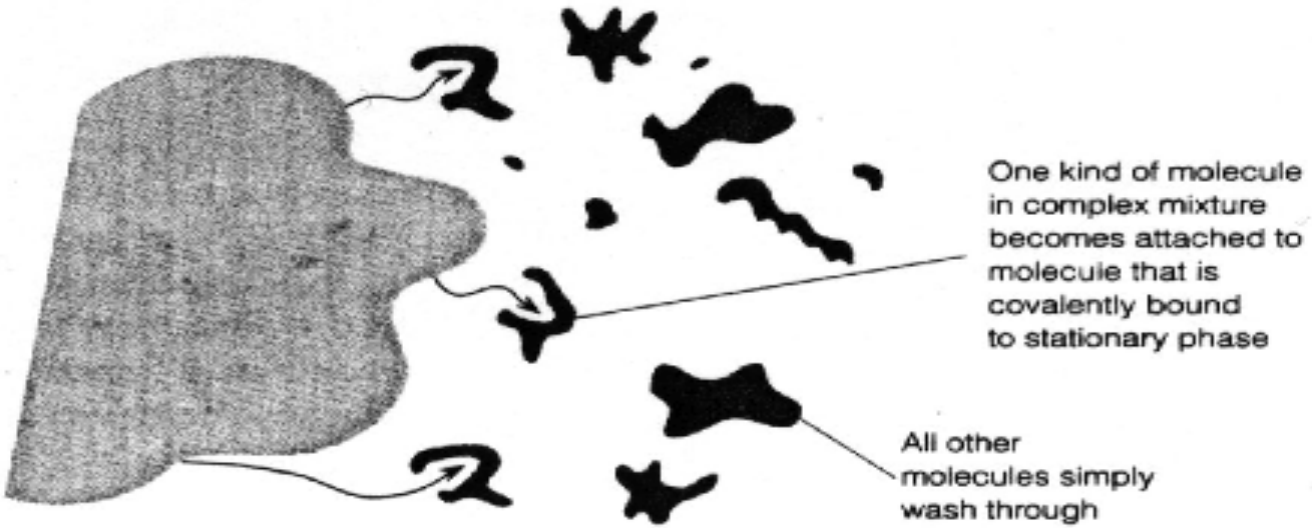
- ✓ در این روش ملکولهای مختلف نمونه بر حسب اندازه و شکل و به بیان دقیق تر بر اساس تفاوت قطر هیدرودینامیکی یا حجم هیدرودینامیکی خود جداسازی میشوند.
- ✓ ملکولهای کوچک به درون خلل و فرج نفوذ کرده و مدت زمان بیشتری جهت خروج آنها از ستون لازم است، بالعکس ذرات درشت تر به دلیل بزرگی اندازه با حلال به سرعت از ستون خارج میشوند.




Molecular exclusion chromatography

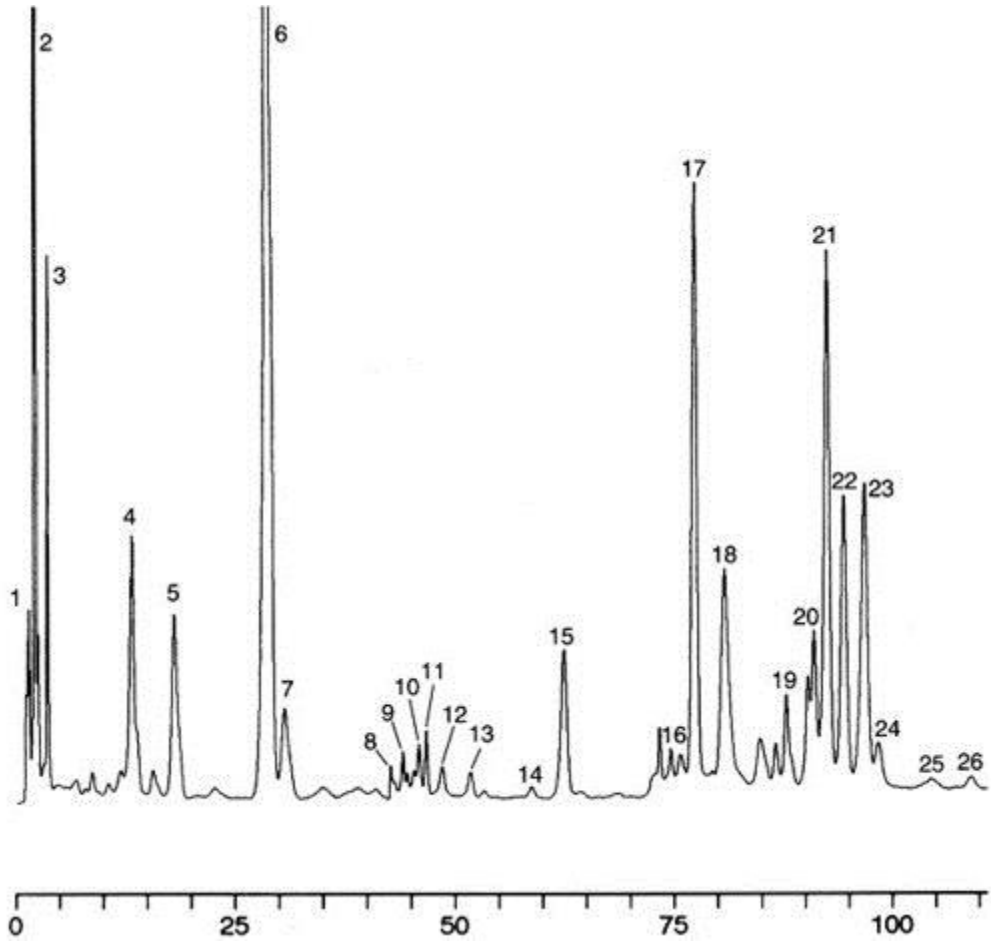
## ❖ کروماتوگرافی تمایلی: (Affinity chromatography)

- ✓ تمایل دو ملکول مختلف به یکدیگر اساس کروماتوگرافی تمایلی است.
- ✓ یکی از این ملکولها لیگاند است که بر روی فاز جامد تثبیت میشود و ملکول دیگر اغلب با وزن ملکولی بیشتر نسبت به لیگاند بوده که هنگام عبور از ستون جذب لیگاند میشود.
- ✓ در بسیاری موارد کروماتوگرافی تمایلی یک روش بسیار توانمند محسوب میشود.هنگامیکه مخلوطی از مواد مختلف وجود دارد و تنها یک جزء آن پروتئین است، برای تخلیص آن از این روش استفاده میشود.
- ✓ قدرت جذب میان لیگاند و آنالیت بسیار مهم است.اگر این میزان جذب ضعیف باشد، پیوند صورت نمی گیرد و اگر با قدرت بالایی انجام شود، جداسازی آنالیت در پایان کروماتوگرافی مشکل میشود و باید از حلالهای قوی استفاده نمود.




Affinity chromatography

| ماکروملکول متصل به لیگاند | لیگاند |
| --- | --- |
| آنتی ژن، ویروس، سلول | آنتی بادی |
| آنزیم( لیگاندها اغلب سوبسترا و یا کوعامل هستند) | مهارکننده |
| پلی ساکاریدها، گلیکوپروتئین، گیرنده سطح سلول،پروتئین غشایی سلول | لکتین |
| پیوند اسید نوکلئیک به پروتئین (آنزیم یا هیستون) | اسید نوکلئیک |
| گیرنده، پروتئین حامل | هورمون، ویتامین |
| لکتین، آنزیم یا گلوکزهای دیگر پیوند یافته به پروتئین | قند (گلوکز) |




Chromatogram

**Sample Points**

1.PER
2.TAU
3.PETN
4.THR
5.GLU
6.GLY
7.ALA
8.MET
9.CYST
10.ILE
11.LEU
12.TYR
13.PHE
14.BALA
15.BABA
16.TRP
17.EIN
18.NH3
19.ORN
20.LYS
21.1 ME-HIS
22.HIS
23.3 ME-HIS
24.ANS
25.CARN
26.ARG

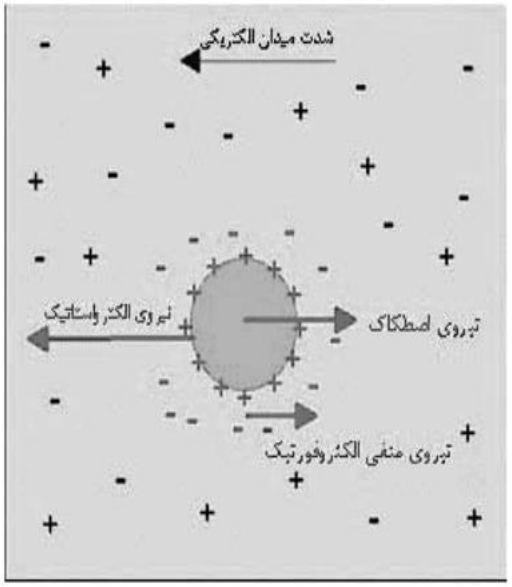
**Analysis Conditions**

- Column: Transgenomic Lithium Amino Acid Column (for 63/7300 Systems)
- Flow ate: 0.333 mL/min
- Temperature: 32.5-63-80°C
- Pressure: 1200 PSIG
- Detector: Fluorescence
- Injection: 20 µL

## ❖ فاکتورهای موثر بر افزایش دقت و تفکیک پذیری:

- ✓ افزایش طول ستون
- ✓ کاهش قطر ستون
- ✓ کاهش سرعت جریان
- ✓ ستون انباشته یکنواخت
- ✓ افزایش یکنواختی فاز ثابت
- ✓ کاهش اندازه نمونه
- ✓ انتخاب فاز ثابت مناسب
- ✓ انتخاب فاز متحرک مناسب
- ✓ استفاده از شرایط فیزیکی مناسب (دما و فشار)
- ✓ استفاده از سیستم شستشوی یکنواخت

# الکتروفورز




- الکتروفورز تحت عنوان مهاجرت یونها تحت تاثیر میدان الکتریکی اعمال شده تعریف میشود.
- الکتروفورز از این جهت به ته نشینی شبیه است که در هر دو تکنیک ، ملکولهای حل شونده تحت تاثیر یک میدان خارجی حرکت میکنند ولی الکتروفورز اساسا به بار ملکول و نه به جرم ملکولی آن بستگی دارد.
- الکتروفورز تکنیک مناسبی برای جدا کردن پروتئینها و ماکروملکولهای دیگر در یک مخلوط به شمار میرود.
- در میدان الکتریکی E، نیروی وارده بر ملکولهای حل شونده باردار برابر است با ezE که در آن e بار الکتریکی و z تعداد بارهای روی ملکول است. شبیه به ته نشین سازی بلافاصله پس از اعمال میدان خارجی، یونهای حل شونده برای مدت زمان کوتاهی شتاب میگیرند ولی پس از اینکه نیروی الکترواستاتیک بوسیله نیروی اصطکاک اعمال شده توسط حلال به توازن رسید، حالت پایا بوجود می آید و در این حالت یونها با سرعت ثابت v در میدان الکتریکی به حرکت خود ادامه میدهند.در این حالت خواهیم داشت ⇐ $F = ezE = fv$
- و اگر ذره حل شونده کروی باشد ⇐ $ezE = 6\pi\eta rv$

- پس خواهیم داشت:

$$v = \frac{ezE}{f} = \frac{ezE}{6\pi\eta r}$$

- با تعریف تحرک الکتروفورزی ( u ) بصورت سرعت در واحد میدان الکتریکی میتوان نوشت:

$$u = \frac{v}{E} = \frac{ze}{f} = \frac{ze}{6\pi\eta r} \qquad \frac{\frac{cm}{sec}}{\frac{volt}{cm}}$$

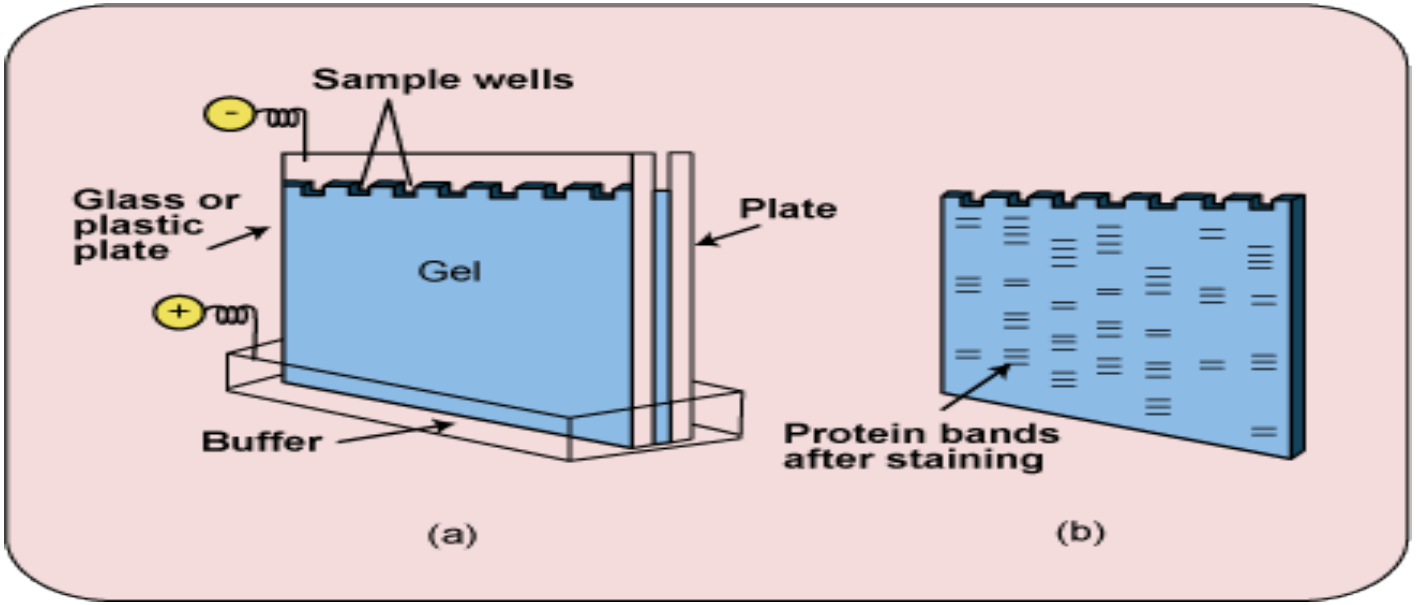
- واحد تحرک الکتروفورزی، $cm^2.V^{-1}.sec^{-1}$ است.با توجه به معادله فوق میتوان دید که حرکت یک یون بطور مستقیم بستگی به بار آن دارد و بطور معکوس با اندازه یون و ویسکوزیته محیط متناسب است.

---

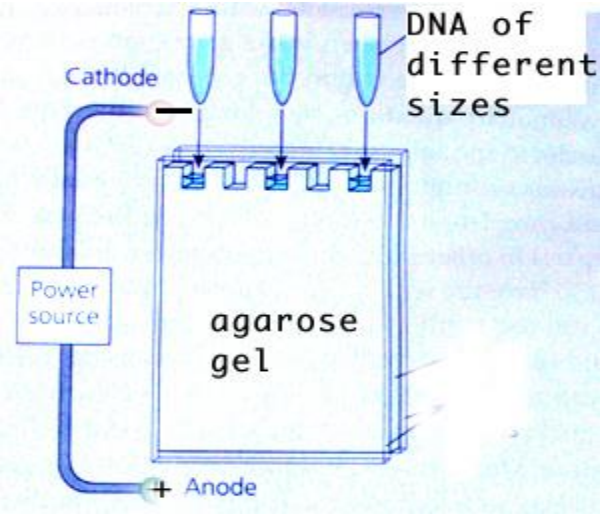
- **الکتروفورز نتایج خوبی در جداسازی ماکروملکولها نشان میدهد، ولی در پیش بینی و مطالعه ساختار ماکروملکول در مقایسه با روشهایی نظیر ته نشینی کارایی کمتری دارد.**
- اگر برایند بار ملکول صفر شود (نقطه ایزوالکتریک) تحرک الکتروفورتیکی آن صفر میشود.در pH های پایین تر از pH ایزوالکتریک بار ملکول مثبت و در نتیجه در میدان به سمت الکترود منفی حرکت میکند.در pH های بالاتر از pH ایزوالکتریک بار ملکول منفی و جهت حرکت آن به سمت الکترود مثبت است.پس میتوان عنوان کرد که الکتروفورز روش مناسبی برای تعیین نقطه ایزوالکتریک است.

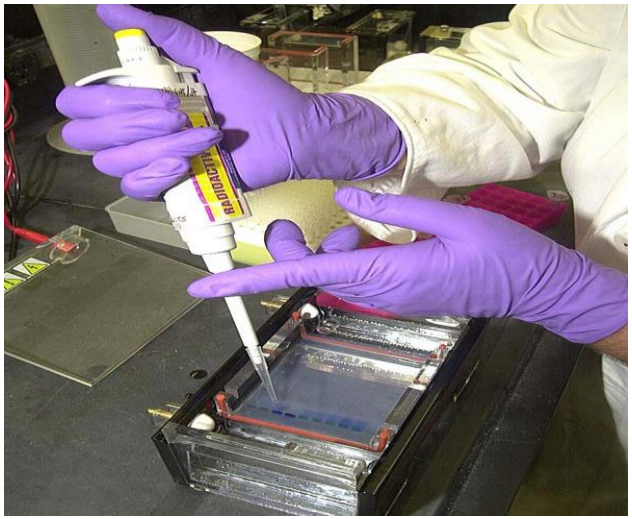
## الکتروفورز ژل:

- از یک محیط نیمه جامد (ژل) به عنوان فاز ثابت استفاده می‌شود. این نوع الکتروفورز برحسب نوع ژل به کار گرفته شده به دو نوع الکتروفورز ژل پلی‌اکریل آمید (PAGE) و الکتروفورز ژل آگارز تقسیم می‌شود.
- الکتروفورز PAGE دارای قدرت تفکیک بسیار بالائی بوده و برای تفکیک پروتئین ها و اسید های نوکلئیک به کار گرفته می‌شود. به منظور بررسی پروتئین ها با استفاده از PAGE، به سبب اینکه پروتئین ها دارای بار مختلف هستند، معمولاً برای اینکه تفکیک فقط براساس وزن مولکولی انجام شود، به بافر ماده شیمیائی SDS(سدیم دو دسیل سولفات ) اضافه می‌شود. SDS مولکول بزرگی با بار منفی می‌باشد. این ماده باعث واسرشت شدن پروتئین ها شده و به آنها متصل می‌شود. به ازای هر دو اسید آمینه، یک مولکول SDSبه پروتئین متصل می‌شود که باعث القاء بارمنفی متناسب با وزن مولکولی به پروتئین می‌شود. هر چه غلظت پلی اکریل آمید بیشتر باشد قدرت تفکیک ژل بیشتر خواهد بود و مولکول های دارای وزن مولکولی نزدیک به هم را بهتر تفکیک می‌نماید.



- برای تفکیک اسیدهای نوکلئیک در صورت امکان از ژل آگارز استفاده می‌شود. تهیه ژل مزبور به مراتب سریعتر وآسانتر از ژل پلی اکریل آمید بوده و هزینه کمتری را در بر می‌گیرد. معمولاً برای تفکیک قطعات بزرگ DNA (بزرگتر از ۵۰۰ جفت باز) در صورتیکه هدف صرفاً بررسی کیفی و تفکیک باشد، استفاده از ژل آگارز انتخاب اول است.
- برای تفکیک قطعات کوچک DNA دو رشته‌ای و قطعات DNA تک رشته‌ای از ژل پلی اکریل آمید استفاده می‌شود.
- قدرت تفکیک ژل های مزبور ارتباط مستقیمی با غلظت آنها دارد. برای مثال، برای تفکیک قطعاتی به اندازه ۱۰۰ جفت باز از آگاروز ۳٪ و برای قطعات حدود ۲۰۰۰ جفت باز از آگارز ۰/۸ ٪ استفاده می‌شود. در صورتیکه نیاز به تفکیک DNA به صورت تک رشته‌ای باشد، از مواد واسرشت کننده نظیر اوره، فرمالدهید یا فرمامید در ژل هم‌زمان با الکتروفورز استفاده می‌شود. به این نوع ژل ها، ژل واسرشت کننده می‌گویند. چنین ژل هائی پیچ و تاب های اسید های نوکلئیک را از هم باز کرده و بنابراین تفکیک مولکول ها فقط براساس طول و نه ساختار دوم انجام می‌شود. در این ژل ها مولکول های کوچک‌تر در مقایسه با مولکول های بزرگ‌تر سریعتر حرکت کرده و مسافت بیشتری را طی می‌کنند.
- **از روش PAGE برای بررسی جهش‌ها و تعیین توالی دی‌ان‌ای استفاده می‌شود.**



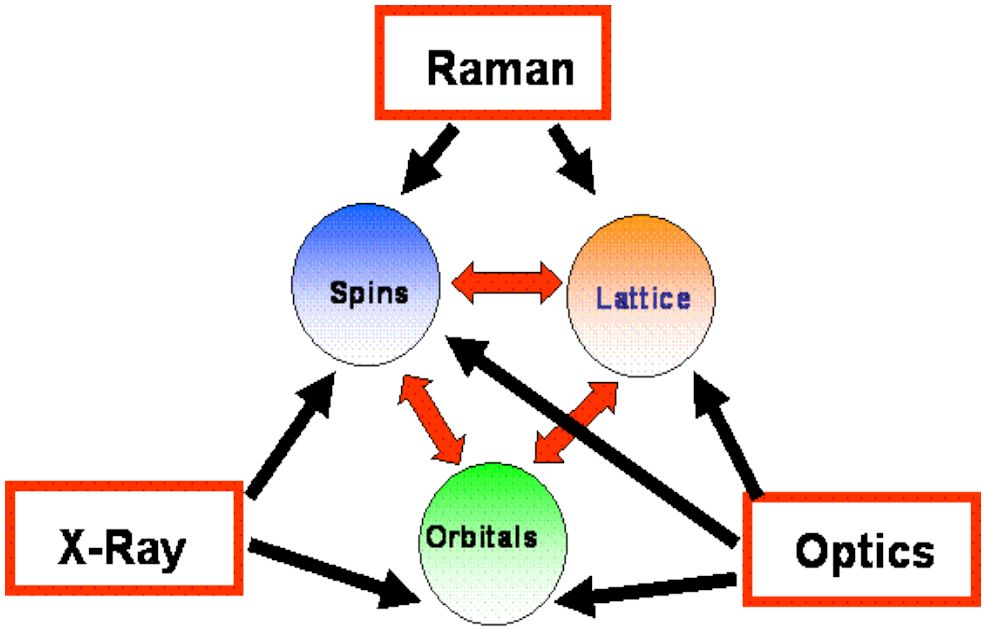



# عوامل موثر بر حرکت ملکولها در میدان الکتروفورز

- **شدت بار الکتریکی:** هرچه بار الکتریکی ملکولها بیشتر باشد، حرکت سریع تر خواهد شد.
- **ولتاژ جریان الکتریکی:** با افزایش اختلاف پتانسیل بین دو قطب، ملکولها سریع تر حرکت میکنند.
- **حجم ملکولها:** ملکولهای درشت تر، آهسته تر حرکت میکنند.
- **ویسکوزیته محیط:** ملکولها در محیطی که چسبندگی آن زیاد باشد، آهسته حرکت میکنند.
- **شکل ملکولها:** ملکولها با شکل منظم سریع تر و با شکل نا منظم کند تر حرکت میکنند.
- **دما:** افزایش دما باعث افزایش سرعت حرکت ملکولها میشود ولی باید دناتوره شدن پروتئینها را نیز در نظر گرفت.

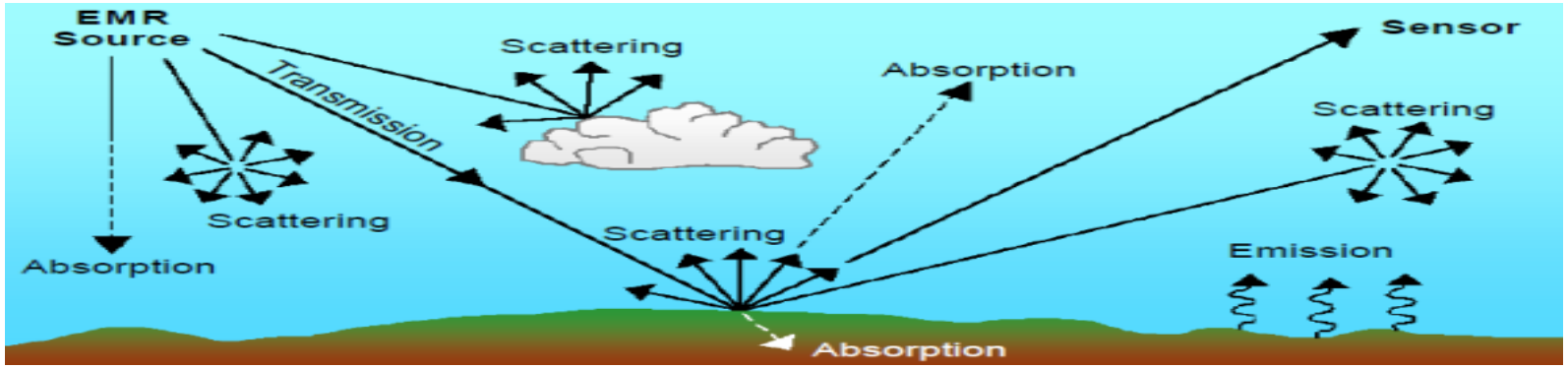
# Spectroscopy طیف سنجی

- برای مطالعه ساختار ماکروملکولهای حیاتی روشهای متفاوتی بکار میرود که البته هیچیک به تنهایی شناخت کاملی از آن را در اختیار قرار نخواهد داد.
- بکارگیری روشهای مختلف میتواند توصیف نسبتا صحیحی از ساختار ماکروملکول ارائه دهد.
- روشهای طیف سنجی از مهمترین روشهای مطالعه ساختار ماکروملکولهاست.
- به عنوان مثال میتوان به فلورسانس ، ESR ( رزونانس مغناطیسی الکترون) و NMR (رزونانس مغناطیسی هسته) و... اشاره کرد. روشهایی مانند طیف سنجی CD، ORD، UV، IR و رامان برای تعیین ساختار دوم نظیر مقدار مارپیچها در یک پروتئین یا اسید نوکلئیک بکار میروند.



# اسپکتروسکوپی

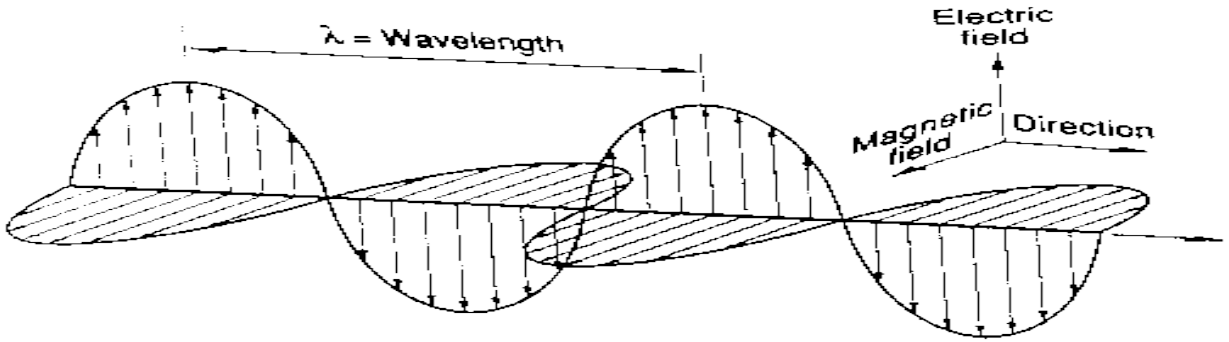
- **اسپکتروسکوپی عبارتست از مطالعه میان کنش بین ماده و تابش الکترومغناطیس بدون آنکه اثرهای شیمیایی ماده درنظر گرفته شود.**
- پرتو الکترومغناطیس، طیف وسیعی از طول موجها ( انرژی و فرکانس) را دربرمی گیرد که از یک سو امواج رادیویی با طول موج 0.1 متر و از سوی دیگر پرتو گاما با طول موج $10^{-11}$ متر است. در این محدوده طول موج پرتوهای متعددی هستند که در اثر برخورد با ماده، حالت های فیزیکی و شیمیایی متفاوتی ایجاد می کنند. برخورد پرتو با هرنوع طول موجی ( با خاصیت انرژتیک و فرکانس متفاوت) یک سری اطلاعات ویژه در اختیار پژوهشگران قرار میدهد. برای مثال پرتو مایکروویو($\lambda \approx 10^5$-$10^6$ nm ) موجب چرخش ملکول، پرتو فروسرخ ( $\lambda \approx 10^3$-$10^5$ nm ) موجب ارتعاش ملکول، پرتو الکترونی ($\lambda \approx 10$-$10^3$ nm ) موجب تهییج الکترونی و پرتو گاما ( $\lambda \leq 1$ nm ) موجب تهییج هسته ای می شود. برای مطالعه هریک از این خواص، دستگاه ویژه ای نیاز است تا بتوان طیف برخورد پرتو با ماده را بدست آورد.




- بطورکلی برخورد نور با ماده به سه دسته تقسیم میشود: ۱- جذب (Absorption) ۲- نشر (Scattering) ۳- پخش (Emission)
- در اثر برخورد پرتو الکترومغناطیس با ماکروملکولهای حیاتی، میتوان مطالعات ساختمانی و نقش محیط، همچنین مطالعات دینامیک و انرژیتیک ماکروملکولها را در محیط مائی بررسی کرد.
- ملکولها نور را جذب میکنند و مقدار نور جذب شده و طول موجهایی که در آنها جذب صورت میگیرد، بستگی به ساختمان ملکول ها و نیز محیط پیرامون آنها دارد. بهمین دلیل اسپکتروسکوپی ابزار مفیدی برای شناسایی ساختمان و محیط اطراف ملکولها و ماکروملکولها محسوب میشود.

## ❖ تئوری جذب نور توسط ملکولها:

- ✓ نور از میدانهای الکتریکی و مغناطیسی نوسان کننده سینوسی عمود برهم تشکیل شده است که بر جهت انتشارشان نیز عمودند. انرژی های مربوط به میدان الکتریکی و مغناطیسی یکسان هستند، زیرا هردوموج در فضا با طول موج و فرکانس یکسان نوسان می کنند. اثر نوری پرتو بیشتر مربوط به میدان الکتریکی آن است.
- ✓ پرتو الکترومغناطیس یک موج اریب (Transverse Wave) است و در جهتی ( بطورمثال جهت z ) که در شکل نشان داده شده است، منتشر میشود.




- ✓ انرژی میدان الکتریکی یک پدیده مکانیک کوانتومی است که از رابطه $E=h\nu=hc/\lambda$ بدست می آید. h ثابت پلانک، c سرعت نور در خلاء ، $\lambda$ طول موج و $\nu$ فرکانس موج نورانی است. وقتی چنین موجی به یک ملکول برخورد میکند ممکن است متفرق شود، جذب شود و یا بدون جذب عبور کند. **احتمال وقوع هریک از این فرایندها بستگی به خواص ملکول دارد.**

- اگر انرژی الکترومغناطیس نور جذب شود، ملکول برانگیخته میگردد.ملکول و یا بخشی از ملکول که در اثر جذب نور برانگیخته میشود، کروموفور نام دارد.
- در اثر فرایند جذب، شدت نور عبورکرده از محلول کروموفورها کمتر از شدت نور تابیده شده اولیه خواهد بود.
- یک ملکول برانگیخته میتواند یکی از سطوح انرژی برانگیخته را دارا باشد. این سطوح انرژی، سطوح انرژی الکترونی نامیده میشوند که بر روی آنها سطوح انرژی ارتعاشی بر روی یکدیگر چیده شده اند و بر روی سطوح انرژی ارتعاشی نیز سطوح انرژی چرخشی قرار گرفته اند. اگر پرتو فرابنفش و یا مرئی باشد، سطوح انرژی الکترونی تغییر می کنند و در اصطلاح تهییج میشوند. پرتو فروسرخ موجب تغییر سطوح انرژی ارتعاشی میشود و پرتو مایکروویو سطوح انرژی چرخشی را تغییر میدهد.
- پایین ترین سطح الکترونی ، حالت پایه و دیگر سطوح الکترونی ، سطوح برانگیخته نامیده میشوند.

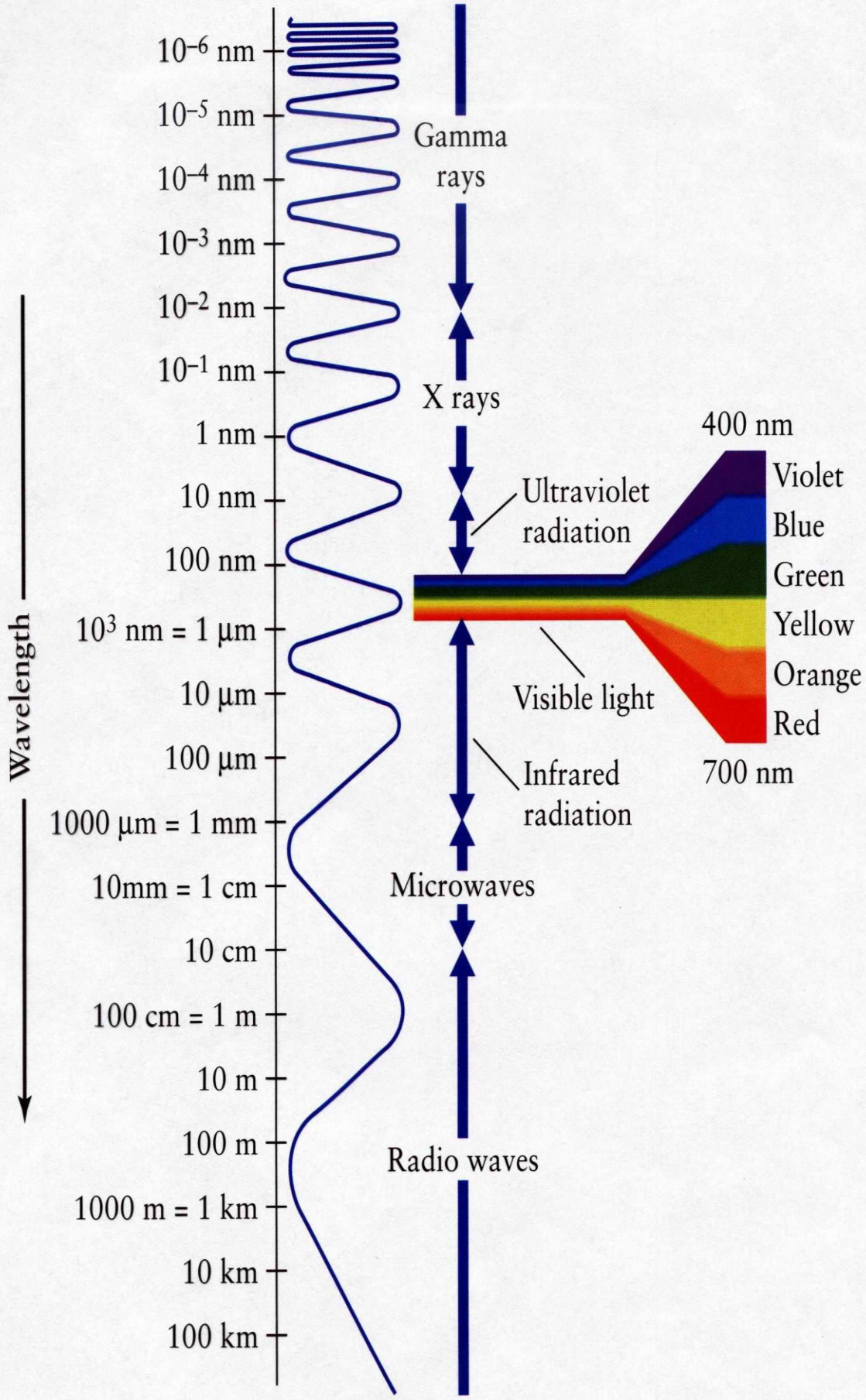
- جذب انرژی توسط ماده وقتی بیشترین احتمال را دارد که مقدار انرژی جذب شده برابر با اختلاف دو سطح انرژی باشد. پس میتوان گفت که اگر نوری با طول موج $\lambda$ به ماده بتابد تنها وقتی جذب خواهد شد که طول موج آن از رابطه زیر تبعیت کند:

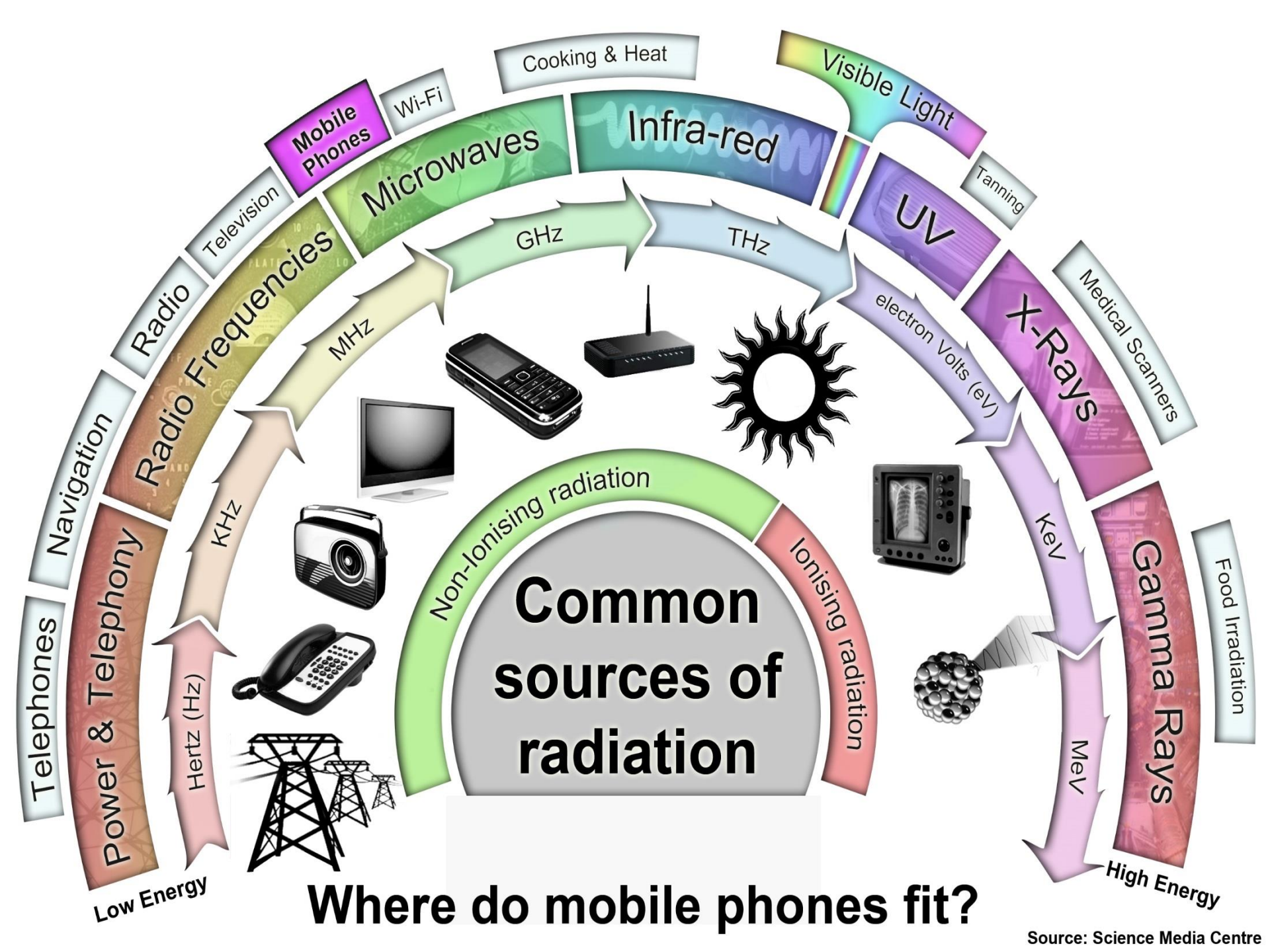
$$\lambda = \frac{hc}{E_2 - E_1}$$

- در این معادله $E_1$ سطح انرژی ملکول قبل از جذب و $E_2$ سطح انرژی ملکول بعد از جذب نور میباشد.

- تغییر در سطوح انرژی انتقال نامیده میشود. نموداری که نشان دهنده احتمال جذب در مقابل طول موج است ، طیف جذبی نام دارد.

- از تفاوت های موجود در طیف جذبی ملکولهای بیولوژیک غالبا میتوان برای شناسایی آنها استفاده نمود.

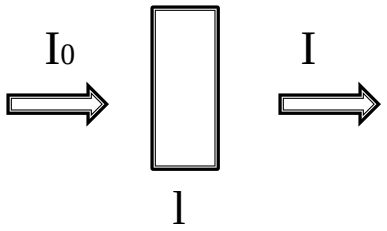

Wavelength
$10^{-6}$ nm
$10^{-5}$ nm
$10^{-4}$ nm
$10^{-3}$ nm
$10^{-2}$ nm
$10^{-1}$ nm
1 nm
10 nm
100 nm
$10^3$ nm = 1 µm
10 µm
100 µm
1000 µm = 1 mm
10mm = 1 cm
10 cm
100 cm = 1 m
10 m
100 m
1000 m = 1 km
10 km
100 km
Gamma rays
X rays
Ultraviolet radiation
Visible light
Infrared radiation
Microwaves
Radio waves
400 nm
Violet
Blue
Green
Yellow
Orange
Red
700 nm


Common sources of radiation
Non-Ionising radiation
Ionising radiation
Telephones
Navigation
Radio
Television
Mobile Phones
Wi-Fi
Cooking & Heat
Visible Light
Tanning
Medical Scanners
Food Irradiation
Power & Telephony
Radio Frequencies
Microwaves
Infra-red
UV
X-Rays
Gamma Rays
Hertz (Hz)
KHz
MHz
GHz
THz
electron Volts (eV)
KeV
MeV
Low Energy
High Energy
Where do mobile phones fit?
Source: Science Media Centre

## ❖ قانون بیر-لامبرت:

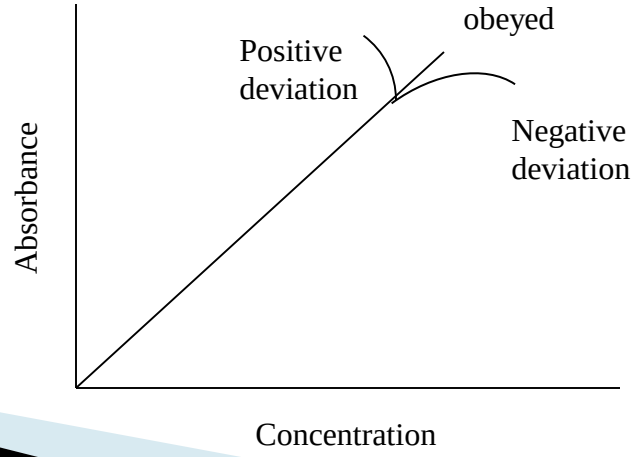
✓ براساس قانون بیر-لامبرت، مقدار نور جذب شده ( A) (ابزوربانس یا دانسیته اپتیک) توسط یک محلول کروموفور بستگی به ماهیت شیمیایی کروموفور ($\boldsymbol{\varepsilon}$)، غلظت کروموفور ( c) و طول مسیر عبور نور( l) از درون محلول حاوی کروموفور دارد.

$$(A) = \log \frac{I0}{I} = \varepsilon lc$$




✓ در آن $I_0$ شدت نور ورودی، I شدت نورعبورکرده، l طول مسیر عبور نوربرحسب سانتی متر، c غلظت کروموفور و $\boldsymbol{\varepsilon}$ ضریب جذب می باشد. **بسته به واحد غلظت ، واحد ضریب جذب متفاوت خواهد بود**. اگر واحد غلظت برحسب گرم بیان شود، $\boldsymbol{\varepsilon}$ را ضریب جذب ویژه می گویند.معمولا غلظت برحسب واحد مولار بیان میشود و در اینصورت $\boldsymbol{\varepsilon}$ را ضریب جذب مولی می نامند و واحد آن $Lit.mol^{-1}.cm^{-1}$ خواهد بود.

✓ نمودار تغییرات جذب بر حسب غلظت خط راستی خواهد بود با شیب برابر با $\boldsymbol{\varepsilon l}$ که معمولا در غلظت های بیش از 0.5M دچار خمیدگی و انحراف خواهد شد.



- دلائل زیادی برای انحراف از قانون بیر–لامبرت وجود دارد.مثلا ممکن است با افزایش غلظت محلول ملکولهای زیادی تشکیل دایمر، اولیگومر و یا پلی مر دهند و طیف جذبی دایمرها و یا دیگر گونه های ملکولی ممکن است با طیف جذبی مونومرها متفاوت باشد.این اثر ممکن است موجب انحراف مثبت و یا منفی از قانون بیر–لامبرت شود.
- **طول موج خاصی که در آن ضریب جذب گونه های حاضر مستقل از غلظت است را نقطه ایزوبستیک می نامند.در این نقطه ضریب جذب گونه های درگیر در تعادل باهم برابر است.**
- همچنین در غلظتهای بالا ممکن است تجمع روی دهد.تجمعات ملکولی غالبا موجب تفرق نور شده و با کاستن مقدار نور عبور کرده از نمونه موجب انحراف مثبت از قانون بیر–لامبرت میشوند.این تجمعات همچنین ممکن است موجب میان کنشهای الکترونی شوند که باعث کاهش یا افزایش ضریب جذب شوند.از دلائل دیگر انحراف از قانون بیر–لامبرت، غیرطبیعی شدن پروتئین ها در غلظتهای پایین و واکنشهای شیمیایی در غلظتهای بالاست.
- اگر طول مسیر عبور نور 1cm باشد، غالبا به جای A از اصطلاح چگالی نوری (OD) استفاده میشود.

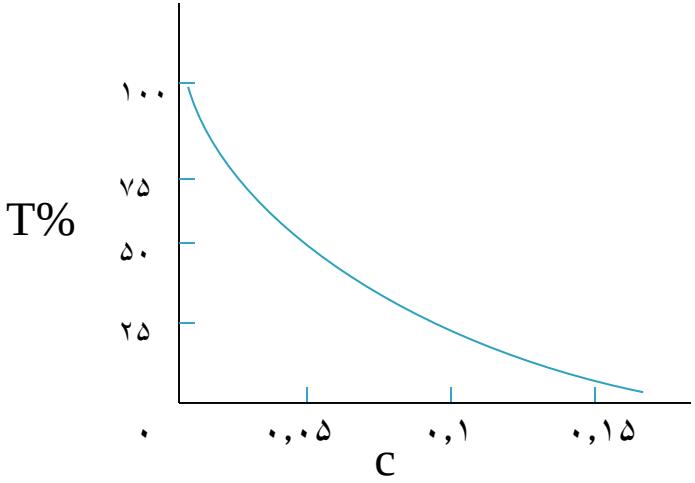
- پارامتر مفید دیگر عبور نور( T=Transmitted) است که به صورت $T=I/I_0$ تعریف میشود:

$$A = \log \frac{I0}{I} \quad , \quad \frac{I0}{I} = \frac{1}{T} \Rightarrow A = \log \frac{1}{T} = -\log T$$

- معمولا T را بصورت درصد نمایش می دهند و رابطه زیر بین A و T وجود دارد:

$$A = 2 - \log T$$

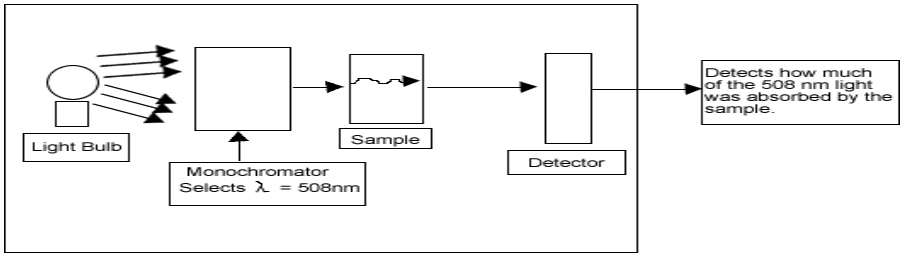
- رابطه T و غلظت به شکل زیر است:




- در غلظتهای کم کروموفور، درصد نور عبور کرده بیشتر است و با افزایش غلظت کروموفور از میزان نور عبورکرده کاسته میشود.

❖ **دستگاه اندازه گیری جذب نورمرئی و ماوراءبنفش:**

- اندازه گیری جذب بوسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر انجام میشود.
- همه اسپکتروفوتومترها شامل منبع نورانی برای تولید نور، مونوکروماتور(تک فام ساز) برای انتخاب طول موج، سل یا کووت شفاف جهت نگهداشتن محلول نمونه، آشکارساز نوری برای تبدیل انرژی نورانی به انرژی الکتریکی و ثبت کننده برای ثبت خروجی آشکارساز می باشند.



- در هر طول موج نور عبور کرده از حلال(که ممکن است بافر و یا محلولی از ملکولهای کوچک باشد) و نیز نور عبور کرده از محلول حاوی نمونه که در حلال حل شده است، اندازه گیری میشود.سپس مقدار نور عبور کرده از حلال از مقدار نور عبور کرده از محلول کسر میگردد تا میزان جذب حل شونده (کروموفور) بدست آید.
- در عمل کسر کردن جذب حلال از جذب نمونه به طریق جبری انجام نمیشود بلکه دستگاه طوری تنظیم میشود که جذب حلال را صفر قرار دهد.به این عمل صفر کردن گویند.سپس با صفر کردن جذب حلال، جذب نمونه مستقیما اندازه گیری میشود.
- برای بدست آوردن یک طیف جذبی، این عمل در تمامی طول موجهای گسترده مورد نظر تکرار میشود.

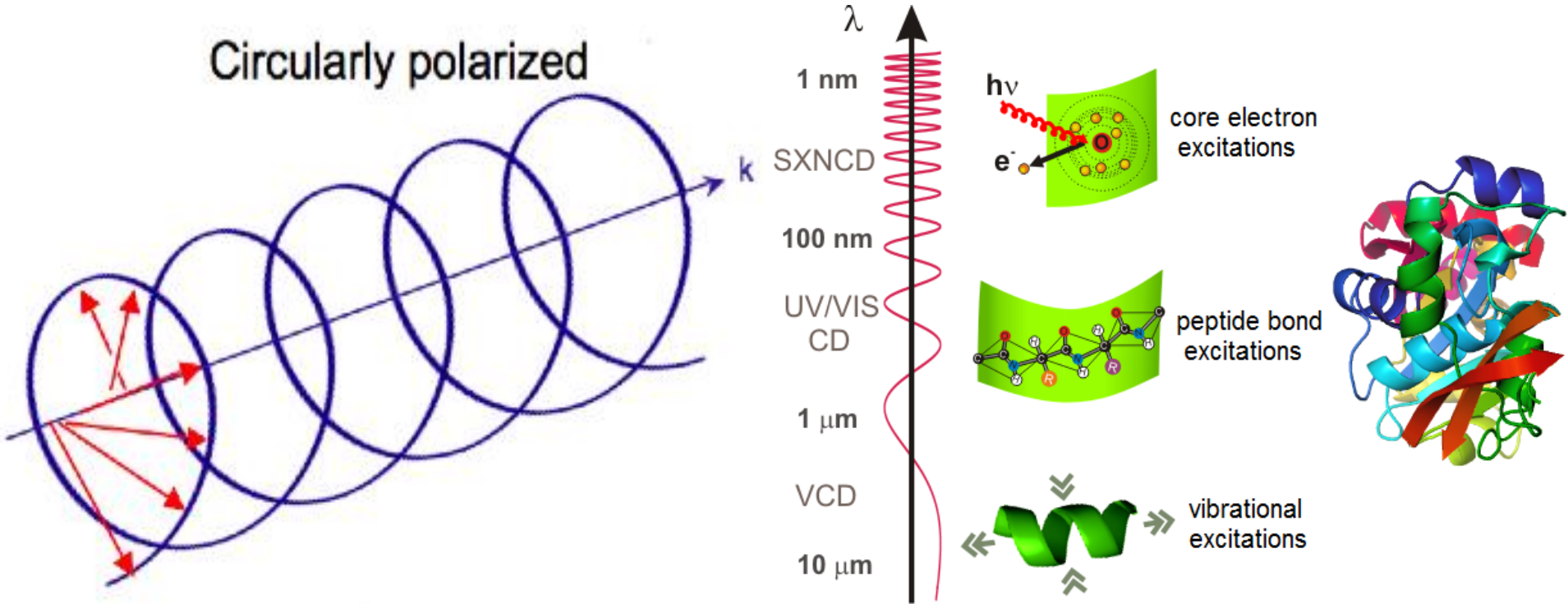
- هنگامیکه یک اتم، یون، ملکول یا ماکروملکول پرتو الکترومغناطیس را جذب کند، حالت اولیه ماده عوض شده و به حالت تحریک میرسد که به چند بخش قابل تقسیم است:
  - باعث تحریک الکترونی میشود
  - باعث تحریک ارتعاشی میشود
  - باعث تحریک چرخشی میشود
- هریک از حالتهای فوق دارای انرژی ویژه ای است که برای تحریک الکترونی بسیار بیشتر از تحریک ارتعاشی و نیز بیشتر از تحریک چرخشی است.

**انرژی تحریک چرخشی<انرژی تحریک ارتعاشی< انرژی تحریک الکترونی**

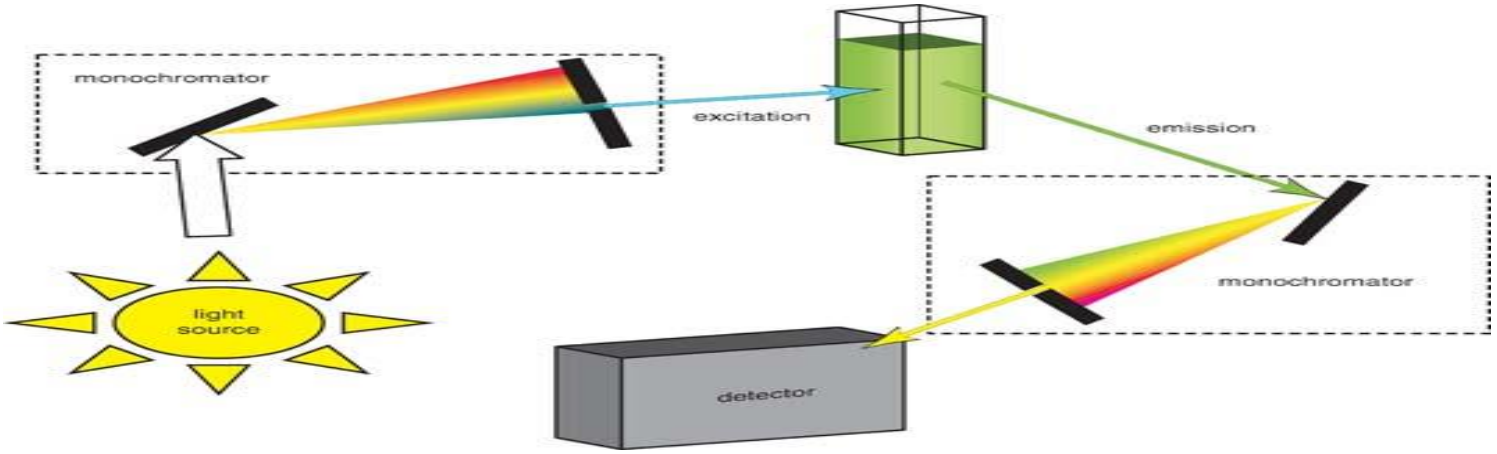
- هرچه درحالت انرژی پایین تری قرار گیریم، تجزیه بهتری از گروههای عاملی را میتوان انجام داد. از این رو با سیستم رزونانس مغناطیس هسته NMR که موجب تحریک چرخشی ملکول میشود، بهتر از سیستم فروسرخ IR که موجب تحریک ارتعاشی ملکول میشود و همچنین بهتر از سیستم فرابنفش و مرئی UV و Visible که موجب تحریک الکترونی ملکول میشود میتوان گروهها را آنالیز کرد.

- ✓ اهمیت طیف سنجی فرابنفش و مرئی این است که میتوان در شرایط مائی کارکرد و چون سیستم های زیستی به آب مربوط میشوند از این رو برای زیست شناسان ، بیوشیمیدان ها و بیوفیزیکدان ها اهمیت بسزایی دارد.
- ✓ از طرف دیگر در طیف سنجی فرابنفش و مرئی، پیکهای محدودی میتوان بدست آورد که پیچیدگی IR و NMR را ندارد. پروتئین ها و آنزیم ها سیستم های پیچیده ای هستند که در طیف سنجی فرابنفش و مرئی چند پیک محدود ایجاد می کنند، ار این رو به سهولت میتوان ماکروملکولهای پیچیده را مورد مطالعه قرار داد.

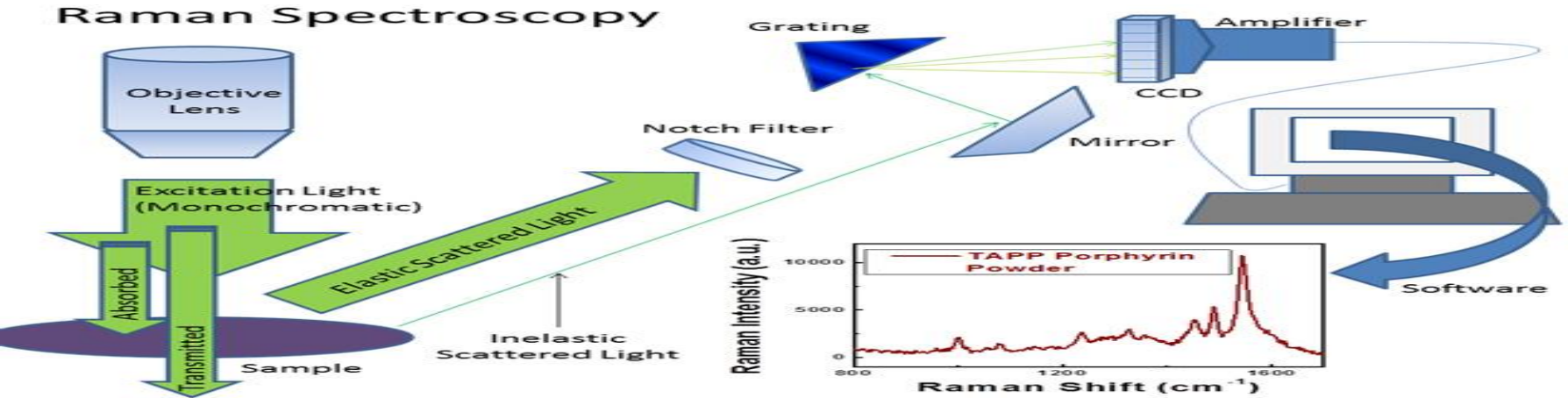
- ✓ قابل ذکر است که طیف سنجی فرابنفش و مرئی، مرکب از چندین روش و تکنیک است که مورد توجه بیوشیمیدان ها و بیوفیزیکدان ها قرار گرفته است. اگر از **مخزن نور پولاریزه فرابنفش و مرئی** استفاده شود، نتیجه استفاده از دو تکنیک **CD** و **ORD** جهت مطالعه بهتر و دقیق تر ساختمان دوم ماکروملکولها به ویژه پروتئین هاست.



- در صورتیکه از **نشر الکترونی فرابنفش و مرئی** استفاده شود، **تکنیک فلورسانس** حاصل میشود و روشی مناسب برای مطالعه ماکروملکولهای زیستی در غلظتهای کم و حساسیت زیاد است.




- **تکنیک طیف سنجی رامان، نشر ارتعاشی فروسرخ است** و برحسب اینکه در شرایط مائی کار میکند برای زیست شناسان از اهمیت ویژه ای برخوردار است. برخلاف طیف سنجی فروسرخ، تکنیک رامان **دانسیته جذب بسیار پایینی برای ملکولهای آب دارد** و میتوان به خوبی ماکروملکولهای حیاتی به ویژه پروتئینها و اسیدهای نوکلئیک را با کمک این روش مطالعه کرد.



## ❖ پارامترهای اندازه گیری شده در اسپکتروسکوپی جذبی:

- ✓ پارامترهای اندازه گیری شده معمولا (OD) و یا $\varepsilon$ می باشند.
- ✓ طول موج مربوط به پیک بیشینه جذب، $\lambda max$ نامیده میشود و معمولا $\varepsilon$ را در این طول موج اندازه گیری میکنند.

## ❖ فاکتورهای تاثیرگذار بر خواص جذبی یک کروموفور:

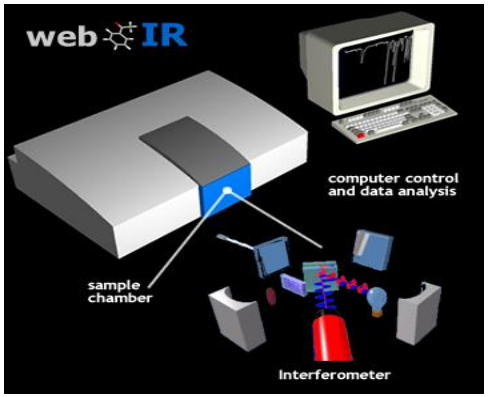
- ✓ اگرچه طیف جذبی یک کروموفوراساسا توسط ساختمان شیمیایی آن تعیین میشود ولی تعداد زیادی از فاکتورهای محیطی وجود دارند که موجب تغییرات محسوسی در $\lambda max$ و $\varepsilon$ می شوند.
- ✓ فاکتورهای محیطی شامل pH ، قطبیت حلال، قطبیت ملکولهای همسایه و جهت یابی فضایی نسبی کروموفورهای همسایه است.

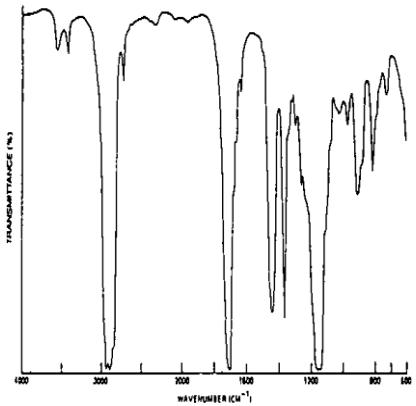
## ❖ کاربردهای طیف سنجی جذبی:

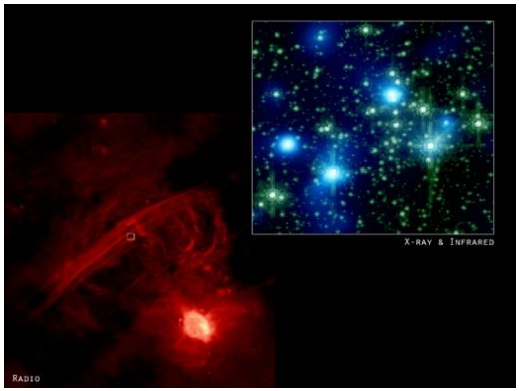
- ✓ **اندازه گیری غلظت:** مهمترین کاربرد طیف سنجی ماوراءبنفش–مرئی (UV-VIS) اندازه گیری غلظت است به شرطی که $\varepsilon$ معلوم باشد و قانون بیر–لامبرت نیز صادق باشد.
- ✓ **سنجش واکنشهای شیمیایی:** بسیاری از واکنشهای شیمیایی را میتوان به وسیله اسپکتروفوتومتری مورد سنجش قرار داد اگر لااقل یکی از مواد واکنشگر و یا محصولات در حین پیشرفت واکنش مقدار جذبش تغییر کند.
- ✓ **مطالعات ساختمانی DNA**
- ✓ **مطالعات ساختمانی پروتئین ها**

# طیف IR

- انتقال بین سطوح ارتعاشی حالت پایه در ناحیه $10^3$ تا $10^5$ نانومتر مربوط به جذب در ناحیه فروسرخ است.
- سطوح ارتعاشی و نیز طیف فروسرخ از خواص حرکتی (کشش پیوندها،خم شدن پیوندها و...) حاصل میشود.
- مقادیر طیف های فروسرخ از ارتعاش گروه های خاص مانند (CO،CN،NH،OH،SHو...) ایجاد میشود که این مقادیر به ساختمان شیمیایی، آرایش فضایی و عوامل محیطی ملکول و یا ماکروملکول بستگی دارند.
- اشعه فروسرخ دارای طول موج بسیار بلندتر از اشعه فرابنفش و مرئی است و مقدار انرژی آن بین ۲ تا ۱۰ کیلوکالری بر مول است، در حالیکه انرژی فرابنفش حدود ۱۵۰ کیلوکالری بر مول است.
- **انرژی اشعه فروسرخ موجب ارتعاش پیوندهای کووالان بین دو اتم یک ملکول میشود.**این مقدار انرژی موجب ارتعاش در پیوندهای متقارن کووالانت مانند $H_2$ و یا $CL_2$ نمیشود بلکه باید پیوندهای کووالان غیرمتقارن باشند، یعنی نیاز به قطبیت الکتریکی است تا انرژی کمتری را برای ارتعاش لازم داشته باشد.
- تغییرات قطبیت الکتریکی پیوندها با میدان حاصل از اشعه جفت شده و در نهایت موجب ارتعاش میشود.
- هر پیوندی که کمی خاصیت قطبیت الکتریکی داشته باشد، دارای فرکانس طبیعی مخصوص به خود است و مقدار متناسبی از اشعه فروسرخ را جذب میکند و بدین ترتیب طیف فروسرخ حاصل میشود که دارای پیک های گوناگون است.برعکس کروموفورهای طیف اشعه فرابنفش و مرئی محدود بوده و فقط دارای چند پیک است.
- طیف فروسرخ دارای کروموفورهای گوناگونی است و هر کروموفور متناسب با خواص خوداثر محیطی خاصی دارد و ممکن است محیط اثر چندانی بر روی یک کروموفور فروسرخ نگذارد ولی بر روی کروموفور دیگر اثر داشته و تغییرات مکانی و یا جذبی حاصل شود.
- اساس روش طیف سنجی فروسرخ بر محور نوسانات و ارتعاشات ملکولی استوار است.




- **فرکانس تشعشع الکترومغناطیس در ناحیه مادون قرمز (IR) مطابق با فرکانس ارتعاش طبیعی اتم‌های یک پیوند است** و پس از جذب امواج مادون قرمز در یک مولکول، باعث ایجاد یک سری حرکات ارتعاشی در آن می‌شود که اساس و مبنای طیف‌سنجی مادون قرمز را تشکیل می‌دهد. **ساده‌ترین نوع حرکات ارتعاشی در یک مولکول، حرکات خمشی و کششی است.**

- تقریبا تمامی ترکیباتی که پیوند کوالانسی دارند، اعم از آلی یا معدنی، فرکانس‌های متفاوتی از اشعه الکترومغناطیس را در ناحیه مادون قرمز جذب می‌کنند. ناحیه مادون قرمز، ناحیه‌ای از طیف الکترومغناطیس است که طول موجی بلندتر از نور مرئی (۴۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر) و کوتاه‌تر از امواج مایکروویو (طول موج بلندتر از ۱mm) دارد. بسیاری از شیمیدانان از واحد «عدد موجی» در ناحیه مادون قرمز طیف الکترومغناطیس استفاده می‌کنند.

- عدد موجی با واحد $cm^{-1}$ بیان شده و عبارتست از عکس طول موج با واحد سانتی متر( $1/\lambda$). مزیت این واحد این است که رابطه مستقیمی با انرژی دارد. عدد موجی را اغلب با واحد ($\nu^{-}$) و یا K نشان میدهند.
- طیف فروسرخ در محدوده پرتوی الکترومغناطیس $1400\text{-}4000cm^{-1}$ عمل میکند.

- مشابه دیگر انواع جذب انرژی، هنگامی که مولکول‌ها اشعه مادون قرمز را جذب می‌کنند، به حالت انرژی بالاتر برانگیخته می‌شود. جذب تابش مادون قرمز همانند دیگر فرایندهای جذب، فرایندی کوانتایی است. به این صورت که فقط فرکانس‌های خاصی از تابش مادون قرمز توسط مولکول جذب و باعث ارتعاش کششی و خمشی پیوندهای کوالانسی می‌شود.
- **انرژی جذب شده از نور مادون قرمز توسط پیوندهای شیمیایی یا گروه‌های عاملی خاص در طول موج مشخص، منجر به کاهش شدت عبور نور شده و معمولا به عنوان تابعی از عدد موجی (بر حسب $cm^{-1}$ ) رسم می‌شود.**

- باید توجه داشت که هر پیوند دارای فرکانس ارتعاش طبیعی خاصی است. یعنی یک پیوند خاص با جذب فرکانسی مشخص قادر به ارتعاش خمشی و کششی است. یک پیوند، به‌خصوص در دو مولکول مختلف، در محیط‌های متفاوتی از نظر اتم‌ها و پیوندهای پیرامونی خود قرار داشته و **هیچ‌گاه دو مولکول با ساختمان‌های متفاوت، طیف مادون قرمز یکسانی نمی‌دهند.** با توجه به این مطلب، از طیف مادون قرمز می‌توان همانند اثر انگشت در انسان، برای شناسایی مولکول‌ها استفاده کرد. با مقایسه طیف مادون قرمز دو ماده که تصور می‌شود مشابه باشند، می‌توان پی برد که آیا واقعا یکی هستند یا خیر. اگر تمام جذب‌ها در طیف دو نمونه بر یکدیگر منطبق شوند، به احتمال قریب به یقین، دو ماده یکسان هستند.این منطقه به finger printing مشهور است و پیک ها در محدوده $600\text{-}1400cm^{-1}$ قرار دارند.

## ❖ روش تجربی و دستگاهی طیف سنجی فروسرخ

- اساس دستگاهی طیف سنجی فروسرخ تفاوت زیادی با طیف سنجی فرابنفش و مرئی ندارد.منبع تولید اشعه شیئی است که به آن ۱۵۰۰ تا ۱۸۰۰ درجه کلوین حرارت میدهند و آشکارساز آن ترموکوپل است.
- مهمترین مشکل تجربی دستگاه برای مطالعه ماکروملکولهای حیاتی این است که برخلاف طیف فرابنفش و مرئی، در محلول آبی ممکن نیست.زیرا آب یک کروموفور قوی IR محسوب میشود و دارای جذب قوی است. برای رفع این مشکل از $D_2O$ و یا مخلوط آن با $H_2O$ استفاده میکنند و گاهی کلروفرم نیز مورد استفاده قرار میگیرد.

- معمولترین روش گرفتن طیف IR ماکروملکولها تهیه لایه های خشک و نازک از آنهاست که بوسیله حل کردن ماکروملکولها در یک حلال فرار و سپس قرار دادن محلول در یک ظرف مسطح و تبخیر حلال صورت میگیرد.

## ❖ پایه فیزیکی طیف فروسرخ

- کشیده شدن اتمها به سوی یکدیگر و ارتعاش بین آنها مانند اتصال دو گوی است که توسط فنری با هم اتصال دارند.
- با استفاده از قانون هوک میتوان نوشت:

$$\bar{\nu}_{vib} = \frac{1}{2\pi c}\sqrt{\frac{K}{\mu}}$$

- که $\bar{\nu}_{vib}$ عدد موجی ارتعاشی ، c سرعت نور ، K ثابت نیرو و μ جرم کاهش یافته است.
- جرم کاهش یافته را میتوان برای دو اتم BوA بصورت زیر نوشت:

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{mA} + \frac{1}{mB}$$

- $m_B$و$m_A$ جرمهای اتمی BوA هستند.
- با قرار دادن وزن اتمی به جای جرم اتمی و ساده کردن معادله رابطه زیر بدست می آید:

$$\mu = \frac{MAMB}{(MA+MB)(6{,}02\times10^{23})} = \frac{\mu}{6{,}02\times10^{23}} \Rightarrow \bar{\nu}_{vib} = 4.12\sqrt{\frac{K}{\mu}}$$

- ✓ هرچه $\mu$ بزرگتر باشد یعنی مقدار جرم ها و وزن های اتمی بزرگتر است و موجب میشود که پیوند در فرکانس پایین تر باشد. به عبارتی هرچه جرم کاهش یافته یا وزن اتمی کم شود، فرکانس زیادتر خواهد بود.
- ✓ هر اندازه پیوند دو اتم قویتر باشد، مقدار $K$ بزرگتر است.از اینرو انرژی بیشتری نیاز دارد که به ارتعاش در آید و ارتعاشش در فرکانس بالاتری ظاهر میشود.

- ✓ **امروزه اغلب از روش تبدیل فوریر استفاده میشود که به** FTIR **مشهور است.**
- ✓ از مزایای این روش این است که اطلاعات را سریع جمع آوری کرده و با سیستم کامپیوتری که به آن متصل است میتوان پیک های مزاحم را حذف و پیک های مورد نظر را بهتر ظاهر کرد.
- ✓ با این سیستم بهتر میتوان ساختمان ماکروملکولهای حیاتی را مورد مطالعه قرار داد.

- ✓ FTIR **دارای مزایای گوناگونی نسبت به روش** IR **معمولی است از جمله:**
  - ❖ راندمان و سرعت بالا برای جمع آوری اطلاعات را دارد
  - ❖ کمتر اشعه فروسرخ را پخش میکند

# طیف NMR

- طیف سنجی رزونانس مغناطیس هسته شامل اندازه‌گیری میزان انرژی لازم برای تغییر هسته‌های اسپین دار از یک جهت‌گیری پایدار به جهت‌گیری ناپایدارتر در یک میدان مغناطیسی است. از آنجا که هسته‌های اسپین‌دار در میدان مغناطیسی در فرکانس‌های مختلف تغییر جهت می‌دهند، فرکانس متفاوتی از تابش جذبی برای عوض کردن جهت‌گیری هسته‌های اسپین‌دار نیاز می‌باشد. فرکانسی که در آن جذب صورت می‌گیرد برای تجزیه و طیف‌سنجی به کار برده می‌شود. به طور معمول بیشتر اندازه‌گیری‌های NMRبرای H انجام می‌شود.

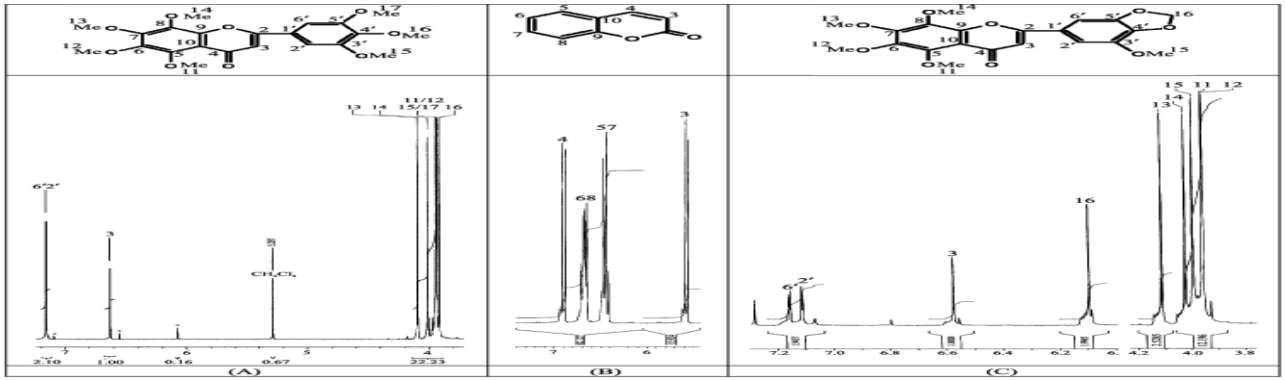


**Figure 1.** $^1$H NMR spectra (300 MHz, CDCl3) of the compound 5,6,7,8,3',4',5'-heptamethoxyflavone (A); coumarin (B); 5,6,7,8,3'-pentamethoxy-4',5'-methylenedioxyflavone (C).

- برخی هسته‌ها، مانند الکترون به دور محور خود حرکت چرخشی دارند. در حضور یک میدان آهنربایی خارجی، یک هسته در حال چرخش تنها تعداد معدودی جهت‌گیری پایدار دارد. رزونانس مغناطیس هسته (NMR )هنگامی ایجاد می شود که یک هسته اسپین دار با جذب تابش الکترومغناطیسی به مقدار کافی، در حضور یک میدان آهنربایی از یک جهت‌گیری با انرژی پایین‌تر به یک جهت‌گیری با انرژی بالاتر برانگیخته شود.

- در اکثر موارد حساسیت دستگاه‌های تشدید مغناطیسی هسته‌ای غیرپروتونی مثل $C^{۱۲}$ و غیره در مقایسه با HNMRکمتر است. همچنین در بیشتر ترکیبات، فراوانی طبیعی هسته‌های مغناطیسی غیرپروتونی به میزان قابل ملاحظه‌ای کمتر از پروتونی است. این عامل سبب می‌شود که طیف‌های NMRهسته‌های غیرپروتونی، سیگنال به نویز نسبتاً پایینی داشته باشند. پیک‌های این طیف‌ها کوچک هستند و اغلب اگر از دستگاه یکسانی که برای NMRهسته های پروتونی (PMR)به کار رفته، استفاده شود، طیف آنها را نمی‌توان مشخص کرد. با توجه به پایین بودن سیگنال به نویز در این موارد، بیشتر دستگاه‌های طراحی شده برای ثبت طیف‌های NMRهسته‌های غیرپروتونی از چند پیمایش همراه با تکنیک میانگین گیری از علامت استفاده می‌کنند. متداول‌ترین دستگاه‌ها برای استخراج پیک‌های طیفی از تبدیل فوریه استفاده می‌کنند. دستگاه‌های تبدیل فوریه برای تهیه طیف‌های PMRمحلول‌های رقیق و مولکول‌های پیچیده، مانند پروتئین‌ها، که در آنها مقدار یک پروتون ویژه در مولکول اندک است، نیز به کار می‌روند، تفاوت طیف‌های PMRو سایر طیف‌های NMRدر محدوده جابجایی شیمیایی است.

## کاربرد طیف NMR:

- ۱- مطالعه ساختار میکرومولکول‌های کوچک و ترکیبات آلی موجود در محلول‌ها
- ۲- مطالعه ساختار شیمیایی مواد با استفاده از NMRیک بعدی
- ۳- مطالعه ساختار مولکول‌های بسیار پیچیده با استفاده از NMRدو بعدی
- ۴- مطالعه فیزیولوژی سلول‌ها و غلظت درون یاخته‌های سلولی
- ۵- روش های NMRمعمولی قادر به تعیین مشخصات ساختار نانویی یا پدیده های همراه با جداسازی با درجه خلوص در مقیاس نانو نیستند. زیرا که اندازه های نانویی نیاز به$^{۱۸}$ ۱۰ اسپین هسته ای برای تولید سیگنال های قابل ملاحظه دارد از این رو روش های رزونانس مغناطیس هسته ای Betaکه بعداً توسعه پیدا کرده سیگنال های دریافتی آن بسیار حساس و در حدود ۱۰ برابر روش های معمولی است برای تعیین خصوصیات مغناطیسی و الکتریکی لایه ها و سطوح بسیار نازک در مقیاس نانو به کار می رود
- ۶- ارایه اطلاعات ساختاری با دقت نانومتر از ساختارهای پیچیده بیولوژیک مانند ویروس ها

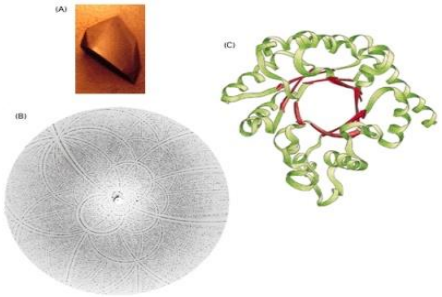
# پراش اشعه X

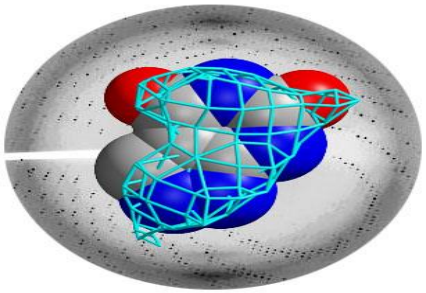
- ✓ آزمایش بلورشناسی با پرتوهای X که روش پراش سنجی (diffractometry) نامیده میشود، یکی از کاربردهای مهم پرتوهای ایکس به شمار میرود.
- ✓ پراش پرتو ایکس روشی آسان و عملی برای شناسایی کیفی ترکیبات بلوری در اختیار قرار میدهد.
- ✓ **اساس این روش بر این حقیقت استوار است که الگوی پراش پرتو ایکس هر جسم بلوری ، خاص همان جسم است.**بنابر این اگر همخوانی دقیقی بین الگوی یک جسم مجهول و یک نمونه مشخص وجود داشته باشد، شناسایی شیمیایی میتواند انجام پذیرد.این تغییرات را میتوان توسط تکنیک X-ray diffraction(XRD) بررسی کرد.
- ✓ پراش پرتو ایکس XRD یک روش غیر مخرب بسیار عالی برای بررسی خواص ساختمانی مواد بلورین است. برای نمونه پراش زمانیکه مواد بلورین با یک پرتو موازی اشعه ایکس پرتوافکنی می شوند بوجود می آید. شدت پراش هر اشعه ایکس انکسار شده مانند یک تابع زاویه پراش می تواند اطلاعاتی مانند ساختار بلوری، میزان خلوص فاز، اندازه ذرات و غیره را ارائه دهد.

## ❖ شناخت ویژگیهای اشعه X

- ✓ این اشعه را **اشعه‌ی رونتگن** نیز نامیده‌اند.هرگاه الکترونهای سریع السیر به مانعی برخورد کنند و در نتیجه متوقف شوند، پرتو پرانرژی ویژه ای تولید میشود که به پرتو ایکس یا بنام مخترعش رونتگن موسوم است.
- ✓ اکنون دانشمندان می‌دانند که اشعه‌ی ایکس نوعی **تابش الکترومغناطیسی** است. تابشهای الکترومغناطیسی موجهایی هستند که از نوسانهای الکتریکی و مغناطیسی تشکیل شده‌اند. اشعه‌ی‌گاما، اشعه‌ی ایکس، اشعه‌ی‌فرابنفش، نور، اشعه‌ی‌فروسرخ و موجهای‌رادیویی از موجهای الکترومغناطیسی‌هستند.

- تفاوت اشعه X و نور مرئی در طول موج آنهاست.اشعه ایکس بدلیل طول موج کوتاه دارای انرژی زیاد است. این اشعه سبب تغییرات‌شیمیایی و فیزیکی در موادمی‌شود واگر به وسیله‌ی جانوریا گیاه جذب‌شود، ممکن‌است به بافتهای زنده‌ی آنها آسیب برساند، یا حتی آنها را از میان‌ببرد. به همین‌دلیل، اشعه‌ی ایکس ممکن‌است برای جانداران زیان‌آور و خطرناک‌باشد. جذب بیش از اندازه‌ی‌اشعه‌ی ایکس ممکن‌است سبب‌سرطان، سوختگیهای‌پوستی، کم‌خونی، یا بیماریها و ناراحتیهای دیگر در انسان بشود.
- بسیاری از ویژگیهای اشعه‌ی ایکس نتیجه‌ی‌کوتاه بودن طول‌موج و زیادبودن انرژی آن است. اشعه‌ی ایکس بیشتر ازنورمعمولی در ماده نفوذمی‌کند، زیرا خیلی پر انرژی‌تر از آن‌است. هر چه طول‌موج اشعه‌ی ایکس کوتاهترباشد، این اشعه در اجسام نفوذمی‌کند.

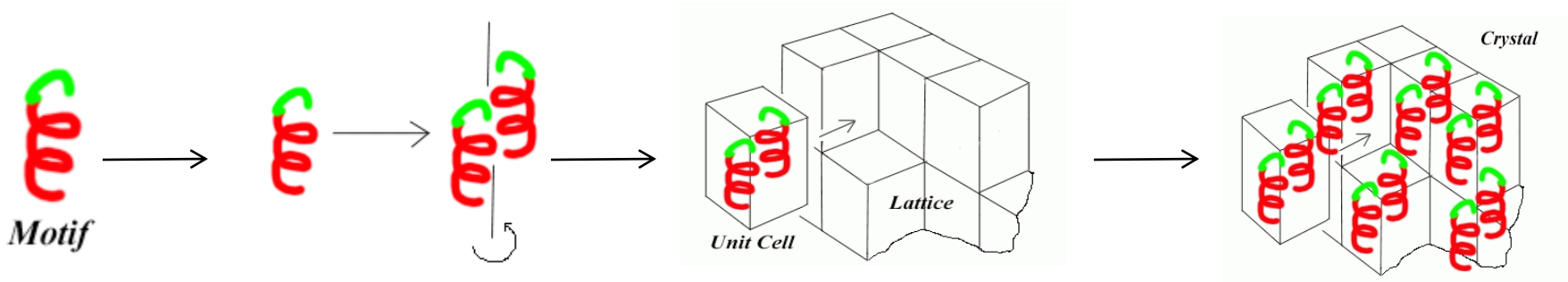




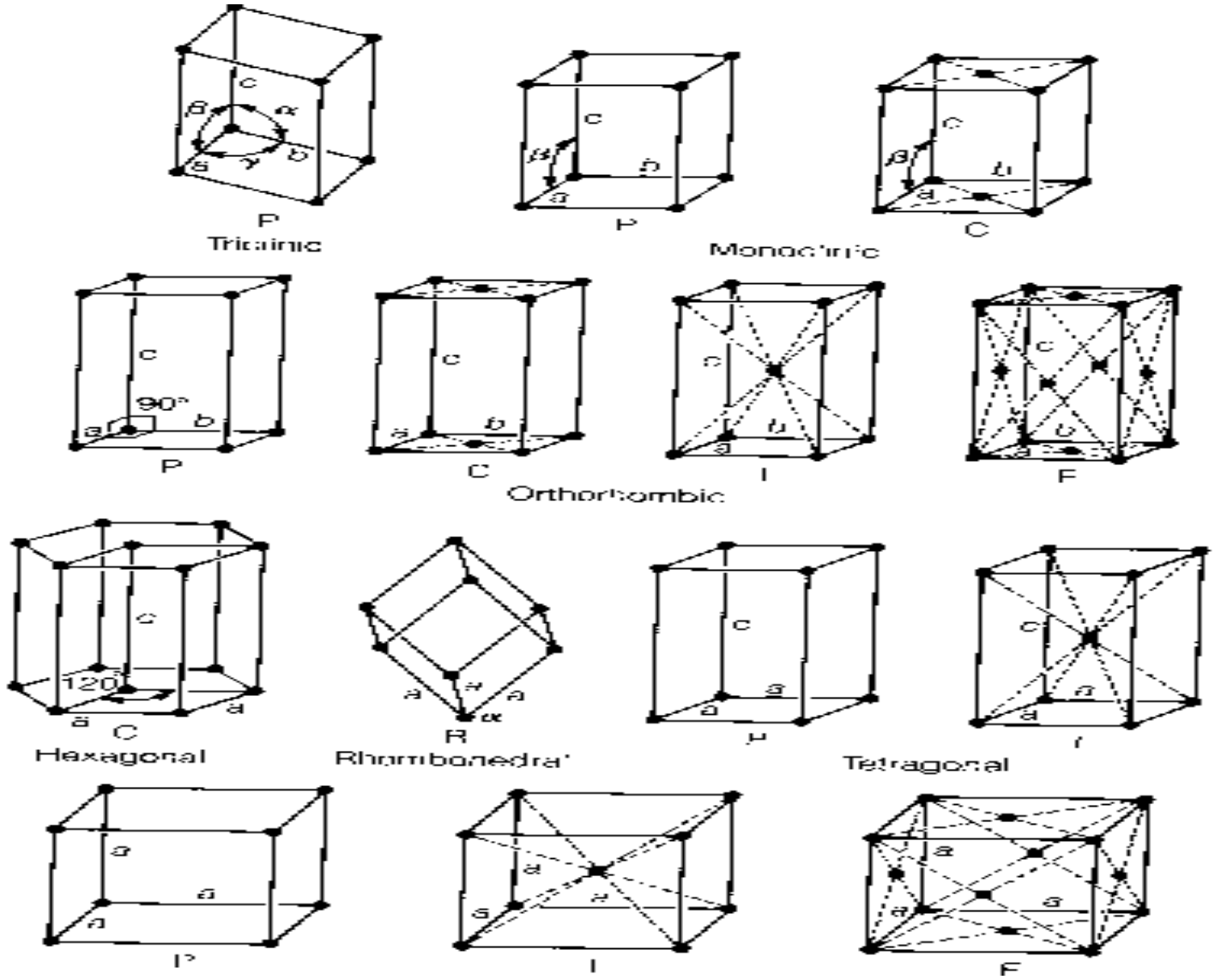
- **با استفاده از اشعهٔ ایکس می‌توان ساختمان بلورین اجسام را شناخت و از این راه تشخیص داد که جسم از چه موادی تشکیل شده است. هنگامی که باریکه‌ای از اشعهٔ ایکس از بلور یک جسم می‌گذرد، اتمهای آن جسم، مانند آینه‌های بسیار ریز، اشعهٔ تابیده شده را به صورت نقشی منظم پراکنده می‌کنند. نقشی که از پراکنده شدن اشعهٔایکس، پس از تابش بر یک بلور پدید می‌آید، مخصوص همان بلور است و نقش پراش آن بلور نامیده می‌شود.** دانشمندان، در پژوهشهای علمی، با مطالعهٔ نقشهای گوناگون پراش بلورهای هر جسم، آگاهیهای بسیاری دربارهٔ آرایش اتمهای بلور آن جسم به دست می‌آورند. مطالعه پراش اشعهٔایکس به وسیله بلورها را بلورنگاری اشعه ایکس (X-ray crystallography) می‌نامند.
- دانشمندان برای بررسی ساختمان بعضی از مواد شیمیایی پیچیده، مانند آنزیمها و پروتئینها و همچنین برای تولید مصنوعی آنها از اشعهٔ ایکس استفاده می‌کنند.

## ❖ بلور چیست؟

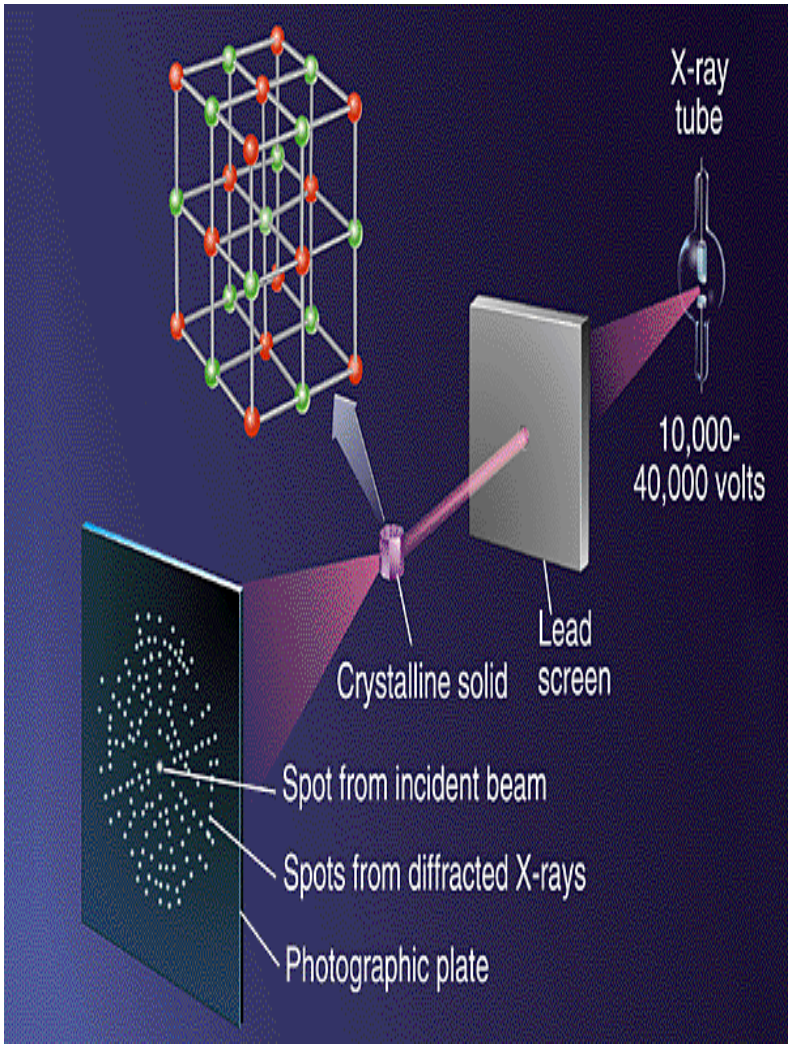
- ✓ بلورها جامداتی هستند که از تکرار یک موتیف تقارنی تشکیل شده اند.
- ✓ چه چیزی باعث اختلاف کوارتز بلوری با شیشه غیربلوری میشود؟ هردو دارای ترکیب شیمیایی یکسان هستند.اختلاف عمده این دو آن است که ملکولها در بلور با آرایش منظمی کنارهم قرارگرفته انددر حالیکه در شیشه بطور نامنظم کنارهم قرار دارند.



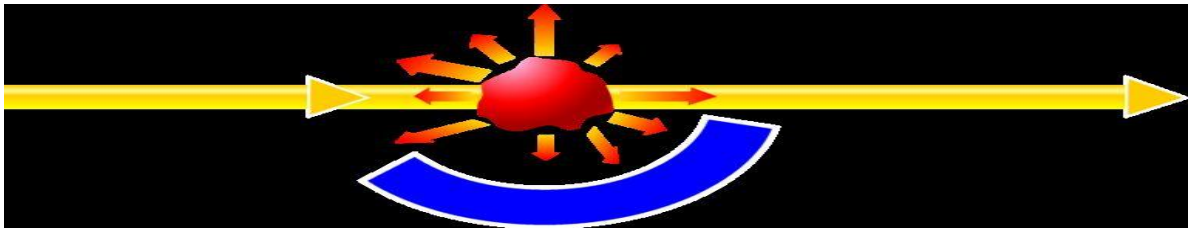

- ✓ با شروع از واحد تقارنی و اعمال عملگرهای تقارنی چرخشی پیچشی میتوان موتیف شبکه را تشکیل داد.در مورد هموگلوبین یک چرخش C2 روی دیمر $\alpha\beta$ چهارپار هموگلوبین را تشکیل میدهد که موتیف شبکه ای بلور هموگلوبین محسوب میشود.
- ✓ موتیف شبکه در سه بعد انتقال پیدا کرده و یک آرایش تکراری منظم را بوجود می آورد که هر موتیف در داخل شبکه یک نقطه را تشکیل میدهد .نقاط شبکه ای را میتوان بهم وصل کرد و یک جعبه سه بعدی تشکیل داد که این جعبه های سه بعدی را سل واحد گویند.
- ✓ یک بلور توده ای از سلهای واحد تکراری است که در سه بعد قرارگرفته و بین سلهای واحد فضایی وجود ندارد.


c
β
α
γ
a
b
P
Triclinic
c
β
b
a
P
Monoclinic
c
β
b
a
C
c
90°
a
b
P
c
a
b
C
c
a
b
I
c
a
b
F
Orthorhombic
c
120°
a
a
C
Hexagonal
a
α
a
R
Rhombohedral
c
a
a
μ
c
a
a
Tetragonal
a
a
a
P
a
a
a
I
a
a
a
F

## پراش اشعه ایکس( X-ray diffraction)




- پراش (تفرق) اشعه ایکس روشی برای مطالعه ساختار مواد بلوری است که در سال ۱۹۱۲ میلادی توسط فون لاوه کشف شد و توسط ویلیام هنری براگ و ویلیام لورنس براگ برای بررسی بلورها بکار گرفته شد.
- اشعه‌های ایکسی که برای پراش استفاده می‌شوند، معمولاً طول موجی درحدود ۰/۵ الی ۲/۵ آنگستروم دارند.
- این روش بر پایه خاصیت موجی اشعه ایکس استوار است. هسته اتم‌ها در یک شبکه کریستالی به فاصله کمی (در حدود چند آنگستروم) ازیکدیگر قرار گرفته‌اند. بازتابش اشعه ایکس از این صفحات متوالی منجربه تداخل سازنده یا ویرانگر امواج ایکس می‌شود.
- در صورتی که امواج تداخل سازنده داشته باشند(هم فاز باشند)، با استفاده ازفرمول براگ می‌توان فاصله صفحات کریستالی و در نتیجه اندازه و نوع سلول واحد را بدست آورد.
- برای اینکه پدیده بازتاب صورت گیرد، پرتو باید به سطحی بتابد که ناهمواریهای آن نسبت به طول موج تابنده کوچک باشد.

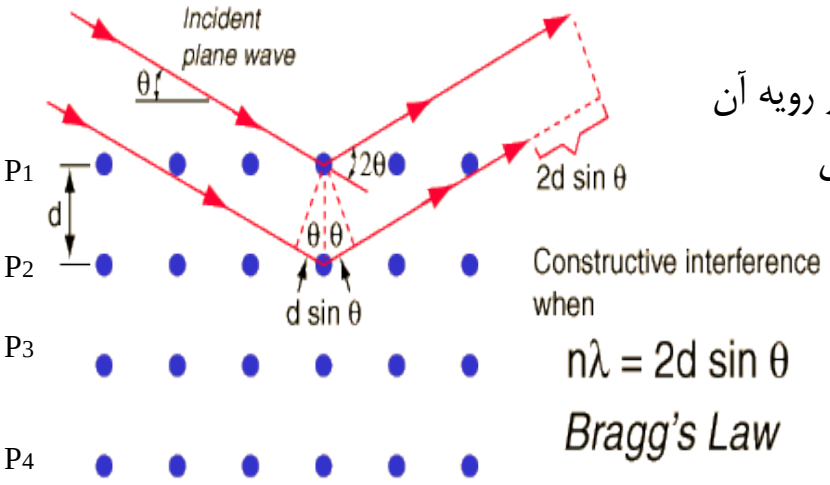


- ✓ طول موج پرتو X برای نشان دادن اتمهای مجزا شده با فاصله پیوند کووالانسی متناسب است.
- ✓ انرژی کوانتومی این پرتو تقریبا 8000eV است که تقریبا معادل انرژی الکترونها در اوربیتال مربوط می باشد.این هم ارزی موجب پاسخ الکترونها به اشعه X و ایجاد اندرکنش بین آنها میشود.
- ✓ تعداد الکترونها در یک حجم معین از فضا (چگالی الکترون) تعیین کننده چگونگی پراکنده شدن اشعه X توسط اتم است.این تداخل پرتوهای X منجر به پدیده عمومی پراکنش میشود.
- ✓ اگر دو شیء نقطه ای (A,B) را در مسیر جبهه موج قرار دهیم ، هریک از این دو نقطه یک جبهه موج جدید منتشر میکنند که طول موج و سرعت برابر دارند.خمیدگی در حداکثر ارتفاع دو موج (فاز نسبی آنها) به موقعیت AوB نسبت به مبدا بستگی دارد.در بعضی از موقعیتهای فضایی موج انتشار یافته از A موج منتشر شده از B را تقویت میکند که به این عمل تداخل سازنده میگویند و گاهی این دو پرتو یکدیگر را تضعیف میکنند که به آن تداخل تخریبی گویند.در جهات ویژه ای که امواج هم فاز هستند، انرژی تابشی متمرکز شده و لکه هایی را روی صفحه ظاهر میسازد.

## ❖ قانون براگ

- ✓ در سال 1912 و.ن.براگ رابطه ساده ای را مطرح کرد که طبق آن میتوان چگونگی ارتباط پراکندگی با موقعیت نسبی نقاط شیء در فضا را مشخص کرد.

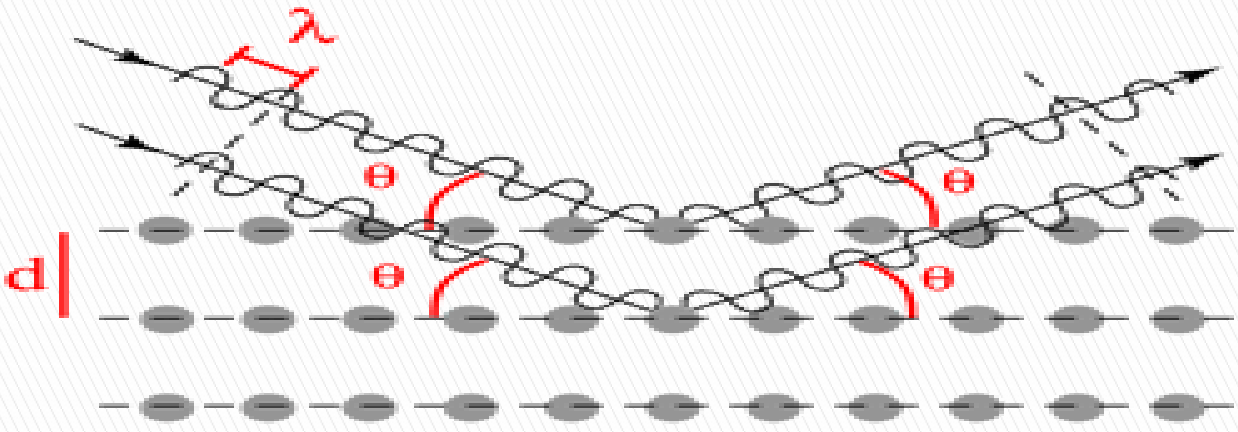
- برای بدست آوردن قانون براگ برای پراکندگی بایستی مدل پراکندگی را کمی تغییر داده و فرض کنیم نقاط شبکه ای در بلور بصورت صفحات موازی هستند.قرار گرفتن یک مجموعه از صفحات در سطوح منظم با فاصله $d$ یک مدل ساده از بلور تک بعدی را بوجود می آورد.




- پرتو رونتگن برخلاف پرتو نورکه به سطح بلور برخورد میکند، تنها در رویه آن بازتاب حاصل نمیکند بلکه پرتو در بلور نفوذ کرده و دومین بازتاب را روی سطح شبکه ای $P_2$ تولید میکند و سپس بازتاب بعدی از سطح $P_3$ و بالاخره از سطوح بعدی باعث بازتابهای بعدی میشوند.

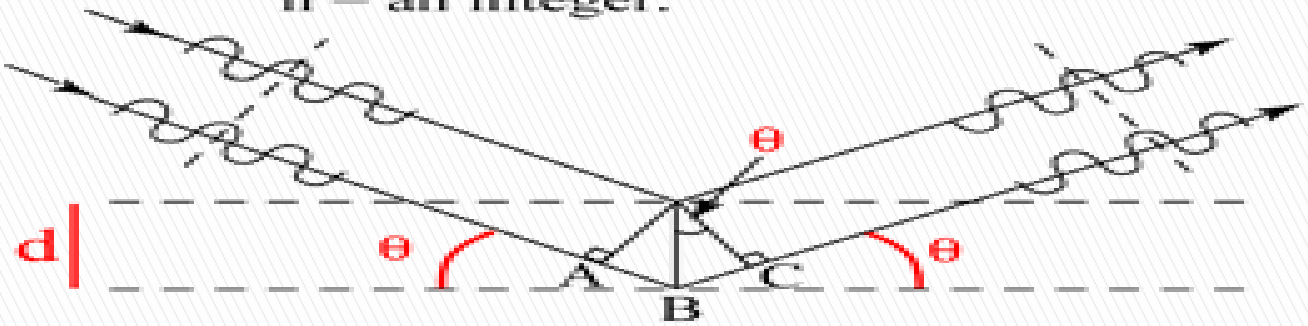
- در این مدل یک موج X (با طول موج $\lambda$ ) در برخورد با صفحه منعکس کننده در زاویه $\theta$ منعکس میشود.موج تابشی بوسیله انعکاس از صفحه با زاویه $\theta$ یکسان پراکنده میشود.
- میتوان پرسید در چه مقدار از $\theta$ تداخل سازنده صورت میگیرد؟ تداخل سازنده تنها در صورتی بوجود می آید که امواج منعکس شده کاملا در یک فاز باشند (پیک با پیک، گره با گره و برآمدگی با برآمدگی).
- این حالت تنها در صورتی رخ میدهد که طول مسیر پرتو تابشی و امواج منعکس شده در هر صفحه ، مضرب صحیحی از طول موج پرتو X باشد:

# Principles of X-ray Diffraction




**Bragg's law: $n\lambda = 2d \sin\theta$**

where $\lambda$ = wavelength of the X-ray,
$d$ = interplanar spacing of the crystal,
$\theta$ = angle between the lattice plane and the X-rays,
$n$ = an integer.




$$\sin\theta = \frac{BC}{d} \quad \text{or} \quad d \sin\theta = BC$$

If $2d \sin\theta = (AB + BC) = n\lambda$,
then constructive interference

- **در حل این معادلات ، طول موج پرتو ایکس مشخص است و محاسبات جهت اندازه گیری زاویه $\theta$ صورت میگیرد.**
- **با حل معادله براگ فاصله بین سطوحی از بلور مورد نظر که جریان هم فاز را میسازند مشخص میشود.بنابراین با جمع-آوری اطلاعات همه بازتابها میتوان به ماهیت بلور پی برد.**
- **یک بلور متقارن دارای سطوح اتمی کمتری است و بالعکس یک بلور با تقارن کمتر تمایل به داشتن سطوح اتمی بیشتر در ساختار خود دارد.**

## طیف نگاری اشعه ایکس

- ✓ هرگاه دسته باریکی از پرتو ایکس مرکب را بر سطح بلوری بتابانیم و بلور را دوران دهیم ، به ازای هر زاویه تابش پرتو معینی بازتابش حاصل میکند.این پرتو همان پرتوی است که طول موج آن در رابطه براگ صدق میکند.
- ✓ بدین وسیله میتوان پرتوهای مختلفی را که از دسته پرتو تابش اصلی بوجود آمده اند از یکدیگر جدا کرد زیرا بازتاب هریک از پرتوها تحت زاویه معینی انجام می پذیرد و این اساس تجزیه طیفی پرتو ایکس است.
- ✓ برای ثبت وضعیت خطوط مختلف یک طیف دو روش را بکار میبرند.یکی روش براگ که در آن یک اتاق یونش را در مقابل مسیر پرتوهای بازتابیده قرار میدهند و بدین وسیله شدت پرتوهای مزبور را اندازه میگیرند.روش دیگر به روش دو بروگلی موسوم است که در آن پرتوهای بازتابیده را روی نوار حساس عکاسی ثبت میکنند.

## کاربردهای پراکنش اشعه ایکس

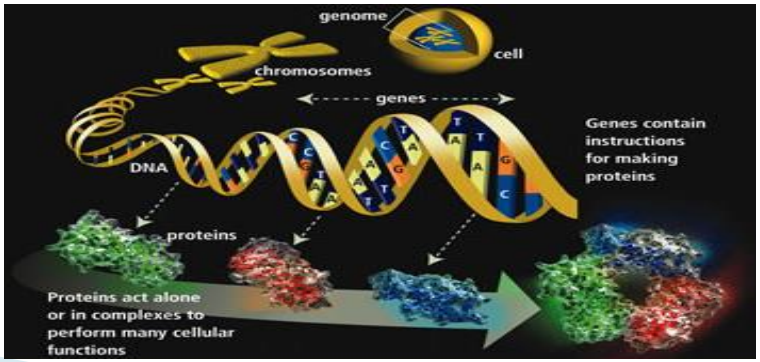
پراکنش اشعه ایکس در زمینه های مختلفی کاربرد دارد از جمله:

- ✓ طراحی دارو
- ✓ مکانیسم آنزیمی
- ✓ بیولوژی ملکولی
- ✓ طراحی پروتئین های جدید
- ✓ ژنومیکس ساختاری و....

# ترمودینامیک

- ترمودینامیک یکی از اساسی ترین و دقیق ترین شاخه های فیزیک است که به کمک آن میتوان پدیده های فیزیکی و شیمیایی را بطور کلی بررسی نمود.
- اصولا در هر مطالعه فیزیکی و یا شیمیایی موضوع مورد مطالعه تغییرات یک سیستم است.هر تغییر فیزیکی و یا شیمیایی نیز نتیجه عمل یک نیروی خنثی نشده است.این نیرو نیز به نوبه خود از حرکت، انتقال و یا تبدیل انرژی حاصل میشود.لذا پدیده های فیزیکی و شیمیایی نتیجه عمل و یا تغییر و تبدیل انرژی هستند.**ترمودینامیک مبحثی است که در آن تبادلات، تغییرات و فعل و انفعالات انرژی و ماده مورد مطالعه قرار میگیرد.**
- ترمودینامیک علم انرژی و آنتروپی میباشد.
- ترمودینامیک علم بررسی گرما و کار است.
- ترمودینامیک علم تعادل هاست.
- ترمودینامیک بر مبنای مشاهدات تجربی است و در چند قانون فرمول بندی شده است که به قوانین اول، دوم و سوم ترمودینامیک موسومند.علاوه بر آن قانون صفرم ترمودینامیک نیز ارائه شده است که قبل از قانون اول می آید.

- با استفاده از کاربردهای علم ترمودینامیک در بیوشیمی میتوان بسیاری از خواص و تغییرات ایجاد شده در ماکروملکولهای زیستی را تفسیر کرد.



- **سیستم:** در ترمودینامیک آن قسمت از جهان که مورد مطالعه و بررسی قرار میگیرد، سیستم نامیده میشود.
- **محیط:** سایر اجزای جهان که خارج از سیستم واقع میشوند محیط نام دارند.

✓ سیستمها میتوانند منفرد(ایزوله)، باز یا بسته باشند.**سیستم ایزوله** به هیچ وجه از طرف محیط اطرافش تاثیر نمی پذیرد، یعنی هیچ جرم، گرما و یا کاری از مرز سیستم عبور نمیکند.در **سیستم بسته** جرم همواره ثابت است و هیچگونه جریان جرمی نداریم ولی میتواند با محیط اطراف تبادل انرژی بصورت کار یا حرارت داشته باشد. **سیستم باز** دارای همه نوع تبادلات جرم و انرژی با محیط اطراف است.

- **حالت (state):** حالت را میتوان با بعضی خواص ماکروسکوپیک قابل مشاهده و مشخص بیان کرد.برای مثال دما، فشار و چگالی را میتوان به عنوان کمیتهایی تعریف کرد که به حالت سیستم بستگی دارد و به مسیر رسیدن به آن حالت بستگی ندارد.
- **فرایند (process):** مسیر تغییرات را نشان میدهد.مانند فرایند فشار ثابت، دما ثابت و.....فرایند را به دو صورت شبه تعادلی و غیرتعادلی تعریف میکنیم.
- **فرایند شبه تعادلی:** فرایندی که در آن انحراف از تعادل ترمودینامیکی بی نهایت کوچک است.
- **فرایند غیرتعادلی:** در مورد فرایندهای غیرتعادلی سیستم را فقط میتوان قبل از انجام فرایند و پس از آنکه فرایند کامل شده و تعادل دوباره برقرار شد، تعریف کرد.
- **انرژی:** مفهومی بنیانی مثل جرم یا نیرو است و تعریف آن بسیار مشکل است.انرژی بصورت توانایی تولید کار تعریف شده است.انرژی را میتوان داخل سیستم ذخیره کرد و آن را از سیستمی به سیستم دیگر انتقال داد( مثلا بصورت گرما).از دید ملکولی سه شکل عمومی انرژی را داریم:

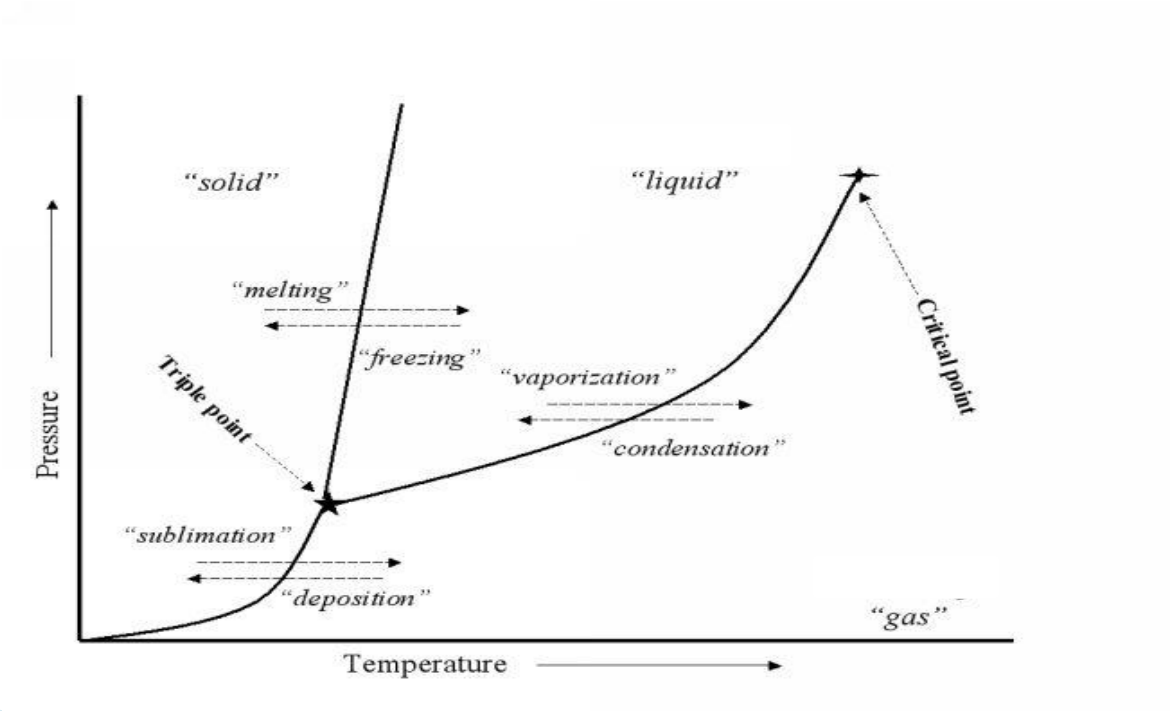
۱- انرژی پتانسیل بین ملکولی

۲- انرژی جنبشی ملکولی

۳- انرژی بین ملکولی ( که بین تک تک ملکولها وجود دارد)

- **حجم ویژه:** بصورت حجم واحد جرم تعریف میشود.چگالی ماده بصورت جرم واحد حجم تعریف شده و بنابراین عکس حجم ویژه است.
- **ماده خالص( pure substance):** ماده ای که ترکیب شیمیایی آن در کل فازها ثابت بماند.مانند آب که در کل فازها مایع، جامد(یخ) و گاز( بخارآب) ترکیب شیمیایی آن ثابت می ماند.
- **فاز(phase):** کمیتی از ماده که به شکل هموژن میباشد. سه فاز داریم: ۱-مایع ۲-جامد ۳-گاز

- **نقطه سه گانه (Triple point):**



❖ **معادله حالت فاز بخار:** با مشاهدات تجربی ثابت شده است که رفتار P-V-T گازها در چگالی پایین دقیقا با معادله حالت زیر معلوم میشود:

$$PV = nRT$$

$$PV = \frac{m}{M}RT \Rightarrow P\bar{v} = R\bar{T} \qquad R = 8.314\ \frac{KJ}{Kmol.^{\circ}k}$$

✓ از معادلات فوق به نتیجه زیر میرسیم:

$$\frac{P1V1}{T1} = \frac{P2V2}{T2}$$

---

❖ **کار:** معمولا کار بصورت F(نیرو) که در جابجایی (X) در راستای نیرو عمل میکند تعریف میشود.یعنی

$$W = F.dX$$

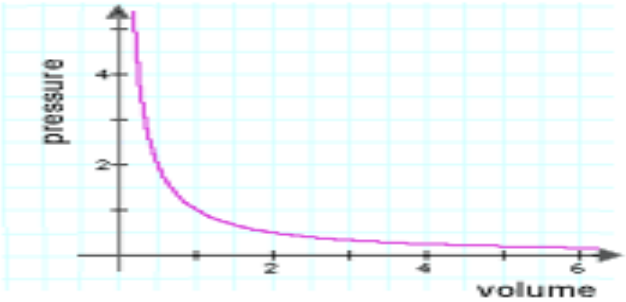
✓ این رابطه بسیار مفید است.با آن میتوان کار لازم برای بالا بردن وزنه، کشیدن سیم یا حرکت دادن ذره باردار در میدان مغناطیسی را پیدا کرد.

✓ کار انجام شده توسط سیستم مثبت و کار انجام شده بر روی سیستم منفی است.

✓ واحد کار ژول است.(1J=1N.m)

❖ کار انجام شده بر روی سیستم مرز متحرک (فرایند شبه تعادلی):

$$W = P.dV$$




✓ هیچگاه سیستمی حاوی کار نمیباشد و فقط در حین انتقال از مرزهای سیستم قابل مشاهده است.

❖ فرایند فشار ثابت:

$$P = constant \rightarrow W = P(V2 - V1)$$

❖ فرایند حجم ثابت:

$$V = constant \rightarrow W = 0$$

---

❖ **گرما:** شکلی از انرژی تعریف میشود که در عرض مرز سیستم با دمای معین به سیستم دیگری (یا محیط اطراف) با دمای کمتر به خاطر اختلاف دمای دو سیستم انتقال می یابد، یعنی گرما از سیستمی با دمای بالاتر به سیستم با دمای پایین تر انتقال پیدا میکند و انتقال گرما صرفا به دلیل اختلاف دمای بین دو سیستم صورت میگیرد.

✓ جسم هرگز دارای گرما نیست بلکه گرما را فقط میتوان ضمن عبور از مرز مشخص کرد.بنابراین گرما پدیده ای گذرا است.

✓ واحد گرما مانند کار است.

✓ گرمای انتقالی به سیستم مثبت و گرمای انتقالی از سیستم منفی در نظر گرفته میشود.بنابراین گرمای مثبت نمایش دهنده انتقال انرژی به سیستم است.

- ✓ Q نشاندهنده انتقال گرما است و فرایندی که در آن انتقال گرمایی وجود ندارد (Q=0) آدیاباتیک گویند.

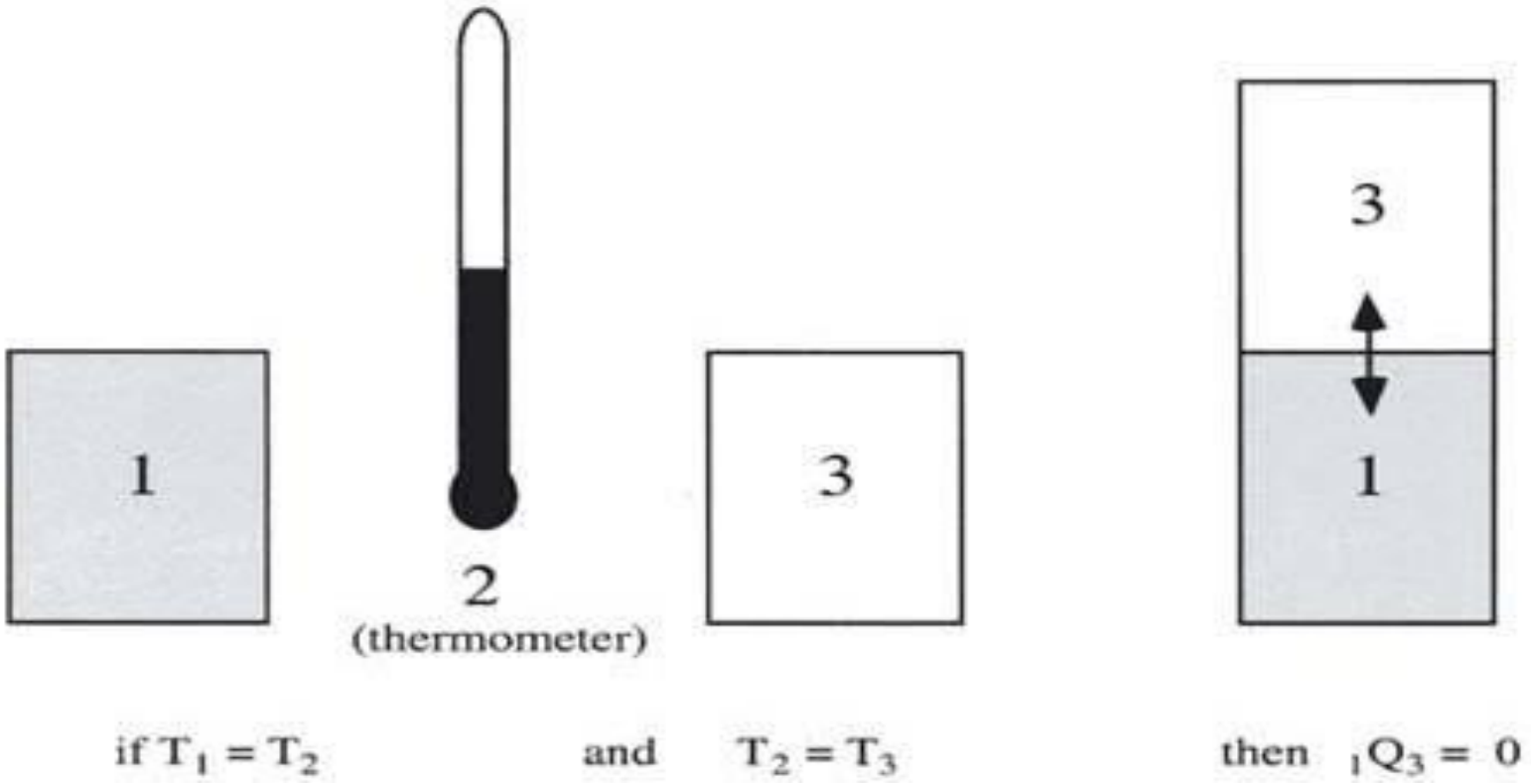
## ❖ مقایسه کاروگرما:

۱-کاروگرما هردو پدیده های گذرا هستند.سیستم هرگز دارای گرما و کار نبوده بلکه هریک از آنها یا هردو وقتی که سیستم تغییرحالت میدهد از مرز آن عبور میکنند.

۲- گرما و کار پدیده های مرزی هستند.هردو فقط در مرزهای سیستم مشاهده میشوند وهردو نمایشگر انرژی عبورکرده از مرز سیستم ها هستند.

**قانون صفرم ترمودینامیک:**

- این قانون بیان میکند که وقتی دو جسم با جسم سومی همدما باشند، آن دو با یکدیگر همدما هستند.این قانون مربوط به تعادل هاست.



❖ **قانون اول ترمودینامیک:**

$$E = Q - W \rightarrow Q(1,2) = E2 - E1 + W(1,2)$$

$$E = \text{انرژی جنبشی} + \text{انرژی پتانسیل} + \text{انرژی داخلی} = U + KE + PE$$

✓ **قانون اول ترمودینامیک برای سیستم بسته (جرم m):**

$$Q(1,2) = W(1,2) + m(U2 - U1) + \frac{1}{2}m\ \left(V2^2 - V1^2\right) + mg(z2 - z1)$$

✓ **علامت کار عکس حرارت میباشد.**

## ❖ انرژی داخلی

- ✓ انرژی درونی سیستم است.انرژی داخلی سیستم ممکن است شامل انرژیهای زیر باشد: انرژی انتقالی ملکولها، انرژی ارتعاشی ملکولها، انرژی چرخشی ملکولها، انرژی نهفته در پیوندهای شیمیایی، انرژی مربوط به اندرکنش غیرپیوندی بین ملکولها و...

- ✓ **انرژی داخلی یک تابع حالت است**.به این معنی که اگر حالت سیستم مشخص باشد، انرژی داخلی یک مقدار معین دارد بدون اینکه بدانیم چگونه سیستم به این حالت رسیده است.

- ✓ **سیستمهای بیولوژیکی اغلب با $\Delta H$ (تغییرات آنتالپی)سروکار دارد زیرا بسیاری از فرایندهای بیوشیمیایی تحت شرایط نزدیک به فشار ثابت انجام میشوند.از طرفی چون اغلب این واکنشها در مایعات و جامدات رخ میدهد تا در گازها، تغییر حجم کوچک خواهد بود.**

- ✓ بنابراین مبحث بعدی ما تعریف آنتالپی خواهد بود.

## ❖ آنتالپی

✓ در یک سیستم فشار ثابت:

$$Q(1,2) = U2 - U1 + W(1,2)$$

$$W(1,2) = P(V2 - V1)$$

$$Q(1,2) = U2 - U1 + P2V2 - P1V1 = (U2 + P2V2) - (U1 + P1V1)$$

✓ در اینجا انتقال گرما در طول فرایند برحسب تغییرکمیت (U+PV) بین حالت های اولیه و نهایی داده میشود.

$$H = U + PV \qquad h = \bar{u} + P\bar{v} \qquad h = \frac{H}{m}\left(\frac{Kj}{Kg}\right)$$

✓ مقدار انتقال حرارت در یک سیستم بسته فشار ثابت برابر است با:

$$Q(1,2) = H2 - H1$$

✓ برای مایعات و جامدات به دلیل کوچک بودن حجم ویژه ($\bar{v}$) عملا آنتالپی و انرژی داخلی با هم برابرند:

$$h = \bar{u} + P\bar{v} \ , \bar{v} \cong 0 \quad \Rightarrow h = \bar{u}$$

## ❖ فرایند برگشت پذیر

- ✓ فرایند برگشت پذیر برای یک سیستم یعنی فرایندی که وقتی صورت گرفت میتواند معکوس شود و در انجام این کار تغییری در سیستم یا محیط اطراف رخ نمیدهد.

- ✓ عواملی که سبب برگشت ناپذیری میشوند عبارتند از:

۱- اصطکاک ۲-انبساط آزاد ۳-انتقال گرما به دلیل اختلاف دما ۴-اختلاط دو ماده متفاوت ۵-احتراق ۶- واکنش های شیمیایی

قانون اول ترمودینامیک چیزی غیراز بیان اصل بقای انرژی نیست.براساس این قانون هرگاه سیستمی با محیط اطرافش انرژی مبادله نماید، تغییرات انرژی داخلی سیستم برابر با جمع جبری تمام انرژیهای مبادله شده به صورتهای مختلف مانند کار، حرارت و....خواهد بود.امکان تبدیل انرژی به صورتهای مختلف نیز در این قانون نهفته است.اما این قانون توانایی تفسیر فرایندها زمانی که بطور خودبه خود قابل انجامند را ندارد و بنابراین به اطلاعات بیشتری در مورد فرایند های موجود در طبیعت نیازمندیم.

**قانون دوم ترمودینامیک چارچوبی است برای تعیین جهت مجاز فرایندها در طبیعت و وسیله ای برای محاسبه بازده تبدیل انرژیهای مختلف به یکدیگر.**

# آنتروپی( بی نظمی) و قانون دوم ترمودینامیک

- قانون دوم ترمودینامیک حاصل جمع بندی تعداد زیادی از مشاهدات تجربی است.
- این قانون تابع حالت جدیدی به نام آنتروپی ( S) را مشخص میکند.برای یک فرایند برگشت پذیر این کمیت برابر است با:

$$dS = \frac{dq_{rev}}{T}$$

- در این رابطه (dq) حرارت منتقل شده از منبع حرارتی به سیستم و T دمای منبع حرارتی است.
- dq دیفرانسیل کامل نیست و بستگی به مسیر فرایند دارد.در حالیکه (dq/T) دیفرانسیل کامل است.
- در فرایندهای برگشت پذیر که دمای سیستم به مقدار بسیار جزئی با دمای منبع حرارتی تفاوت دارد، T همان دمای سیستم است.
- در یک فرایند برگشت ناپذیر تغییر آنتروپی بصورت زیر تعریف میشود:

$$dS > \frac{dq}{T}$$

- **آنتروپی یک تابع حالت است و مانند تابع حالت انرژی داخلی مقدار مطلق آن را نمیتوان تعریف کرد، بلکه فقط میتوان تغییرات آن را طی یک فرایند محاسبه نمود.**
- برای آنکه حرارت dq در طی یک فرایند برگشت پذیر بین سیستم و منبع حرارتی مبادله شود، دمای سیستم باید به مقدار بی نهایت کوچک با دمای منبع حرارتی تفاوت داشته باشد.ذوب جامدات در نقطه ذوب و تبخیر مایعات در فشار بخار مایع و نقطه تبخیر مثالهایی از این فرایندهای برگشت پذیر هستند.در این فرایندها ، دمای سیستم ثابت و مساوی با دمای منبع حرارتی باقی می ماند.اگر حرارت Δq در طی این چنین فرایندی بین سیستم و منبع حرارتی مبادله شود، تغییر آنتروپی سیستم را از رابطه زیر میتوان محاسبه نمود:

$$\Delta S = \frac{\Delta q}{T}$$

- در چنین فرایندهایی، حرارت جذب شده توسط سیستم مساوی با حرارت دفع شده از منبع حرارتی است.در نتیجه تغییر آنتروپی منبع حرارتی مساوی با تغییر آنتروپی سیستم ولی با علامت منفی خواهد بود.بنابراین کل تغییر آنتروپی جهان (مجموعه سیستم و منبع حرارتی) در چنین فرایند برگشت پذیری برابر صفر می باشد.

$$\Delta S_{\text{جهان}} = \Delta S_{\text{سیستم}} + \Delta S_{\text{منبع حرارتی}} = 0$$

- در فرایندهای برگشت پذیری که دما نیز تغییر میکند، تغییرات آنتروپی را میتوان به سادگی مشخص کرد.در چنین فرایندهایی در هر مرحله کوچک از فرایند، دیفرانسیل حرارت مبادله شده برابر با :

$$dS = \frac{CdT}{T}$$

- اگر در طی فرایندی دمای سیستم از$T_1$ به $T_2$ تغییر کند تغییر آنتروپی را با انتگرالگیری از رابطه فوق در فاصله $T_1$و $T_2$ میتوان حساب کرد.

$$\Delta S = \int_{T1}^{T2} dS = \int_{T1}^{T2} \frac{CdT}{T} \Rightarrow \Delta S = C \ln \frac{T2}{T1}$$

- رابطه فوق هم برای فرایندهای برگشت پذیر در حجم ثابت و هم برای فرایندهای برگشت پذیر در فشار ثابت صادق است.چنانچه حجم ثابت باشد از ظرفیت حرارتی در حجم ثابت ($C_V$) و چنانچه فشار ثابت باشد از ظرفیت حرارتی در فشار ثابت ($C_P$) استفاده میشود.

## مثال

- یک مول گاز در فشار ثابت به دو برابر حجم اولیه خود به طور برگشت پذیر انبساط پیدا میکند.تغییر آنتروپی آن چقدر است؟

$$dS = \frac{dq}{T} = \frac{Cp\ dT}{T}$$

$$\Delta S = \int_{T1}^{T2} dS = Cp \int_{T1}^{T2} \frac{dT}{T} \Rightarrow \Delta S = Cp \ln \frac{T2}{T1}$$

- از معادله حالت گاز کامل داریم:

$$\frac{T1}{T2} = \frac{V1}{V2} \qquad if\ V2 = 2V1 \rightarrow \frac{T2}{T1} = 2$$

- بنابراین خواهیم داشت:

$$\Delta S = Cp \ln 2 = \frac{5}{2} R \times 0.693 = 14.4\ J/K$$

- (نکته: $C_P=5/2\ R$ و $C_V=3/2\ R$)

- در تمام فرایندهای برگشت پذیر تغییر آنتروپی جهان برابر صفر و در تمام فرایندهای برگشت ناپذیر تغییر آنتروپی جهان بزرگتر از صفر است.بنابراین برای یک سیستم منزوی(سیستم+محیط اطراف= جهان) میتوان نوشت:

$\Delta S = 0$ برای فرایند برگشت پذیر

$\Delta S > 0$ برای فرایند برگشت ناپذیر

- فرایندهای خود به خود همگی برگشت ناپذیرند.بنابراین هرگاه تغییرات آنتروپی فرایندی در یک سیستم منزوی بزرگتر از صفر باشد میتوان اظهار نمود که آن فرایند میتواند خود به خود تحقق پذیرد.
- فرایندهای برگشت پذیر هیچگونه تمایلی برای تحقق ندارند و با تغییر بی نهایت کوچک شرایط ، جهتشان عوض میشود.بنابراین فرایندهایی که خود به خود در جهان رخ میدهند باعث ازدیاد آنتروپی جهان میشوند.هنگامیکه آنتروپی سیستمی زیاد شود امکان تغییرات در آن کم میشود.به عبارتی میتوان گفت که **حالت تعادل حالت حداکثر آنتروپی است.**
- **سیستمهایی که آنتروپی کمتری دارند، قابلیت تغییر بیشتری را نیز دارند.**
- **بنابر قانون اول ترمودینامیک** مجموع انرژی جهان ثابت است و انواع انرژی قابل تبدیل به یکدیگرند.اما **بنابر قانون دوم** این تبدیلات انرژی در هر جهت دلخواهی ممکن نیست.مثلا اگر گلوله ای به قطعه ای سرب برخورد کند، تمام انرژی جنبشی آن تبدیل به انرژی حرارتی شده و باعث ذوب گلوله میشود.اما هرگز مشاهده نشده که انرژی حرارتی ایجاد شده دوباره جمع شده به انرژی مکانیکی تبدیل شود و گلوله ذوب شده را به حرکت درآورد.**اگرچه مجموع انرژی جهان ثابت است ، ولی این انرژی پیوسته به صورتهای غیر قابل استفاده تبدیل شده و در نتیجه امکان تغییر و تحول در جهان را کم میکند.**

- رابطه $\Delta S \geq 0$ به نام (( اصل ازدیاد آنتروپی)) موسوم است.

- ✓ هرگاه $\Delta S$ جهان برای فرایندی مثبت باشد، آن فرایند بطور خود به خود قابل انجام است.هر چه این مقدار بیشتر باشد امکان تحقق فرایند بطور خود به خودی و فاصله آن از برگشت پذیری بیشتر خواهد بود.

- ✓ هرگاه $\Delta S$ جهان برای فرایندی صفر باشد سیستم در حال تعادل بوده و هیچگونه فرایند خودبه خودی در سیستم رخ نخواهد داد.

- ✓ هرگاه این مقدار تغییر آنتروپی منفی باشد، فرایند معکوس بطور خود به خود قابل تحقق خواهد بود.

# انرژی آزاد

- ✓ طبق قانون دوم ترمودینامیک داریم:

$$dS = \frac{dq}{T} \rightarrow TdS - dq = 0$$

- ✓ طبق قانون اول ترمودینامیک اگر فقط کار انبساط حجمی داشته باشیم:

$$dE = dq - PdV \rightarrow \boxed{dE + PdV - TdS = 0}$$

- ✓ این رابطه یک رابطه کلی است که برای تعادل هر سیستمی صادق است.
- ✓ چنانچه فرایند بی نهایت کوچک ما برگشت ناپذیر باشد، این رابطه به نامساوی تبدیل میشود:

$$dS_{\text{جهان}} = dS_{\text{سیستم}} + dS_{\text{محیط}} > 0$$

$$dE + PdV - TdS < 0$$

- ✓ مجموع دو رابطه بالا را میتوان بصورت کلی نوشت:

$$dE + PdV - TdS \leq 0$$

- ✓ علامت تساوی برای حالت تعادل و فرایندهای برگشت پذیر و نامساوی برای فرایندهای برگشت ناپذیر است.

- در محیطهایی که تبادل حرارتی با محیط اطراف خود ندارند و حجم آنها نیز ثابت است:

$$(dE)_{S,V} \leq 0$$

- **مفهوم این رابطه این است که در حجم و آنتروپی ثابت ، حالت تعادل حالتی است که سیستم کمترین انرژی خود را داشته باشد در غیر اینصورت فرایندهای خود به خود منجر به کاهش انرژی سیستم میشوند.**
- در شرایطی که سیستم و محیط اطرافش تشکیل یک سیستم منزوی بدهند و یا به عبارت دیگر زمانی که هیچ تغییرات انرژی و حجمی وجود نداشته باشد خواهیم داشت:

$$(dS)_{E,V} \geq 0$$

- که همان اصل ازدیاد آنتروپی است.
- زمانیکه حجم و دمای سیستم ما ثابت باشد، پارامتر **((انرژی آزاد هلمهوتز))** را خواهیم داشت:

$$d(E - TS)_{T,V} \leq 0$$

$$A = E - TS \quad = U - TS$$

- انرژی آزاد هلمهوتز یک تابع حالت است زیرا E، TوS همگی تابع حالت هستند.معنای این رابطه این است که برای سیستمهایی که تغییر حجم و دما ندارند اگر فرایند برگشت ناپذیر بی نهایت کوچکی رخ دهد، منجر به کاهش انرژی آزاد هلمهوتز میگردد.حالت تعادل برای این سیستمها زمانی است که A کمترین مقدار خود را داشته باشد.

$$(dA)_{T,V} \leq 0$$

بسیاری از فرایندهای فیزیکی و واکنشهای بیوشیمیایی در دما و فشار ثابت رخ میدهند.در حالیکه تغییرات فشار و دما نداشته باشیم:

$$d(E + PV - TS)_{T,P} \leq 0$$
$$d(H - TS)_{T,P} \leq 0$$

$$G = H - TS$$

$$(dG)_{T,P} \leq 0 \Longrightarrow$$ Gibbs Free Energy

- مفهوم این رابطه این است که تحت شرایط دما و فشار ثابت هرگاه فرایند بی نهایت کوچک خود به خودی رخ دهد، این فرایند منجر به کاهش انرژی آزاد گیبس سیستم خواهد شد.حالت تعادل برای سیستم زمانی است که انرژی آزاد گیبس آن کمترین مقدار را داشته باشد.
- انرژی آزاد گیبس یک تابع حالت است زیرا H،T وS همگی تابع حالت هستند.

## مفهوم ترمودینامیکی انرژی آزاد گیبس:

- برای یک فرایند محدود در دما و فشار ثابت میتوان نوشت:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

- مقدار $T\Delta S$ انرژی دربند و غیر قابل دسترس سیستم است.مقدار انرژی آزاد و قابل استفاده و قابل تبدیل به کار سیستم در هر فرایند برابر با تغییر کلی انرژی آن منهای انرژی غیرقابل دسترس است.

## ✓ انرژی آزاد و تعادل شیمیایی

- ✓ **اگر فرایند برگشت ناپذیر باشد، منجر به کاهش انرژی آزاد خواهد شد.این کاهش تا حداقل مقدار انرژی آزاد پیش خواهد رفت.** بنابراین حالت تعادل با حداقل مقدار انرژی داخلی مشخص میشود.
- ✓ برای فرایندهای برگشت پذیر که در حالت تعادل واقع میشوند، $dG=0$ است که مربوط به نقطه مینیمم تابع انرژی آزاد است.

### نحوه تاثیر عواملی که بر روی $\Delta G$ یک سیستم اثر میگذارند

| $\Delta G$ | $\Delta S$ | $\Delta H$ |
|---|---|---|
| (+)در درجه حرارت های پایین<br>(-)در درجه حرارت های بالا<br>(حرکت خودبه خودی) | (+) | (+) |
| (+)در تمام درجه حرارت ها | (-) | (+) |
| (-)در تمام درجه حرارت ها | (+) | (-) |
| (-)در درجه حرارت های پایین<br>(+)در درجه حرارت های بالا | (-) | (-) |

## ✓ انرژی آزاد تشکیل مواد:

- ✓ انرژی آزاد نیز مانند انرژی داخلی، آنتروپی و آنتالپی تابع حالت است و مقدار مطلق آن را نمیتوان تعیین کرد ولی میتوان تغییرات آن را برای فرایندهای مختلف تعیین نمود.
- ✓ برای یک واکنش شیمیایی، تغییر انرژی آزاد واکنش برابر است با انرژی آزاد محصولات منهای انرژی آزاد مواد اولیه:

$$\Delta G_{\text{واکنش}} = \Delta G_{\text{محصولات}} - \Delta G_{\text{مواد اولیه}}$$