المحاضرة الثانية /كيمياء حيوية عملي /المرحلة الثانية أ+ب

الكربوهيدرات

الاختبارات العامة للكربوهيدرات:

1اختبارات وصفية للكربوهيدرات–

الغرض من الاختبارات:

1–التعرف على الكربوهيدرات كمواد مختلفة عن اللبيدات والبروتين.

2–التمييز بين السكريات المختزلة وغير المختزلة

3–التمييز بين السكريات الاحادية والثنائية والعديدة .

4–التمييز بين السكريات الاحادية الخماسية(البنتوزات)والسكريات الأحادية السداسية (الهكسوزات.)

وتتضمن الاختبارات الوصفية للكربوهيدرات ما يلي:

اختبار موليش اختبارالانثرون اختباربندكت اختبار بيال

اختبار بارفويد اختبار تكوين بلورات الاوزازون– اختبارسلفانوف–

1- اختبار موليش

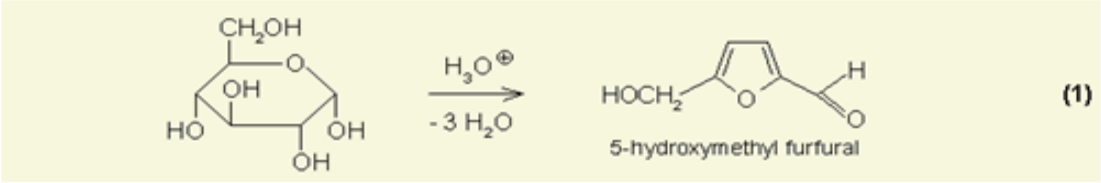
الغرض من الاختبار:

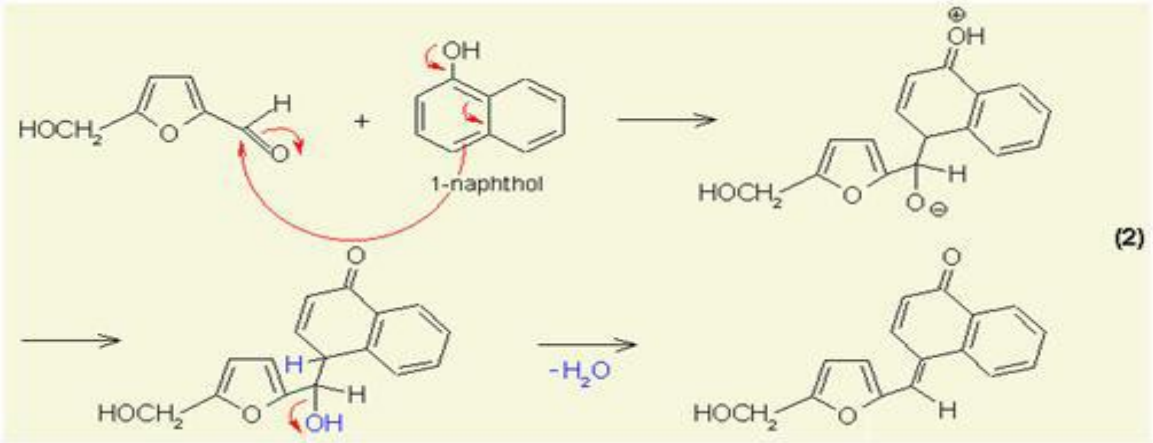
التعرف على مادة كربوهيدراتية وتمييزها عن اللبيدات والبروتين (.اختبار عام لجمي الكربوهيدرات.)

أساس الاختبار:

يتفاعل حمض الكبريتيك المركز مع السكر الخماسي والسكر السداسي ويزيل بعض

جزيئات الماء وينتج الفورفورال من السكر الخماسي وهيدروكسي ميثيل فورفورال من السكر السداسي ويمكن لكل منهما أن يتفاعل مع الفا نافثول حيث يتكون مركب أحمر- بنفسجي يظهر كحلقة بين سطحي الانفصال.



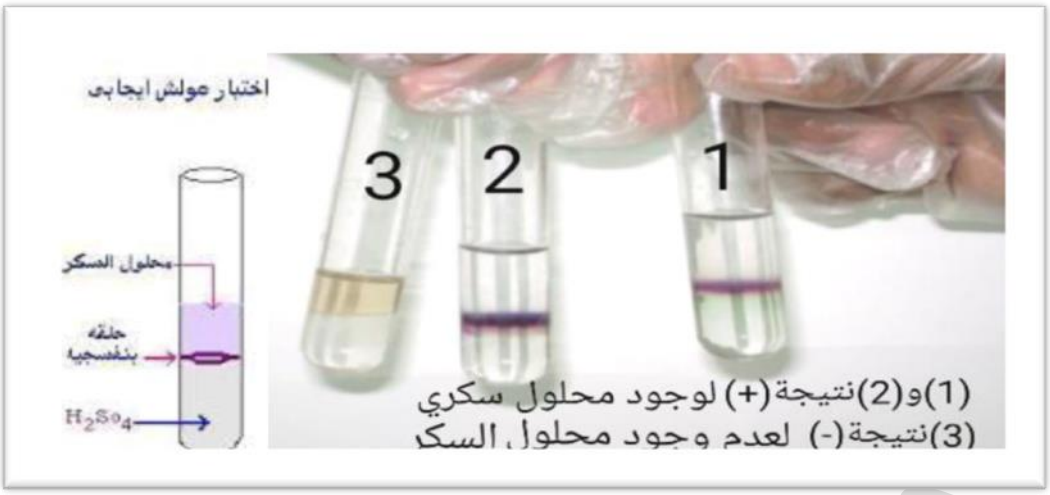


المواد:

حمض الكبريتيك المركز محلول الفا نافثول 50 – – (جم/لتر مذابا في الكحول(ايثانول) وحديث التحضير) محاليل بعض الكربوهيدرات- .(كلوكوز، فركتوز،نشأ،ارابينوز، زايلوز، دكسترين)

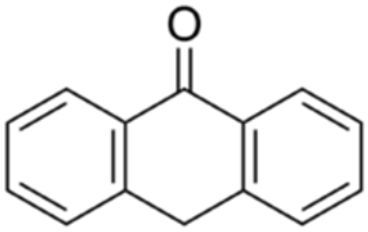
طريقة العمل:

أضيفي قطرتين من محلول ألفا نافثول إلى حوالي2 – مل من محلول الكربوهيدرات ثم أضيفي باحتراس حوالي1 مل من حمض الكبريتيك المركز على جانب الأنبوبة بحيث تتكون طبقتان .لاحظِ اللون الموجود بين الطبقتين.



2- كشف الانثرون:- يعتبر كشفاً عاماً لجميع السكريات سواء كانت أحاديه مثل الكلوكوز أو ثنائي مثل السكروز أو معقد مثل النشأ أو مرتبطة مع جزيئات أخرى (ترتبط السكريات مع الهن أو البروتين) يعتمد هذا الكشف على وجود المواد النازعة للماء مثل حامض الكبريتك المركز اذ تتحول المركبات الكاربوهيدراتية الى مركبات حلقية وتعطي لوناً أخضر مائل للزرقة

الصيغة الكيميائية الانثرون C14H10O



طريقة العمل :- ضع 1مل من محلول السكر في انبوبة اختبار وأضف اليه بضع قطرات من كاشف الانثرون رج الانبوبة جيداً لاحظ الراسب المتكونة

اختبارات اختزالية:

وتتضمن اختبار بندكت اختبارباركويد

3-اختبار بندكت- :

الغرض من الاختبار:

التمييز بين السكريات المختزلة(الكلوكوز الفركتوز المالتوز اللاكتوز الرايبوز- - - - - الارابينوز)وغير المختزلة(السكروز.)

أساس الاختبار:

يتكون محلول بندكت من كبريتات النحاس قاعدة ضعيف هو كربونات الصوديوم حيث يتكون راسب أزرق من هيدروكسيد النحاس، لذلك يضاف محلول سترات الصوديوم التي تذيب الراسب ويتكون محلول رائق هومركب سترائي النحاس الثنائي .ويختزل هذا المركب في وجود سكر مختزل إلى أكسيد النحاسوز الأحمر حيث يظهر بشكل راسب أحمر أو برتقالي .والسكريات المختزلة هي تلك التي تحتوي على مجموعة حرة من الالدهيد CHO أو الكربونيل C=O وتوجد هاتان المجموعتان في الصيغ ذات السلسلة المفتوحة أما في الصيغ الحلقية فإن هذه المجموعات المختزلة تظهر بتحول التركيب الحلقي إلى التركيب ذات السلسلة المفتوحة أثناء التفاعل.

المواد: محلول بندكت محاليل سكرية مختلفة- .

طريقة العمل:

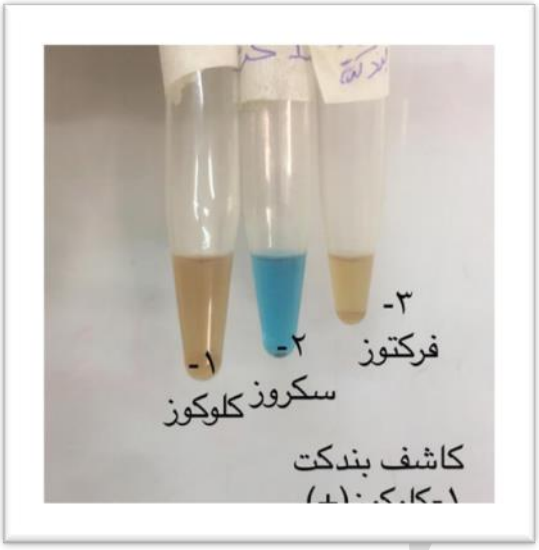
أضيفي إلى حوالي5 مل من كاشف بندكت 8 نقاط من محلول السكر ورجِ المزيج.

سخنِ حتى درجة الغليان لمدة دقيقتين(أو ضع الأنبوبة في حمام مائي مغلي لمدة3

دقائق .)أترك الأنبوبة لتبرد ببطء(تجنب التبريد بماء الصنبور .)لا حظِ تكون راسب

أحمر أو برتقالي أو أخضر وذلك حسب كمية السكرالمختزل .وفي حالة عدم وجود

سكر مختزل يبقى المحلول بلونه الأزرق الرائق.



4- اختبار بيال- :

الغرض من الاختبار:

التمييز بين السكريات الأحادية الخماسية(البنتوزات مثل الارابينوز والريبوز)

والسكريات الأحادية السداسية(الهكسوزات مثل الكلوكوز والفركتوز.)

أساس الاختبار:

إذا سخن محلول البنتوز مع حمض الهيدروكلوريك المركز لمدة قصيرة يتكون الفورفورال وهذا يتفاعل مع الاورسينول في وجود أيونات الحديدك حيث يتكون لون أخضر مزرق يلاحظ أن التسخين لمدة طويلة قد يحول دون تحول الهكسوز إلى هيدروكسي ميثيل فورفورال الذي يتفاعل مع الاورسينول.

المواد:

كاشف الاورسينول(يذاب 1.5 جم من الاورسينول في 500 مل من حمض

الهيدروكلوريك المركز ثم يضاف 20 قطرة من محلول % 10 كلوريد الحديدك.

طريقة العمل:

أضيفي حوالي1 مل من محلول السكر إلى 2.5 مل من كاشف الاورسينول في أنبوبة

اختبار وسخنِ حتى يبدأ الغليان فقط .إذا تكون لون أخضر مزرق فإن الكشف موجب

.

5-اختبار بارفويد- :

الغرض من الاختبار:

التمييز بين سكر أحادي مختزل(الجلوكوز الفركتوز الارابينوز الريبوز- - -)

وسكرثنائي مختزل(المالتوز اللاكتوز- .)

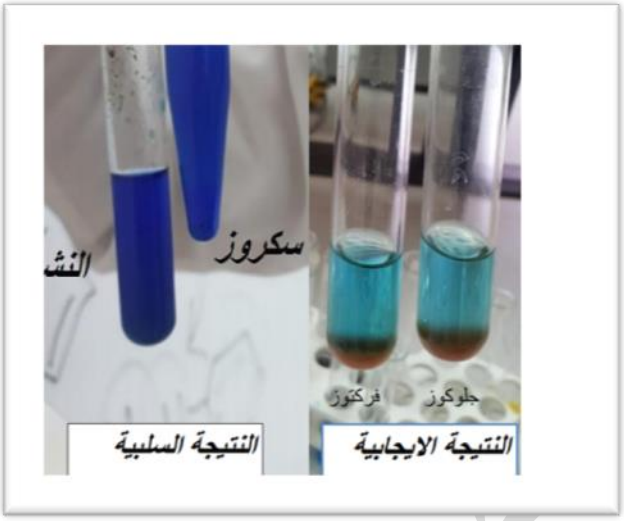
أساس الاختبار:

في هذا الاختبار يتم الاختزال في وسط حامضي بدلاً من الوسط القلوي كما هو الحال في اختبار بندكت .وفي هذه الظروف تستجيب السكريات الأحادية المختزلة للاختبار أسرع من السكريات الثنائية المختزلة حيث تتفاعل السكريات الثنائية المختزلة ببطء وبصورة غير تامة .

ويتكون كاشف بارفويد من محلول خلات النحاس في حمض الخليك__.

طريقة العمل:

أضف حوالي 1 مل من محلول السكر إلى حوالي 2مل من كاشف بارفويد. سخن لدرجة الغليان مدة دقيقة واحدة واترك المحلول ليبرد. لاحظ تكون لون أحمر)وليس بني أو برتقالي(في وجود السكر المختزل



6- اختبار سلفانوف Seliwanoff's test

الغرض من الاختبار:

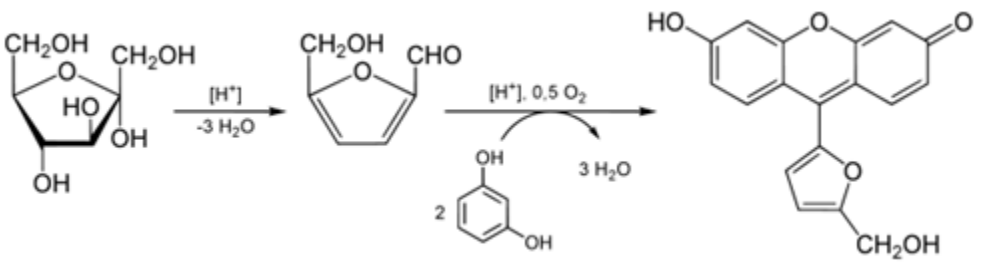
التمييز بين السكريات الأحادية الالدهيدية)الكلوكوز(والسكريات الأحادية الكيتونية)الفركتوز(أو على السكريات التي تعطي سكريات كيتونية بالتحلل المائي مثل السكروز. التفاعل إيجابي مع السكريات الحاوية على 6 ذرات كربون والكيتونية.

كاشف التفاعل:

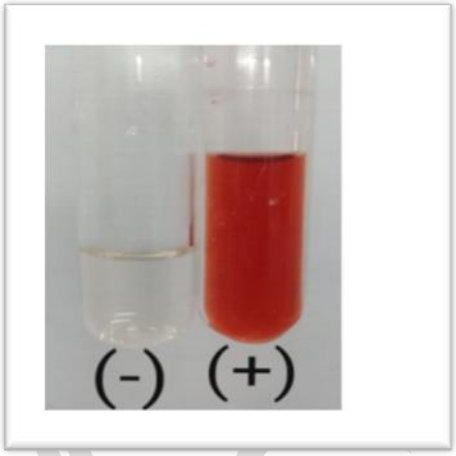
يتكون من الريزورسينول وحمض الهيدروكلوريك HCl .

أساس الاختبار:

تختلف السكريات الكيتونية عن السكريات الالدهيدية في أنها تفقد الماء وتكون فورفوا رل بسهولة أكثر. ويتكثف الفورفوا رل مع الريزوسينول يتكون معقد أحمر اللون.



طريقة العمل أضف قطرتين من محلول السكر إلى 2 مل من الكاشف وضع المحلول في حمام مائي مغلي لمدة دقيقة لاحظ تكون لون أحمر داكن



7-اختبار اليود Test Iodine

يعتبر من الاختبارات الحساسة جدا لوجود النشا والدكسترين والكلايكوجين كما إن الاختبار حساس بالنسبة للحرارة ووسط التفاعل حيث يعطي نتيجة موجبة في الوسط المتعادل والحامضي وسالبة في الوسط القاعدي .

يعتمد الاختبار على ادمصاص اليود الحر على سطح المادة الكاربوهيدراتية المتعددة السكر معطيا اللون الأزرق في حالة النشا والبنفسجي في حالة الدكسترين والأحمر الفاتح في حالة الكلايكوجين . والا يصح إجراء تجربة اليود في المحاليل القلوية حيث يختفي اليود الحر متحول إلى ملح يوديد (Iodide)وملح ايودات (Iodate)كألاتي

$NaOH + 3I_2$ $5NaI + NaIO_3 + 3H_2O_6$

ايودات يود

لذا تكون نتيجة الاختبار سالبة والا يظهر اللون الأزرق مع النشا و لكن عند إضافة حامض معدني مثل (HCl)ينطلق اليود الحر مرة أخرى عن طريق تفاعل االيودات مع اليود في الوسط الحامضي وبذلك يظهر اللون الأزرق مرة أخرى

فعند إجراء كشف اليود يجب أن يكون النشا أو الدكسترين في درجة حرارة الغرفة لكون الحرارة لا تساعد على ادمصاص اليود على سطح النشا أو الدكسترين . أما إضافة محلول ثايوكبريتات الصوديوم يختفي اللون الأزرق لتفاعل اليود مع الثايوكبريتات مكونا ملح اليود

$$Na_2S_2O_3 + I_2 \qquad 2NaI + Na_2S_4O_6$$

د.م شيرين فاضل