



מסיסות הקזאין

אורית מולידזון*

פעילותו באופן חלקי או מלא.

בתכנית הלימודים מוקדש זמן רב להוראת הנושא של השפעת pH על המטען החשמלי וחוזק האינטראקציות בין החלקיקים בפפטידים ובין החלקיקים בחלבונים. המטען של קבוצות צד משפיע על המבנה המרחבי של מולקולות החלבון בתמיסה ולכן משפיע גם על מסיסות החלבון. ב-pH האיזואלקטרי, (pH שבו סך כל המטענים השליליים שווה לסך כל המטענים החיוביים), המטען נטו שנושאות מולקולות החלבון שווה לאפס. ב-pH זה כוחות המשיכה החשמליים בין מטענים מנוגדים חזקים מאוד, ואילו האינטראקציות עם מולקולות מים הן חלשות, וכתוצאה מכך החלבון אינו מסיס ושוקע.

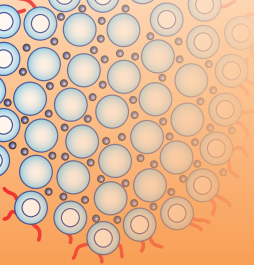
על מנת להמחיש את הקשר בין הרמה המיקרוסקופית לרמה המקרוסקופית ולעזור לתלמידים להבין את הנושא, אני נוהגת לבצע ניסוי חקר שבזק את המסיסות של החלבון קזאין במים. ניתן לבצע ניסוי זה ברמות חקר שונות בהתאם למטרת המורה. הוא מדגים איך שינוי באינטראקציות בין מולקולות החלבון (בעקבות שינוי המטען החשמלי של קבוצות צד) משפיע על מסיסותו. כמו כן ניסוי זה מאפשר לי לתרגל ולפתח את המיומנות של בניית שאלת חקר.

חלבון היא מילה שמעוררת במוחו של אדם תמונה של בשר, דג, ביצים, מוצרי חלב ורצון לאכול. במוחו של כימאי המילה חלבון מעוררת תמונה של מולקולות ענק, מולקולות היעילות והמגוונות ביותר במערכות חיים.

פעילותו של חלבון תלויה במבנה המרחבי של המולקולות שלו, בעיקר במבנה השלישוני של החלבון. מבנה שלישוני האופייני לכל חלבון מקנה לו יציבות בסביבה הפיזיולוגית שבה הוא נמצא והתאמה לתפקידו. ניתן מייין חלבונים לשתי קבוצות עיקריות: חלבוני מבנה וחלבוני תפקוד. חלבוני המבנה הם בדרך כלל חלבונים סיביים ואילו חלבוני התפקוד הם בעלי מבנה כדורי. חלבונים סיביים הם בעלי תפקיד בתמיכה מכנית של אברי הגוף ואינם מסיסים במים. ואילו החלבונים הכדוריים נעים בסביבה מימית ומשמשים כאנזימים, נשאים, הורמונים, נוגדנים ועוד.

שינוי באינטראקציות בין מולקולות החלבון מביא לשינוי במבנה החלבון, והוא יכול להיגרם על ידי שינוי התנאים בהם נמצא החלבון כמו שינוי בטמפרטורה, שינוי בריכוז מלחים, שינוי ב-pH וקרינה. אם משתנה המבנה המרחבי הטבעי של המולקולות (המבנה השלישוני נפגע), החלבון מאבד את

* אורית מולידזון, מורה לכימיה בגימנסיה גן נחום ראשון לציון, מדריכה ארצית, המחלקה להוראת המדעים, מכון ויצמן למדע

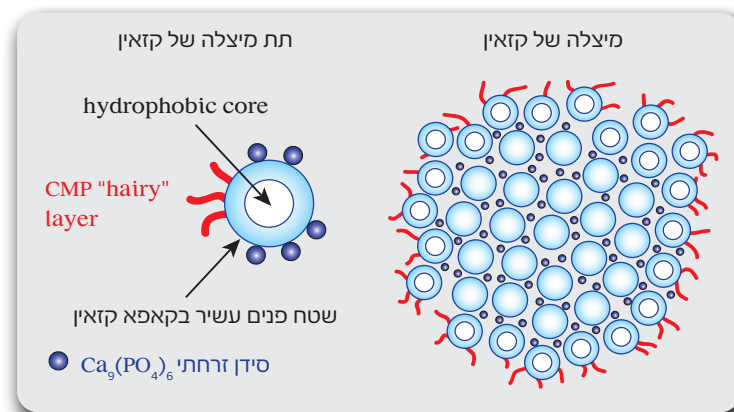


של "הכימיה של החלב" שנכתב במסגרת הסדנה להכשרת מורים מובילים לכימיה. ערכו שרית שמאי ויעל שוורץ).

בניסוי מקדים התלמידים נחשפים להשפעת הוספת החומצה על מסיסותו של הקזאין (תמונה 1) במים.

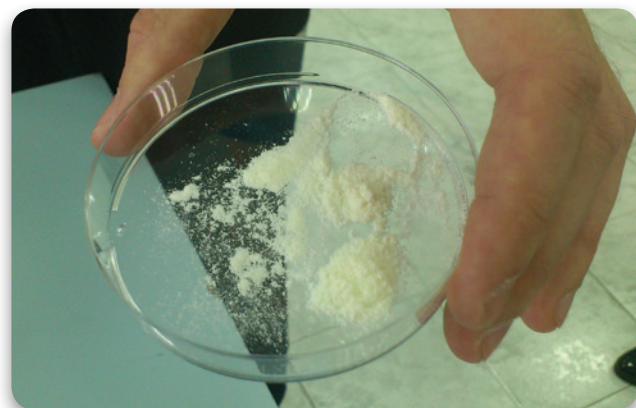
כפי שניתן לראות בתמונות א2-12 תמיסה צלולה שבה התמוסס החלבון קזאין במים, הופכת לעכורה כתוצאה מהוספת תמיסת HCl. בעזרת pH מטר ניתן לראות את הקשר בין שינוי ה-pH לבין דרגות עכירות שונות בתמיסה. העכירות מעידה על הירידה במסיסות החלבון עד שקיעתו בנקודה איזואלקטרית (pH = 4.6), כפי שניתן לראות בתמונה ג2. בהמשך ההוספה של כמה טיפות של תמיסת 1M HCl גורמת להיעלמות המשקע.

קזאין הוא החלבון העיקרי בחלב ומהווה כ-80% מחלבוני החלב. זהו חלבון מלא ואיכותי שמספק לגוף את כל החומצות האמיניות הדרושות לו, כולל חומצות אמיניות חיוניות. אנשים העוסקים בספורט ופיתוח גוף צורכים קזאין כמקור לחומצות



איור 1: מיצלה של קזאין

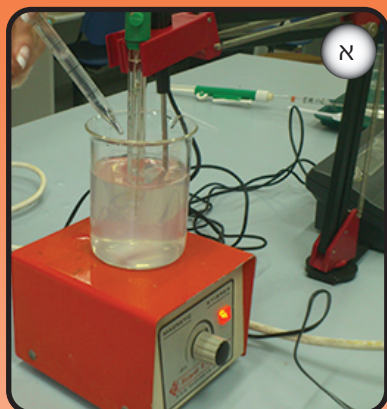
אמיניות שמתעכלות באטיות. לעתים קרובות מוסיפים קזאין לתחליפים של מוצרי חלב, כדי לשפר את המרקם שלהם. קזאין משמש גם בתהליך הייצור של דבקים, חומרי קישור, ציפויי מגן, סוגי פלסטיק שונים, בדים, תוספי מזון וחומרים רבים אחרים. קזאין הוא שמה של תערובת שמכילה ארבעה סוגי חלבונים (אלפא 1, אלפא 2, ביתא וקאפא קזאינים). כל סוגי הקזאינים הם חלבונים עם קבוצה פוספואסטרית (שקושרת סידן), הקשורה לשיר של החומצה האמינית סרין.



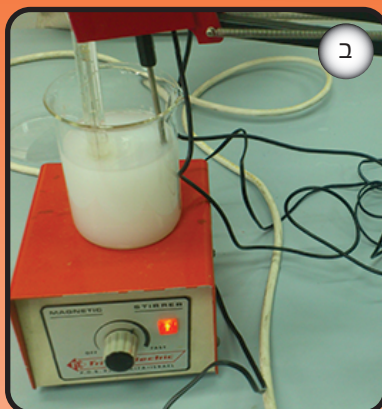
תמונה 1: החלבון קזאין במצב מוצק

שלושת הסוגים הראשונים של הקזאינים הם הידרופוביים, ילו חלבוני הקאפא-קזאין הם אמפיפטיים (בעלי חלקים הידרופיליים והידרופוביים במולקולה).

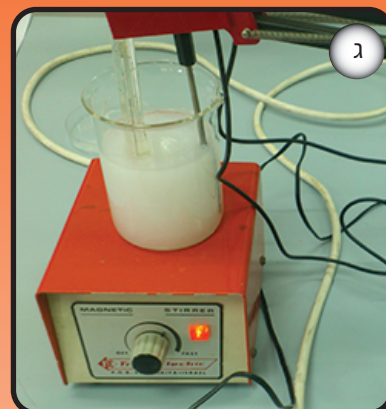
ההתארגנות המרחבית של הקזאינים בחלב היא במיצלה כדורית, שמורכבת מכ-31% חלבון, 2% מינרלים ו-66% מים. החלבונים ההידרופוביים שבקזאין נמצאים במרכז המיצלה, ואילו החלבונים האמפיפטיים נמצאים על פני השטח של המיצלה. איור 1 מראה מיצלה כדורית של קזאין (מתוך מאמר



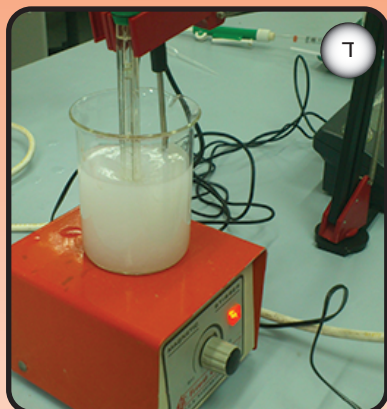
א



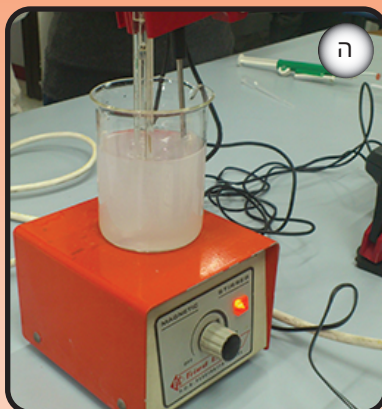
ב



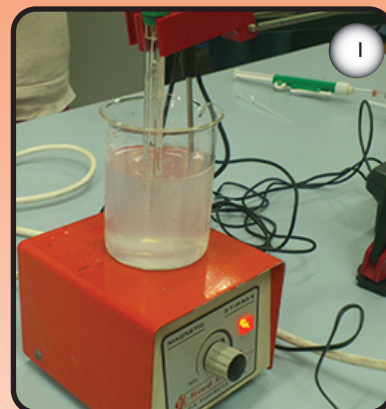
ג



ד



ה

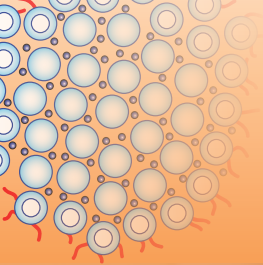


ו

תמונות א2-12: שלבים המציגים כמויות שונות של חומצה שהוספה לתמיסת הקזאין.
תמונה ג מתארת את הנקודה האיזולטרית של הקזאין שבו המסיסות של החלבון היא מינימלית.



תמונה 3: הוספת החומצה לתמיסת הקזאין



שלב ראשון - ניסוי מקדים:

1. כיילו את מכשיר ה-pH מטר.
2. העבירו כ-250 מ"ל תמיסת קזאין 0.25% לכוס כימית בנפח של 400 מ"ל. שימו בתוכה בוחש מגנטי והעמידו את הכוס על פלטת הבחישה.
3. טבלו בתוך התמיסה את האלקטרודה של pH מטר. העמידו מאחורי הכוס גיליון בריסטול שחור והפעילו את הבחישה.
4. טפטפו בעזרת פיפטת פסטר או ביורטה תמיסת HCl 1M לתוך תמיסת החלבון ושימו לב לשינויים החלים בתמיסת החלבון. רשמו תצפיות רבות, מפורטות ומגוונות.
5. המשיכו בטפטוף החומצה עד שיתקבל משקע שייראה כעכירות לבנה יציבה. רשמו את ה-pH בנקודה זו וכלי להמתין יותר מ-15 שניות הוסיפו עוד טיפה או שתיים של תמיסת HCl 1M עד להיעלמות המשקע. רשמו תצפיות רבות, מפורטות ומגוונות.

שלב שני: מהלך חקר ותכנון הניסוי

1. שאלו שאלות רבות (5 לפחות) ומגוונות שקשורות לניסוי.
2. בחרו שאלה אחת שברצונכם לחקור ונסחו אותה

כשאלת חקר.

3. העלו השערה מנומקת שמתאימה לשאלת חקר שניסחתם. נמקו את השערתכם על סמך ידע מדעי כולל חיפוש ברשת.
4. **תכנון** ניסוי שבדק את ההשערה ועונה על השאלה שבחרתם.
 - הגדירו את המשתנה התלוי והבלתי תלוי ואת צורת מדידתם.
 - ציינו גורמים קבועים.
 - הגדירו את הבקרה.
 - רשמו **מהלך מפורט** של שלבי הניסוי. הציגו את שלבי הניסוי בצורה מפורטת ובסדר לוגי.
 - הגישו **רשימה מפורטת** של חומרים וציוד לניסוי המתוכנן.
 - הגישו **למורה לאישור** ואחר כך ללבוראנטית.

להלן הוראות העבודה לתלמידים וחומר רקע למורה **לניסוי חקר - מסיסות קזאין במים (רמה II)**.

מבוסס על ניסוי של ד"ר בת שבע כהן, מרים שטרן, שרה אליאס מלקט ניסויים בביוכימיה מכשירית.

הוראות כלליות

- קראו היטב את כל ההנחיות לפני תחילת ביצוע הניסוי.
- הרכיבו משקפי מגן ושמרו על כללי הבטיחות.
- הקפידו על ביצוע הפעולות האלה:
 - מילוי מדויק אחר ההנחיות לביצוע הניסוי;
 - רישום תצפיות מפורטות, מדויקות ורבות ככל האפשר;
 - דיווח ברור ומאורגן של התצפיות (מומלץ לארגן את התצפיות בטבלה).
 - חלוקת תפקידים בתוך הקבוצה ושיתוף כל חברי הקבוצה בפעילות.
- ודאו שעומדים לרשותכם כל הציוד והחומרים הדרושים לביצוע הניסוי.
- השתמשו בשפה מדעית מדויקת ונכונה במהלך כתיבת הדו"ח.
- הגישו דוח מאורגן, קריא ואסתטי.

ציוד וחומרים

- כוס כימית בנפח של 400 מ"ל
- סטופר
- pH מטר או נייר pH אוניברסלי
- גיליון בריסטול שחור
- פיפטת פסטר או ביורטה
- תמיסת HCl 1M
- משורה
- תמיסת קזאין 0.25%
- פלטת הבחישה
- מגנט

שלב שלישי - ביצוע הניסוי והסקת המסקנות

5. **בצעו** את הניסוי שתכננתם כפי שאושר על ידי המורה.
 - הקפידו על רישום מפורט, מדויק וברור של התצפיות.
 - הציגו את התוצאות בצורה מאורגנת (טבלה, גרף, תרשים וכו').
 - פרשו ונתחו את התוצאות בצורה גראפית.
 - עבדו, במידת האפשר, את התוצאות בצורה גראפית.
6. הסיקו מסקנות על סמך כל התוצאות של הניסוי.
 - הסבירו את מסקנותיכם על בסיס ידע מדעי רלוונטי ונכון.
 - התייחסו לקשר שבין המסקנות לשאלת החקר וההשערה.
7. בדיון המסכם הקבוצתי:
 - התייחסו בביקורתיות לתוצאות (מגבלות, דיוק וכו').
 - התייחסו בביקורתיות למסקנות (מידת ההתאמה בין המסקנה להשערה, תוקף מסקנות).
 - במידת הצורך הצביעו על השינויים הרצויים בתהליך החקר (בניסוח השאלה, בתכנון הניסוי...).
 - רשמו שאלות נוספות שהתעוררו בעקבות הניסוי כולו.
8. הגישו דוח מאורגן, אסתטי וקריא.

עבודה נעימה

חומר רקע למורה

חלבונים הם ביופולימרים, וחומצות אלפא אמיניות הן המונומרים שבונים את החלבונים. לכל החומצות האמיניות שתי קבוצות פונקציונליות, קבוצה קרבוקסילית וקבוצה אמינית. לחלק מהחומצות האמיניות יש גם קבוצה פונקציונלית נוספת בקבוצות צד. חומצות אמיניות יכולות להתנהג גם כחומצה וגם כבסיס.

החומצות האמיניות מאופיינות בערכים של pK_a שמהווים מדד לחוזק הקבוצות החומציות. pK_a מציין pH שבו מחצית ממולקולות החומצה מסרו פרוטון, ומחצית עדיין לא מסרו פרוטון. מטען הקבוצות החומציות, בפפטיד או בחלבון, משתנה עם שינויי ה- pH בהתאם ל- pK_a של הקבוצות הנ"ל.

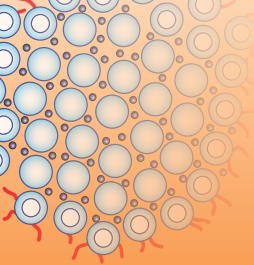
נקודה איזואלקטרית pI של חומצה אמינית, של פפטיד או של חלבון מוגדרת כ- pH שסכום המטענים השליליים שבו שווה לסכום המטענים החיוביים. כלומר, כאשר $pI=pH$, המטען הכולל שעל החלבון שווה ל-0.

שינויים ב- pH משפיעים על מסיסות החלבון

בתחום pH ששווה לנקודה איזואלקטרית, מסיסות החלבון נמוכה ביותר בהשוואה למסיסותה בתחומי pH אחרים. כתוצאה מכך החלבון שוקע, כי ב- pH זה יש קבוצות COO^- וקבוצות NH_3^+ טעונות, וכך נוצרים כוחות משיכה בין שרשרות החלבון; השרשרות מתקרבות זו לזו, ולמולקולות המים קשה להפריד ביניהן.

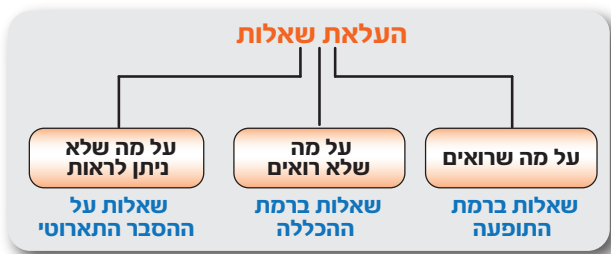
כאשר pH לא שווה ל- pI , המטען על שרשרות החלבון חיובי או שלילי, ופועלים ביניהן כוחות הדחייה. השרשרות דוחות זו את זו, ולמים קל יותר לחדור בין השרשרות, ליצור אינטראקציות מתאימות ולהפריד בין השרשרות. כתוצאה מכך מולקולות החלבון מתפזרות בין מולקולות המים, והוא מתמוסס כפי שניתן לראות באיור 2.

כל שהפרש בין ה- pH לבין pI גדול יותר - המטען החשמלי גדול יותר (חיובי או שלילי), הדחייה בין שרשרות החלבון גדולה יותר, והמסיסות טובה יותר.



במטרה ליצור בנק שאלות אני מכוונת את התלמידים לשאול שאלות מגוונות שניתן למיין אותן לפי התרשים הבא:

שם הניסוי: מסיסות החלבון קזאין במים



שאלות על מה שרואים

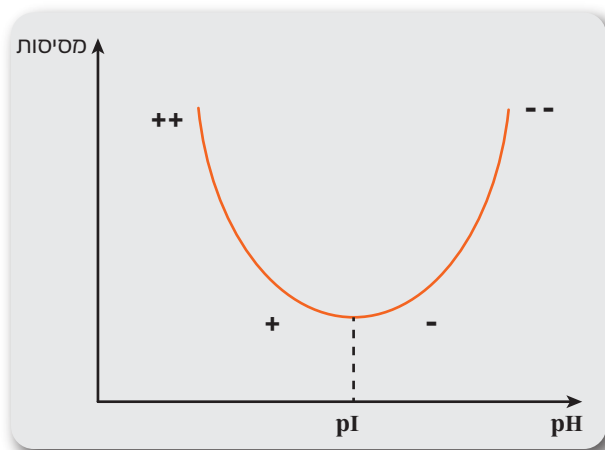
- מדוע לא מופיעה עכירות מיד עם הוספת תמיסת HCl?
- באיזה pH הופיעה עכירות יציבה?
- מהו נפח תמיסת החומצה הדרוש להופעת משקע?
- האם מסיסות החלבון במים תלויה ב-pH?

שאלות על מה שלא רואים (מתחילות ב: אילו, לו, מה היה קורה לו...)

- מה היה קורה לו הכנסנו לקזאין תמיסות מסוגים אחרים (בסיס, ניטרלי)?
- מה היה קורה לו לקחנו חלבון אחר?
- האם תמיד מופיעה עכירות כשמכניסים לתמיסת חלבון חומר כלשהו?
- לו היינו משתמשים בחלבון הביצה, האם הייתה מתרחשת התופעה הנצפית בניסוי?

שאלות על מה שלא ניתן לראות (שאלות על ההסבר המשוער)

- האם חלה תגובה בין מרכיב בקזאין לחומצה?
- איזה חומר/ים בחלב גורם/ים לשיקוע?
- האם יש קשר בין pI לשיקוע חלבון?



איור 2: גרף המראה תלות בין מסיסות ל- pH

ניתן לנצל את השינוי במסיסות הקזאין כתלות ב-pH בייצור גבינות

("הכימיה של החלב", שרית שמאי ועל שוורץ). בתהליך ייצור הגבן מתרחשת שבירת מיצלות של הקזאין. למרות שמיצלות הקזאין יציבות דיין, יש שתי דרכים תעשייתיות עיקריות המשמשות לקרישת החלב וליצירת גבן: (1) שימוש באנזים חיתוך ששמו רנין כימוזין; (2) שימוש בחומצה.

השימוש בחומצה גורם לירידה ב-pH. בנקודה האיזואלקטרית המטען החשמלי של חלבון שווה לאפס, לכן אין כוחות דחייה בין המיצלות, והן מתאחות ליצירת קריש גבן.

קיימות שתי שיטות מקובלות להחמצה. הראשונה נעשית בעזרת חיידקים המפרישים חומצה לקטית לחלב. השיטה השנייה מתבססת על הוספה ישירה של חומצה. החומצות שמקובל להשתמש בהן הן חומצה לקטית, חומצה אצטית - חומץ וחומצה ציטרית - חומצת לימון.

כפי שציינתי, אני מנצלת את הניסוי גם לצורך הקניית המיומנות של שאילת שאלות בכלל ושאלות חקר בפרט. להלן אפרט את תהליך ההקניה בניסוי זה:

- יצירת בנק שאלות (מבוסס על הצעה של רות שטנגר).
- יצירת תרשים ניסוי לצורך בניית שאלת החקר (מבוסס על הצעה של רולי אינטרטור, תיכון אזורי "הרצוג", בית חשמונאי).



אני מרגילה את התלמידים בכל ניסוי ליצור תרשים על פי ההנחיות הבאות:

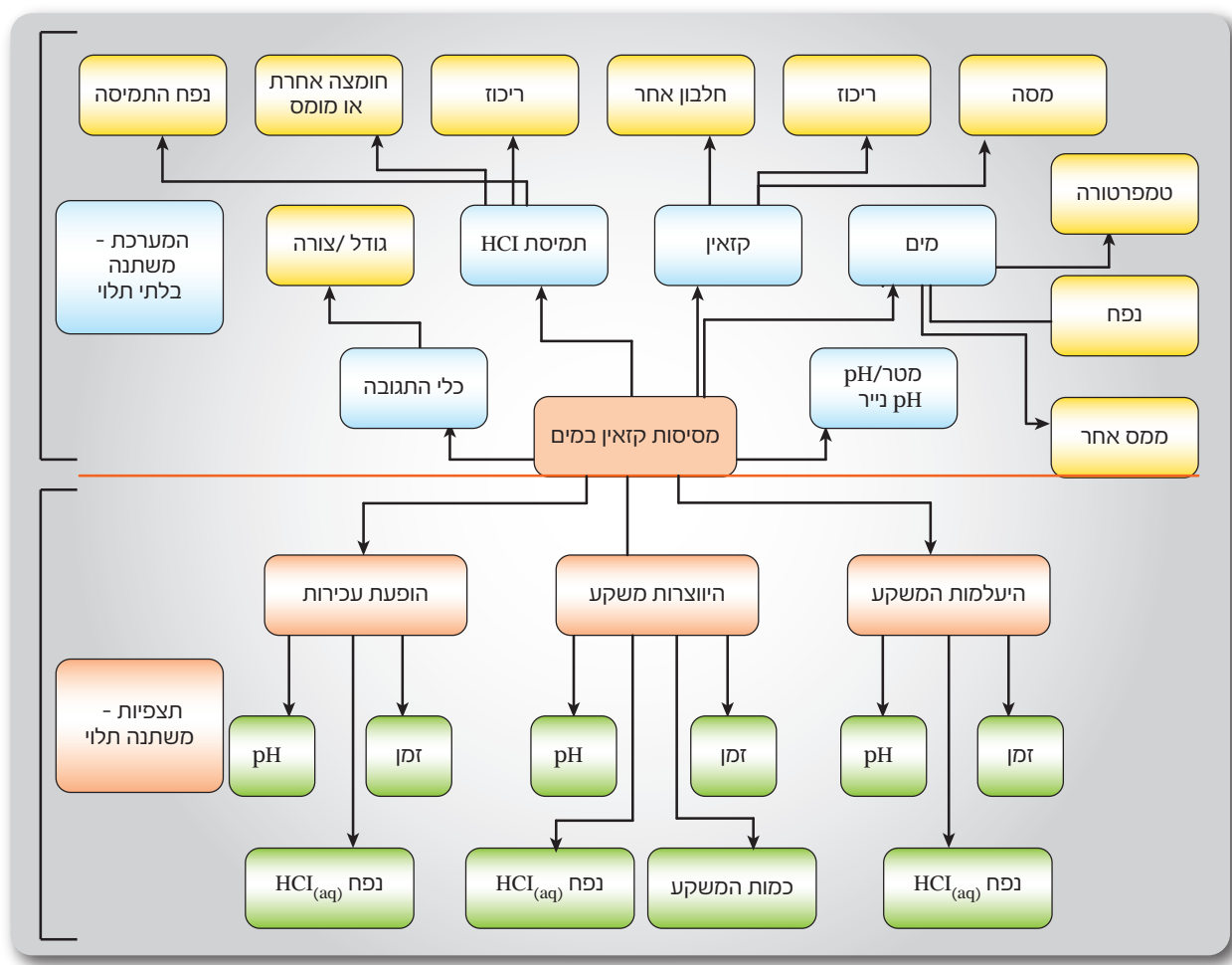
א. לרשום את שם הניסוי במרכז עמוד ריק, מעליו לרשום כל מושג או רעיון המתקשר למערכת - המשתנה הבלתי תלוי, ומתחת לשם הניסוי לרשום כל מושג או רעיון המתקשר לתצפיות - המשתנה התלוי.

ב. לרשום ליד כל מרכיבי המערכת את הגורמים הניתנים לשינוי.

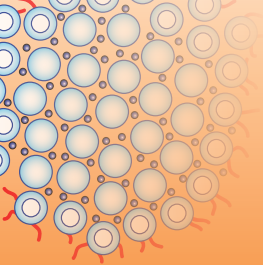
ג. לרשום את התצפיות ולידן את כל הגורמים הניתנים למדידה.

ד. לבחור משתנה אחד הניתן לשינוי ולמדידה ולנסח את שאלת החקר.

תרשים לניסוי מסיסות החלבון קזאין במים



מבוסס על תרשים של רולי אינטרטור (הסבר לגבי הכנת התרשים ניתן למצוא באתר המכפ"ר - תכנית לימודים):



להלן שאלות חקר שעלו בכיתתי במהלך ביצוע הניסוי:

1. האם וכיצד משפיע השינוי בנפח החומצה/הבסיס על זמן הופעת העכירות?
 2. האם וכיצד תשפיע החלפת הקזאין בחלבון אחר על ערך ה-pH שבו מופיעה עכירות יציבה?
 3. האם וכיצד תשפיע טמפרטורת הקזאין על זמן הופעת/אי הופעת שתי הפאזות בניסוי?
 4. האם וכיצד משפיע סוג הממס על זמן הופעת העכירות?
 5. האם יש קשר, ואם כן - מהו הקשר בין ריכוז הקזאין ובין ה-pH שבו מופיעה עכירות יציבה?
 6. האם וכיצד ישפיע שינוי בריכוז הקזאין על זמן הופעת עכירות יציבה?
 7. האם וכיצד ישפיע שינוי בריכוז תמיסת NaOH/HCl על זמן הופעת עכירות יציבה?
 8. האם שינוי בסוג החומצה/הבסיס ישפיע על זמן הופעת עכירות יציבה?
 9. מהו הקשר בין אופי התמיסה (חומצה/בסיס/ניטרלי) לבין זמן הופעת עכירות יציבה/על ה-pH שבו מופיעה עכירות יציבה?
 10. כיצד משפיע pH של התמיסה המוספת לקזאין על זמן הופעת עכירות יציבה/על ה-pH שבו מופיעה עכירות יציבה?
 11. כיצד משפיעה הנקודה האיזו-אלקטרית pI של החלבון על המסיסות שלו במים?
 12. כיצד משפיע שינוי בנפח תמיסת NaOH/HCl על כמות המשקע או על זמן הופעת המשקע או על pH שבו ייווצר המשקע?
 13. מהו הקשר בין היעלמות המשקע לריכוז התמיסה המוספת?
14. האם וכיצד משפיעה טמפרטורת תמיסת הקזאין על ערך ה-pI של קזאין?
15. מהו הקשר בין ריכוז החומצה המוספת ל-pH שבו מידת העכירות של תמיסת הקזאין מקסימלית?
- לסיכום:** אני ממליצה למורים שמלמדים פרק בחירה בביוכימיה לשלב ניסוי זה בהוראת הנושא של תכונות החומצות האמיניות והשפעת המטען החשמלי של החלבון על מסיסותו. ניתן לבצע את הניסוי כניסוי חקר מלא או כניסוי חקר חלקי. התלמידים שלי דיווחו שבתחילה נראה להם הניסוי המקדים כקסם: תמיסה צלולה הופכת לעכורה, ושוב לצלולה, ושוב לעכורה מספר פעמים. ואחרי דיון בקבוצה והעמקה בחומר תאורטי הם הבינו מהי הכימיה שעומדת מאחורי התופעה. כל התלמידים אמרו שניסוי זה עזר להם להבין את הנושא של קביעת המטען של חומצות אמיניות ושל חלבונים בתמיסה ב-pH שונה ואת חשיבותו המעשית של המטען על תכונות החלבונים. רוב התלמידים בוחרים בניסוי זה למבחן המעבדה ומספרים בהתלהבות למורים הבוחנים על נפלאות הקזאין.

מקורות:

1. אתר המחקר של חברת תנובה
2. "הכימיה של החלב" שנכתב במסגרת הסדנה להכשרת מורים מובילים לכימיה ערכו שרית שמאי ויעל שוורץ.
3. לקט ניסויים בביוכימיה מכשירית. הוצאת אורט
4. Marleen Verheul and Sebastianus P. F. M. Roefs (1998). Structure of Particulate Whey Protein Gels: Effect of NaCl Concentration, pH, Heating Temperature, and Protein Composition J. Agric. Food Chem., 1998, 46 (12), pp 4909-4916