# الفـهــرس


| العنوان |
| --- |
| **تجـــــارب الكاربوهـــيدرات** |
| التجربة الاولى : الكشوفات النوعية للسكريات الاحادية و الثنائية |
| التجربة الثانية : كشف الاوسازون |
| التجربة الثالثة : الكشوفات النوعية للسكريات المتعددة |
| التجربة الرابعة : كشوفات الترسيب للسكريات المتعددة |
| **تجـــــارب الدهــون ( اللبيــدات )** |
| التجربة الاولى : تعيين رقم الحموضة للدهون المتعادلة |
| التجربة الثانية : تقدير رقم التصبن للدهون المتعادلة |
| **تجـــــارب الاحمـــاض الامـينيــة** |
| التجربة الاولى : كشف النهايدرين للأحماض الامينية |
| **تجـــــارب البروتـينــات** |
| التجربة الاولى : كشف بايوريت للببتيدات و البروتينات |
| **تجـــــارب الفيتــامينــات** |
| التجربة الخامسة : تقدير فيتامين C في المواد الغذائية باستعمال اليود |

# تجارب الكاربوهيدرات

# Carbohydrates Experiments

**التجربة الاولى**

**الكشوفات النوعية للسكريات الاحادية و الثنائية**

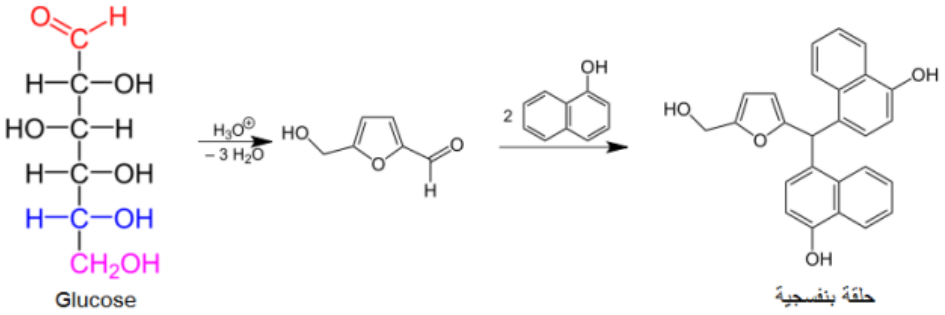
**Qualitative tests of mono and disaccharides**

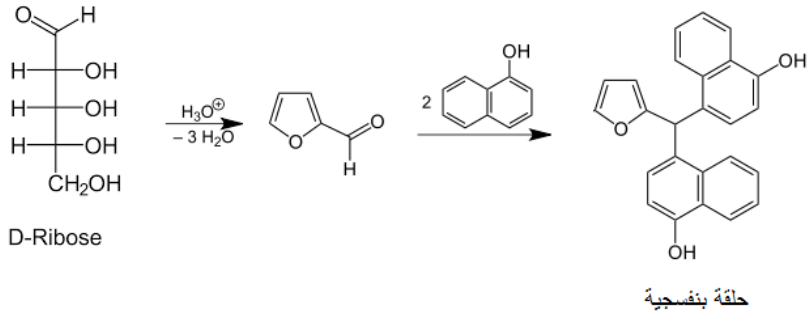
ان الكاربوهيدرات carbohydrates ( السكريات ) هي مركبات عضوية الديهايدية او كيتونية تحتوي على مجاميع هيدروكسيل hydroxyl groups و تصنف بأصناف مختلفة فقد تكون سكريات احادية مثل الكلوكوز و الكالكتوز او ثنائية مثل اللاكتوز و المالتوز او ثلاثية مثل الرافينوز او متعددة مثل النشأ و الكلايكوجين ، و قد تصنف على اساس كونها الديهايدية مثل الكلوكوز و المالتوز و السيليلوز او كيتونية مثل الفركتوز و الأنيولين ، و قد تصنف على اساس انها سداسية الكاربون مثل الكلوكوز و الفركتوز او خماسية الكاربون مثل الرايبوز و الزايلوز ، وقد تصنف على انها مختزلة مثل المانوز و اللاكتوز و غير مختزلة مثل السكروز و النشأ . ان الكاربوهيدرات عموما هي مركبات ذائبة في الماء بسبب قطبيتها العالية التي تعود الى التأصر الهيدروجيني بين ذرات الهيدروجين في السكر وذرات الاوكسجين في الماء أو بين ذرات الاوكسجين في السكر و ذرات الهيدروجين في الماء .

في هذه التجربة سيتم التطرق الى الكشوفات النوعية (اللونية) للسكريات الاحادية و الثنائية وهذه الكشوفات هي :

**١- كشف مولش Molisch´s Test**

وهو كشف موجب عام لجميع انواع السكريات الاحادية و المعدودة بما فيها (الثنائية ) و المتعددة . يتضمن مبدأ الكشف تفاعل كاشف مولش المتكون من ($\alpha$- نفثول الكحولي و حامض الكبريتيك المركز ) . في البداية يتفاعل حامض الكبريتيك المركز مع السكر الاحادي و يتم سحب او ازالة ثلاث جزيئات ماء من السكر ليتكون فورفورال (furfural) في حالة السكر خماسي الكاربون و هيدروكسي مثيل فورفورال (hydroxy methyl furfural) في حالة السكر سداسي الكاربون ، ثم يتفاعل الفورفورال او هيدروكسي مثيل فورفورال مع محلول $\alpha$ – نفثول الكحولي ليتكون معقد على شكل حلقة بنفسجية اللون في منتصف الطبقتين كما في المعادلات الاتية :




المواد الكيميائية المستعملة :

١- سكريات احادية سداسية الكاربون مثل الكلوكوز و الكالكتوز و الفركتوز و خماسية الكاربون مثل الرايبوز و الارابينوز .

٢- كاشف مولش و يتكون من :

١- α- نفثول الكحولي (0.5% w/v) في مذيب الايثانول .

٢- حامض الكبريتيك المركز.

طريقة العمل :

١- حضر السكريات الاحادية و الثنائية بتركيز ( 5 % w/v) بالماء المقطر.

٢- ضع في كل انبوبة اختبار 1ml من هذه السكريات .

٣- اضف الى كل انبوبة اختبار 1ml من محلول α- نفثول الكحولي مع الرج جيدا .

٤- اجعل كل انبوبة اختبار بالوضـــع المائل ثم ضـــع عدة قطرات من حامض الكبريتيك المركز ببطء و انسيابية على جدار الانبوبة ثم اعد الانبوبة بلطف الى الوضع القائم و لاحظ تكون الحلقة البنفسجية بين الطبقتين.

٥- سجل الملاحظات في دفتر التجارب.

ملاحظات حول كشف مولش:

١- الكشف عام لجميع انواع السكريات و ايضا المركبات العضوية التي تنتج الفورفورال .

٢- حامض الكبريتيك يسمى عامل نازع للماء (dehydrating agent) و لا يعمل كعامل مؤكسد (oxidizing agent) .

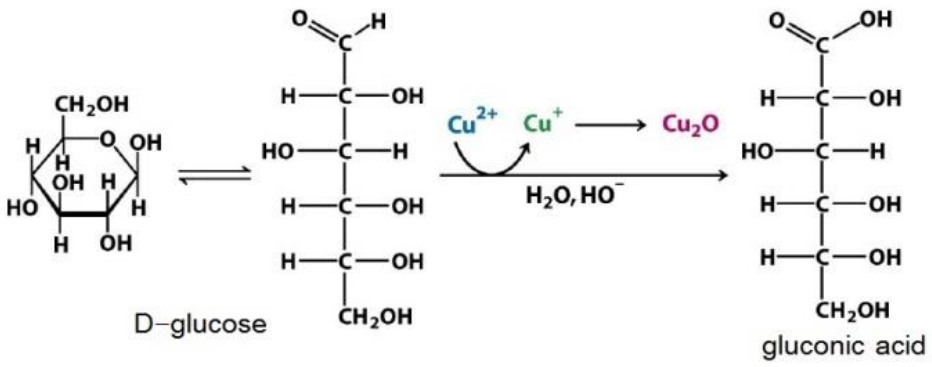
٣- يمكن استعمال الثايمول بدل عن محلول α- نفثول الكحولي و ذلك لانه اكثر استقرارا و ثباتية.

٤- قد يكون لون الحلقة البنفسجية بين (البني و البنفسجي ) و احيانا يكون مائلا الى اللون البني .

٥- تتكون الحلقة البنفسجية في الحد الفاصل بين الطبقتين العليا وهي محلول السكر و السفلى حامض الكبريتيك .

## ٢- كشف بندكت و تولن Benedict's and Tollen's Test

هو كشف خاص للسكريات المختزلة ( الاحادية و الثنائية و المعدودة ) . ان الصفة الاختزالية في السكر تأتي من كونه يمتلك مجموعة كاربونيل (الديهايد او كيتون ) حرة واحدة او اكثر ، و هذا يعني عدم ارتباط اي من هاتين المجموعتين بالأصرة الكلايكوسيدية ( glycosidic bond) ونستنتج من ذلك ان جميع السكريات الاحادية مختزلة لعدم امتلاكها الاصرة الكلايكوسيدية و بالتالي فان مجموعتي الالديهايد او الكيتون تكون حرة اساساً ، اما السكريات الثنائية فبعضها مختزل مثل اللاكتوز ( المتكون من وحدتي من سكري الكلوكوز و الكالكتوز) ، و بعضها غير مختزل مثل السكروز ( المتكون من وحدتي الكلوكوز و الفركتوز ) . يتضمن هذا الكشف تفاعل السكر الالديهايدي المختزل مع كاشف بندكت وهو ايون النحاس الثنائي ($Cu^{2+}$) او كاشف تولن وهو ايون الفضة الاحادي ($Ag^{1+}$) و يؤدي ذلك الى اختزال الكاشف $Cu^{2+}$ الى ايون النحاس الاحادي ($Cu^{1+}$) . في حين يتأكسد السكر الاحادي ، فمثلا عند تفاعل كاشف بندكت مع سكر الكلوكوز في وسط قاعدي ضعيف يتكون حامض الكلوكونيك ( ناتج من اكسدة مجموعة الالديهايد في الكلوكوز) . في حين يتحول ايون $Cu^{2+}$ الى المركب اوكسيد النحاسوز اي الى $Cu^{1+}$ على شكل راسب احمر، كما في المعادلة الاتية :




ملاحظات حول كشف بندكت :

١- يكون هذا الكاشف حساساً بما فيه الكفاية و خاصةً السكريات الاحادية .

٢- كاربونات الصوديوم المستعملة في الكشف تؤدي الى حدوث التفاعل في وسط قاعدي ضعيف لذلك نحصل على كشف موجب للسكريات المختزلة فقط ، كما هو الحال في الادرار الحاوي على سكريات مختزلة ومواد عضوية مختزلة . كما ان كاربونات الصوديوم ليس لها تأثير سلبي على السكريات مقارنة مع هيدروكسيد الصوديوم المستعملة في كشف فهلنك (Fehling Test) .

٣- عدم حدوث ظاهرة الاختزال الذاتي (auto-reduction) في هذا الكشف .

٤- يحتاج كاشف بندكت عند الخزن الى قنينة حجمية واحدة .

المواد الكيميائية المستعملة :

١- سكريات مختزلة احادية مثل الكلوكوز و الفركتوز و الكالكتوز و ثنائية مثل المالتوز و اللاكتوز .

٢- كاشف بندكت النوعي و يتكون من المواد الاتية :

كبريتات النحاس + سترات الصوديوم + كاربونات الصوديوم اللامائية

تحضير كاشف بندكت النوعي :

١- أذب 17.3 gm من كبريتات النحاس في 100 ml من الماء المقطر ثم اكمل الحجم الى لتر واحد .

٢- أذب 173 gm من سترات الصوديوم و 100 gm من كاربونات الصوديوم اللامائية في 800 ml من الماء المقطر ثم سخن بعد ذلك . برد المحلول ثم رشح واضف الى الراشح محلول كبريتات النحاس الذي تم تحضيره في الفقرة 1 .

٣- ماء مقطر.

طريقة العمل :

١- حضر السكريات المختزلة في الماء المقطر بتركيز (5% w/v).

٢- ضع في كل انبوبة اختبار 1 ml من السكر المختزل ثم اضف اليه 2 ml من كاشف بندكت الى كل انبوبة مع الرج جيداً .

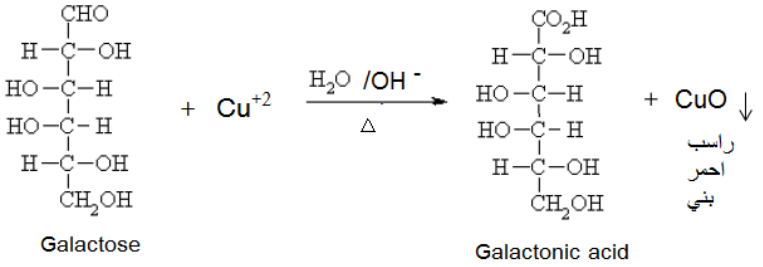
٣- سخن في حمام مائي بدرجة الغليان لمدة خمس دقائق و لاحظ تكون الراسب الاحمر من اوكسيد النحاسوز .

٤- سجل الملاحظات في دفتر التجارب.

### ٥- كشف فهلنك Fehling's Test

و هو كشف خاص للسكريات المختزلة و ايضا يعمل بنفس مبدا عمل كاشف بندكت الذي تم ذكره سابقا ، اذ يتم اختزال ايون النحاس الثنائي الى ايون النحاس الاحادي ، في حين تتأكسد مجموعة الالديهايد في السكر الى مجموعة كاربوكسيل , تتفاعل السكريات المختزلة مثل سكر الكالكتوز مع كاشف فهلن ويكون هيدروكسيد النحاسيك ذائباً لذا يحول الى اوكسيد النحاسيك الذائب و ماء كما في المعادلات الاتية :

$$2\ Cu(OH)_2 \longrightarrow 2CuO + 2H_2O$$




المواد الكيميائية المستعملة :

١- سكريات احادية و ثنائية مختزلة .

٢- محلول فهلنك نوع A : و الذي يتكون من محلول كبريتات النحاس سباعية الماء و يحضر باذابة 70 gm من المادة في كمية من الماء المقطر ثم يكمل الحجم الى لتر واحد .

٣- محلول فهلنك نوع B : و يتكون من اذابة هيدروكسيد الصوديوم 250 gm و ترترات الصوديوم البوتاسيوم 246 gm في كمية من الماء المقطر ثم اكمال الحجم الى 1L و المسمى ملح روشل .

تحضير الكاشف :

خذ حجمين متساويين من المحلول A و المحلول B ثم امزجهما سوية و لاحظ تكون مادة جيلاتينية ذات لون ازرق باهت هي هيدروكسيد النحاسيك و الذي تذوب بسرعة بوجود ملح روشل (Rotchell salt) ليتكون محلول ذو لون ازرق داكن كما في التفاعل الاتي :

$$CuSO_4 + 2NaOH \longrightarrow Cu(OH)_2 + Na_2SO_4$$

٤- ماء مقطر .

طريقة العمل :

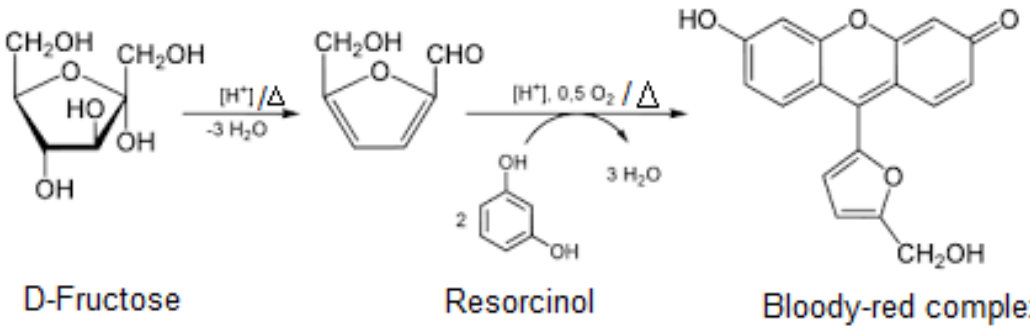
١- حضر السكريات الاحادية و الثنائية المختزلة بتركيز (5% w/v).
٢- ضع في كل من خمسة انابيب اختبار 1 ml من السكر المختزل ثم اضف الى كل انبوبة 2 ml مللتر من كاشف فهلنك مع الرج جيدا .
٣- سخن الانابيب في الحمام المائي المغلي لمدة خمس دقائق و لاحظ ليتكون الراسب الاحمر البني من اوكسيد النحاسوز .
٤- سجل الملاحظات في دفتر التجارب .

ملاحظات حول كاشف فهلنك :

١- يمكن زيادة حساسية كاشف فهلنك بتخفيف الكاشف بالماء المقطر بنسبة (1:5) وبالتالي يظهر الراسب الاحمر من اوكسيد النحاسوز بوضوح وان كانت كميته قليلة .
٢- لا يمكن اجراء الكشف في الوسط الحامضي وانما فقط في الوسط القاعدي الضعيف او الوسط المتعادل .
٣- لا يفضل استعمال كاشف فهلنك في الكشف عن سكر الكلوكوز في الادرار لان المركبات العضوية المختزلة الاخرى مثل فيتامين C (حامض الأسكوربك) ascorbic acid وحامض البوليك (اليوريك) uric acid قد تقوم باختزال كاشف فهلنك .
٤- في حالة استعمال كاشف فهلنك لاختبار وجود الكلوكوز في الادرار , فانه تترسب املاح الفوسفات الموجودة اصلا في الادرار معطيةً راسباً ذا لون اخضر .
٥- تستعمل قنينتان منفصلتان في كاشف فهلنك , ويراعى عدم مزج محلولي القنينتين تفاديا لحصول ظاهرة الاختزال الذاتي auto reduction وبالتالي عند تسخين كاشف فهلنك لوحده يؤدي ذلك الى تكوين الراسب الاحمر , لذا يراعى قبل استعمال هذا الكاشف التأكد من صلاحيته وذلك بأجراء عملية الغليان عليه ثم ملاحظة عدم تغير لونه الازرق الداكن.

### ٤ . كشف سلفانوف Seliwanoff 's test

وهو كشـف خاص للسـكريات الكيتونية اي انه يعطي كشـفاً سـالباً مع السـكريات الالديهايدية , ويتضـمن مبدا الكشف تفاعل حامض الهيدروكلوريك (3N) مع السكر الكيتوني ليتم سحب ثلاث جزيئات ماء من السكر ليتكون الفورفرال او مشتقاته (هيدروكسي مثيل فورفرال) , ثم يتفاعل الفورفرال مع ريسورسينول resorcinol بالتسخين ليتكون معقد لونه احمر دموي كما في تفاعل الفركتور مع الكاشف حسب المعادلات الاتية :




المواد الكيميائية المستعملة :

١- سكريات كيتونية احادية وثنائية .

٢- كاشف سلفانوف ويتكون من : ريسورسينول (0.5% w/v ) المحضر بحامض الهيدروكلوريك (3N).

٣- ماء مقطر.

طريقة العمل :

١- حضر السكريات الكيتونية بتركيز (5% w/v ) بالماء المقطر.

٢- جهز انبوبتي اختبار و ضـع في الانبوبة الاولى 1ml من السـكر الكيتوني الاحادي وفي الانبوبة الثانية ضع 1 ml من السكر الكيتوني الثنائي ثم اضف الى كل منهما 2 ml من كاشف سلفانوف مع الرج جيدا .

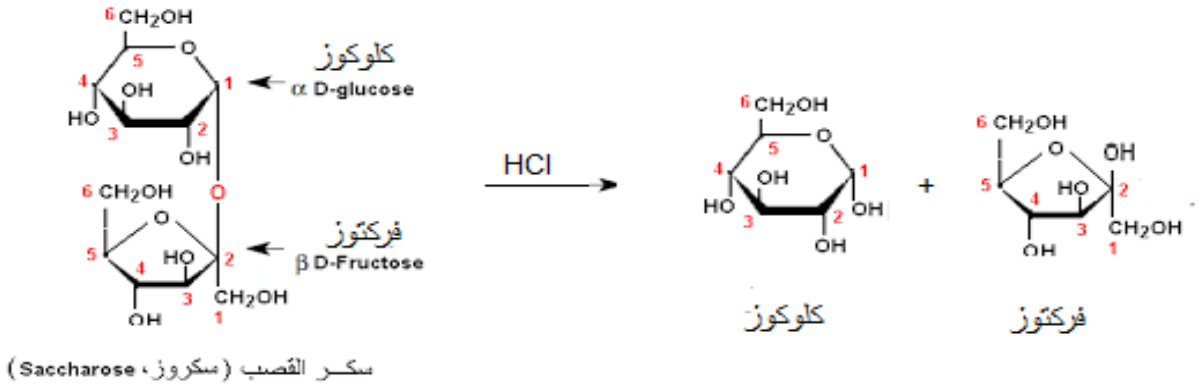
٣- سخن الانبوبتين في الحمام المائي المغلي لمدة (5-10) دقائق و لاحظ تكون اللون الاحمر الدموي.

٤- سجل الملاحظات في دفتر التجارب .

ملاحظات حول كاشف سلفانوف :

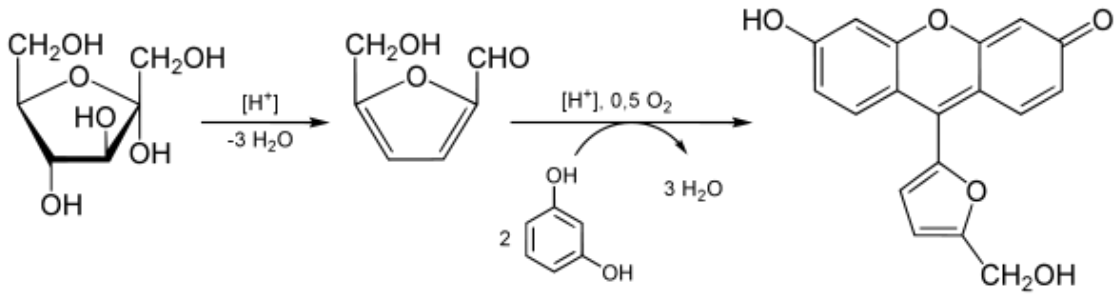
١- ان السـكريات الالديهايدية لا تكون مشـتق الفورفورال اذا كان تركيز حامض الهيدروكلوريك (3N) وذلك لكون قدرتها الاختزالية ضـعيفة مقارنةً بالسكريات الكيتونية و لكن يجب الانتباه انه اذا زاد تركيز حامض الهيدروكلوريك اكثر من اللازم فانه يمكن ان يتكون مشتق الفورفورال مع سكر الكلوكوز.

٢- السـكر الثنائي السـكروز sucrose المتكون من (كلوكوز و فركتوز ) يعطي كشـفا موجبا مع كاشـف سـيلفانوف و ذلك لانه يتحلل بفعل حامض الهيدروكلوريك الذي يقوم بكسـر الاصـرة الكلايكوسـيدية بين الكلوكوز و الفركتوز كما في المعادلات الاتية :



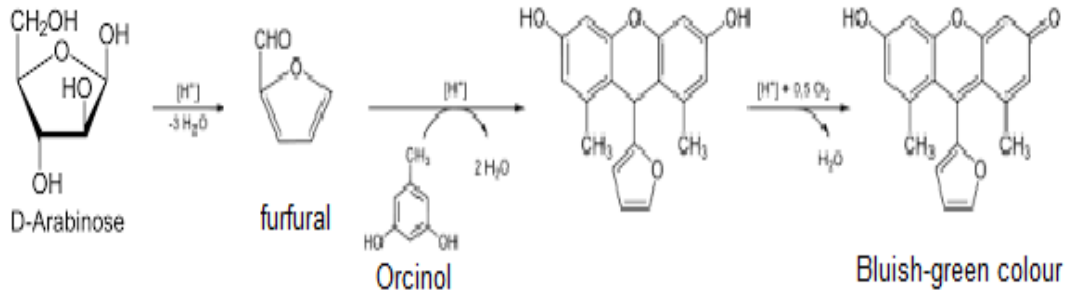

سكـر القصب (سكروز، Saccharose)

و بالتالي يتفاعل الفركتوز مع كاشف سيلفانوف كما في المعادلات الاتية :



## ٥- كشف بيال Bial's Test

هو كشف خاص للسكريات الخماسية الكاربون . يتضمن مبدأ الكشف تفاعل حامض الهيدروكلوريك المركز مع السكر خماسي الكاربون بوجود التسخين و يتم سحب ثلاث جزيئات ماء من السكر ليتكون الفورفورال و الذي يتفاعل بعد ذلك مع اورسينول Orcinol بوجود كلوريد الحديديك ferric chloride ليتكون معقد ذو لون اخضر- مزرق كما في تفاعل سكر الارابينوز مع الكاشف حسب المعادلات الاتية :




المواد الكيميائية المستعملة :

١- سكريات خماسية الكاربون .

٢- كاشف بيال و يتكون من اذابة 1.5 gm من اورسينول في نصف لتر من حامض الهيدروكلوريك المركز ثم اضافة 2 ml من محلول كلوريد الحديديك (10% w/v) .

٣- ماء مقطر .

طريقة العمل :

١- حضر السكريات خماسية الكاربون بتركيز (5% w/v) بالماء المقطر .

٢- خذ انبوبتي اختبار و ضع في احداهما 1 ml محلول سكر خماسي الكاربون الديهايدي و الاخرى 1ml من محلول سكر خماسي الكاربون كيتوني .

٣- اضف الى كل انبوبة 2 ml من كاشف بيال مع الرج جيدا .

٤- سخن في الحمام المائي المغلي لمدة (5-10) دقائق و لاحظ ظهور اللون الاخضر- المزرق .

٥- سجل الملاحظات في دفتر التجارب .

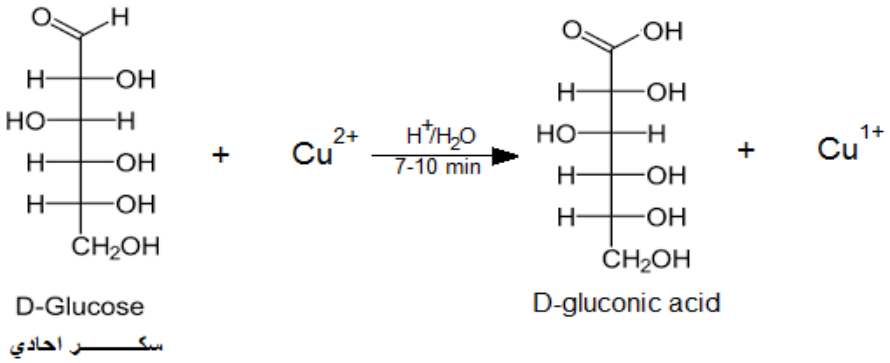
ملاحظات حول كشف بيال :

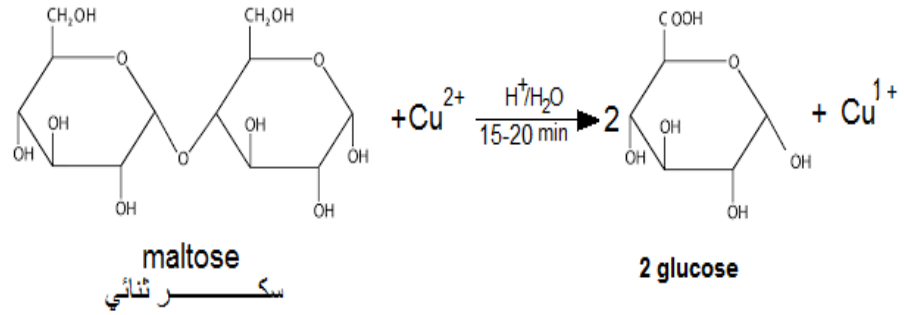
١- ان حامض اليورونيك uronic acid هو حامض سكري ( تتأكسد فيه مجموعة الكحول الاولية مع بقاء مجموعة الالديهايد حرة ) يفقد ثاني اوكسيد الكاربون ليتحول الى سكر خماسي pentose و لهذا يعطي كشفا موجبا مع كاشف بيال .

٢- السكريات السداسية الكاربون تعطي مع كاشف بيال الوانا بنية او خضراء .

### ٦-كاشف بارفويد Barfoed's Test

هو كشف لتمييز السكريات الاحادية ايجابيا عن السكريات الثنائية المختزلة فقط و هذا يعني ان كاشف بارفويد يعطي كشفا موجبا مع السكريات الاحادية مثل الكلوكوز و الكالكتوز و ذات القدرة الاختزالية العالية و كشفا موجبا مع السكريات الثنائية المختزلة فقط مثل المالتوز و اللاكتوز ذات القدرة الاختزالية الضعيفة مقارنةً بالسكريات الاحادية ، في حين ان هذا الكشف يعطي نتيجة سالبة مع السكريات الثنائية غير المختزلة مثل السكروز ، يتم في هذا الكشف اختزال ايون النحاس الثنائي ($Cu^{2+}$) الى ايونات النحاس الاحادي ($Cu^{1+}$) بهيئة راسب احمر من اوكسيد النحاسوز ($Cu_2O$) في وسط حامضي ضعيف . ان عملية الاختزال التي تجري في وسط حامضي ضعيف تحدث بصعوبة نوعا ما ، كما ان الكشف يحصل بوجود التسخين اذ ان السكريات الاحادية تحتاج الى مدة تسخين من (7-10) دقائق بينما السكريات الثنائية المختزلة تحتاج الى مدة تسخين من (15-20) دقيقة حتى يتكون الراسب الاحمر من اوكسيد النحاسوز كما في المعادلات العامة الاتية :



المواد الكيميائية المستعملة:

١- سكريات احادية و ثنائية مختزلة .

٢- كاشـــف بارفويد و يتكون من اذابة 6.5 gm من خلات النحاســـيك في 100 ml من الماء المقطر ثم يرشـح المحلول و بعد ذلك يضـاف الى الراشـح 2 ml من حامض الخليك المركز او 6 ml من حامض اللاكتيك (8.6% w/v) .

٣- ماء مقطر .

طريقة العمل :

١- حضر السكريات الاحادية و الثنائية المختزلة بتركيز (5% w/v) بالماء المقطر .

٢- خذ انبوبتي اختبار و ضـع في احداهما 1 ml من السـكر الاحادي و ليكن الكالكتوز و ضـع في الانبوبة الثانية 1 ml من السكر الثنائي المختزل و ليكن المالتوز .

٣- اضف لكل انبوبة اختبار 3 ml من كاشف بارفويد مع الرج جيدا .

٤- ســـخن الانبوبتين في الحمام المائي المغلي من (7-10) دقائق لســـكر الكالكتوز و لفترة من (15-20) دقيقة لسكر المالتوز و لاحظ تكون الراسب الاحمر من اوكسيد النحاسوز في كلتا الانبوبتين .

٥- سجل الملاحظات في دفتر التجارب .

ملاحظات حول كشف بارفويد :

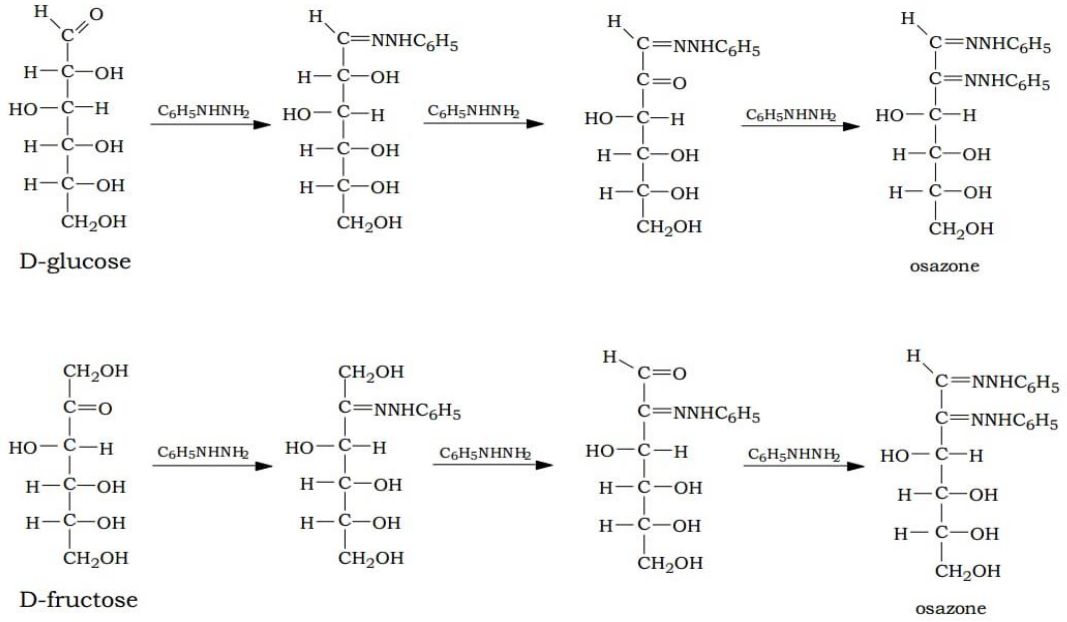
١- السكريات الثنائية غير المختزلة تعطي كشفا سالبا مع كاشف بارفويد، اذ يبقى لون المحلول ازرق بدون تكون الراسب الاحمر .

٢- تفاعل كشف بارفويد يكون بطيئا لانه يجري في وسط حامضي ضعيف .

**التجربة الثانية**

**كشف الاوسازون Osazone Test**

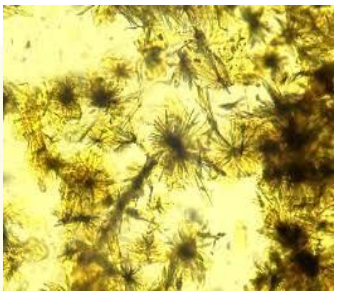
وهو كشف خاص للسكريات الأحادية والثنائية المختزلة فقط الحاوية على مجاميع الديهايد وكيتون حرة , ويتضمن الكشف تفاعل هذه السكريات مع خليط صلب من ( فينل هيدرازين هيدروكلوريد وخلات الصوديوم ) لتوفير فنيل هيدرازين بوجود التسخين لتتكون بلورات ذات لون أصفر تسمى الأوسازون ويعتمد الشكل البلوري الناتج على نوع السكر المستعمل والترتيب الفراغي للهيكل الكاربوني في السكر بعد ذرة كاربون رقم (٢) كما في ميكانيكية تفاعل D– الكلوكوز مع فينل هيدرازين وD–فركتوز مع فنيل هيدرازين.




كما يمكن كتابة المعادلات الكيميائية الكاملة في كشف الاوسازون لباقي السكريات الاحادية والثنائية المختزلة .

اشكال بلورات الاوسازون للسكريات الاحادية :

ان الشكل البلوري لبلورة الاوسازون الصفراء لسكريات الكلوكوز والفركتوز والمانوز هو ابرية حادة كما في الشكل الآتي:



كلوكوز

فركتوز

مانوز

وشكل بلورة الاوسازون الصفراء لسكر الكالكتوز هو عش العصفور كما في الشكل الآتي :

سكر الكالكتوز

في حين ان الشكل البلوري لبلورة الاوسازون لسكر الزايلوز فهو خيوط مبعثرة كما في الشكل الآتي :

سكر الزايلوز

صفات بلورات الاوسازون للسكريات الاحادية :

١- تكون غير ذائبة في محاليلها الساخنة (مترسبة) .

٢- تحتاج الى مدة تسخين قليلة لتكونها مقارنة بالسكريات الثنائية المختزلة .

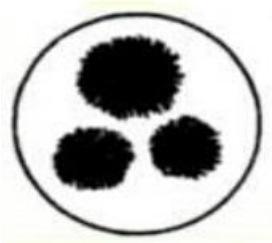
٣- لا تحتاج الى تبريد وانما تتكون تلقائياً بعد اتمام مدة التسخين .

اشكال بلورات الاوسازون للسكريات الثنائية المختزلة :

ان الشكل البلوري لبلورة الاوسازون لسكر المالتوز هو زهرة الشمس كما في الشكل الآتي :

سكر المالتوز

اما الشكل البلوري لبلورة الاوسازون لسكر اللاكتوز فهو عش العصفور ولكن تكون اكبر واوضح من بلورة سكر الكالكتوز , كما في الشكل الآتي :



سكر لاكتوز

في حين صفات بلورات الاوسازون للسكريات الثنائية المختزلة :

١- تكون ذائبة في محاليلها الساخنة (غير مترسبة) .

٢- تحتاج الى مدة تسخين اطول لتكونها مقارنة بالسكريات الاحادية .

٣- تحتاج الى تبريد لتكونها بعد اتمام عملية التسخين .

المواد الكيميائية المستعملة :

١- سكريات احادية وثنائية مختزلة .

٢- فنيل هيدرازين او فنيل هيدرازين هيدروكلوريد .

٣- خلات الصوديوم .

طريقة العمل :

١- حضر السكريات الاحادية والثنائية المختزلة بتركيز (5% w/v) .

٢- خذ 3 ml من كل سكر في انبوبة اختبار واضف اليه كمية مناسبة من الخليط الصلب ( فنيل هيدرازين هيدروكلوريد وخلات الصوديوم) بوساطة ملعقة صغيرة spatula حتى يتكون اللون الاصفر الرائق مع الرج جيداً .

٣- ضع الانابيب في الحمام المائي المغلي لمدة نصف ساعة للسكر الاحادي و 60-45 دقيقة للسكر الثنائي المختزل .

٤- لاحظ تكون بلورات الاوسازون المترسبة للسكر الاحادي في قعر الانبوبة .

٥- برد انابيب الاختبار للسكريات الثنائية المختزلة تحت ماء الاسالة حتى تتكون بلورات الاوسازون .

٦- ضع البلورات على شرائح زجاجية (slides) وافحصها تحت المجهر الالكتروني .

٧- ارسم اشكال البلورات بالقلم الكاربون .

ملاحظات حول كشف الاوسازون :

١- يحضر الخليط الصلب بنسبة ثلاثة اجزاء من خلات الصوديوم مع جزئين من هيدروكلوريد فنيل هيدرازين , اذ تقوم خلات الصـــوديوم بمعادلة حامض الهيدروكلوريك في المادة الثانية ليتحرر فنيل هيدرازين الذي يكون وسطاً مناسباً للتفاعل.

٢- ان الزيادة اكثر من الكمية المناسبة لخليط (فنيل هيدرازين هيدروكلوريد وخلات الصوديوم) تسبب بتكون كميات اكبر من الانيلين بلون بني مما يؤثر على فحص البلورة ويجعلها غير واضحة.

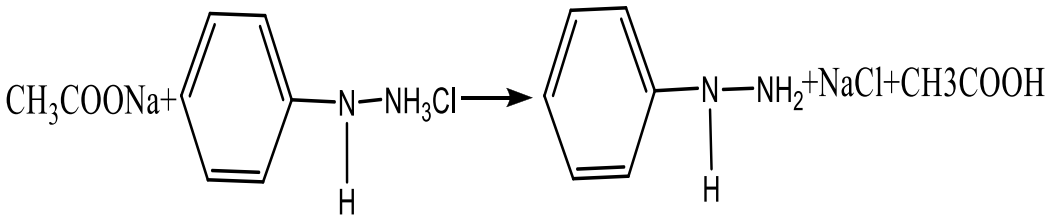
٣- ان النقصان اقل من الكمية المناسبة لخليط (فنيل هيدرازين هيدروكلوريد وخلات الصوديوم) لا يؤدي الى تكون بلورة الاوسازون.

٤- يحدث تفاعل كشف الاوسازون على ذرتي الكاربون الاولى والثانية للحصول على الناتج النهائي للبلورة الناتجة.

٥- سكريات الكلوكوز والفركتوز والمانوز تعطي اشكالاً بلورية متشابهة لبلورة الاوسازون وذلك لانهم يمتلكون الترتيب الفراغي نفسه بعد ذرة رقم ٢ اي من (٣-٦) في الهيكل الكاربوني للسكر.

٦- كشف الاوسازون خاص للسكريات الاحادية والثنائية المختزلة فقط وهذا يعني ان السكريات الثنائية غير المختزلة مثل السكروز sucrose لا تعطي كشف الأوسازون .

**٧-** دور خلات الصـــوديوم هو لتحرير فنيل هيدرازين بعد التفاعل مع هيدروكلوريد فينل هيدرازين كما في المعادلة الآتية :




ليقوم حامض الخليك ببرتنة مجموعة الكاربونيل في السكر ويحرر مزدوجاً الكترونياً .

**التجربة الثالثة**

**الكشوفات النوعية للسكريات المتعددة Qualitative tests of polysaccharides**

ان الكشف النوعي (اللوني) المميز الخاص بالسكريات المتعددة هو كشف اليود. ان السكريات المتعددة هي عبارة عن مركبات بوليمرية الوحدة الأساسية لها هي السكريات الأحادية, وتمتاز بأنها جزيئات كبيرة ومعقدة وذات سلاسل طويلة وأوزان جزيئية عالية, وترتبط السكريات الأحادية في السكر المتعدد بأواصر كلايكوسيدية . ان السلاسل الطويلة في السكر المتعدد قد تكون مستقيمة (خطية) كما في النشا نوع الأمايلوز amylose والسليلوز cellulose وقد تكون متفرعة كما في النشا نوع الامايلوبكتين amylopectin والكلايكوجين glycogen . ان اغلب السكريات المتعددة تكون غير مختزلة بسبب تقيد المجاميع الالديهايدية او الكيتونية بالأواصر الكلايكوسيدية اي انها تكون غير حرة الا انها تكون فعالة ضوئيا ومستقرة في المحاليل القاعدية.

ان السكريات المتعددة تعطي الوانا مختلفة عند الكشف عنها بكاشف اليود ($I_2$/ KI), ويعتمد هذا الكشف على مبدأ أن اليود يكون معقدات امدصاص ملونة Coloured adsorption complexes مع السكريات المتعددة اذ يمدص اليود على سطوح هذه السكريات ليعطي الالوان المميزة مختلفة عن بعضها البعض بسبب الاختلاف في الوزن الجزيئي لهذه السكريات واختلاف نوع الأواصر الكلايكوسيدية وطبيعة التفرعات وعددها في السكر المتعدد وعليه فأن عملية امدصاص جزيئة اليود في المساحة السطحية لهذه السكريات تكون مختلفة.

ان كشف اليود يكون حساساً للحرارة ويمكن اجراؤه في الوسطين الحامضي والمتعادل البارد فقط. ان السكر المتعدد الذي يعطي كشفا سالبا مع اليود هو السليلوز (متعدد كلوكوز) لانه سكر متعدد غير فعال يحتوي على الاصرة الكلايكوسيدية ( 4→ 1) ß.

المواد الكيميائية المستعملة :

1- سكريات متعددة مثل النشا والدكسترين والكلايكوجين والسليلوز وانيولين (فركتوسان) والبكتين .

2- كاشف اليود ويحضر كالاتي :

A- يحضـر يوديد البوتاسـيوم تركيزه (0.01 M) : من اذابة 10 gm من الملح KI في كمية مناسـبة من الماء المقطر ثم يكمل الحجم الى 500 ml .

B- يوزن 7 gm من اليود في زجاجة سـاعة ثم تضـاف محلول يوديد البوتاسـيوم في قنينة حجمية سـعة 500 ml لنحصل على محلول ($I_2$/KI ) بتركيز 0.05 N .

C- رج المحلول جيدا لغرض التجانس ثم اترك القنينة تبرد لمدة 20 دقيقة في درجة حرارة الغرفة .

طريقة العمل :

1-حضر السكريات المتعددة (النشا ,الكلايكوجين ,الدكسترين , السليلوز ,الانيولين , البكتين) بتركيز ( 5 w/v%) .

2-خذ 2 ml من كل سكر وأضف اليها 1 ml من كاشف اليود و امزج جيدا .

3-لاحظ ظهور اللون الازرق الغامق (النيلي) في حالة النشا واللون البنفسجي في حالة الدكسترين واللون البني – المحمر في حالة الكلايكوجين واللون البني في حالة البكتين, اما السـليلوز فأنه يعطي كشـفا سـالبا مع كاشـف اليود.

4-سجل الملاحظات في دفتر التجارب .

ملاحظات حول كشف اليود للسكريات المتعددة :

١- ان السـليلوز يمكن ان يعطي كشـفا موجبا مع كاشـف اليود اذا ما عومل مع املاح مركزة في وسـط حامضي مثل محلول بيفان وهو متكون من (كلوريد الخارصينzinc chloride وحامض الهيدروكلوريك ) اذ يتحول السليلوز الى مركب الامايلويد وبالتالي يعطي لونا ازرق غامقاً مع كاشف اليود .

٢- يمكن الكشف عن النشا بوساطة كشف اليود في الوسط الحامضي او المتعادل ولا يمكن الكشف عن النشـا في الوسـط القاعدي وذلك لتفاعل اليود الحر مع القاعدة مكونا املاح اليوديد Iodide واملاح اليودات iodate كما في المعادلة الاتية :

$$3I_2 + 6\ NaOH \longrightarrow 5NaI + NaIO_3 + 3H_2O$$

ولان اساس الكشف يعتمد على وجود اليود الحر ,لذلك فأن الكشف يكون سالبا في الوسط القاعدي اي لا يعطي اللون المطلوب , ولكن عند إضافة حامض الهيدروكلوريك يتحرر اليود مرة اخرى كما في المعادلات الاتية :

$$NaIO_3 + HCl \longrightarrow HIO_3 + NaCl$$

$$NaI + HCl \longrightarrow HI + NaCl$$

$$HIO_3 + HI \longrightarrow I_2 + 3H_2O$$

٣- يجب ان تكون السكريات المتعددة في درجة حرارة الغرفة عند اجراء كشف اليود عليها وذلك لان الحرارة العالية تعيق عملية امدصاص اليود على سطوح هذه السكريات .

٤- يمكن اضافة ملح كلوريد الصوديوم الى سكر الكلايكوجين لنحصل على لونين أحمر وبني .

٥- السكريات الاحادية تعطي كشفاً سالباً مع اليود وذلك لصغر المساحة السطحية وبالتالي عدم امكانية كاشف اليود للامدصاص( الامتزاز) .

**التجربة الرابعة**

**كشوفات الترسيب للسكريات المتعددة Precipitation test of polysaccharides**

يمكن ترسيب السكريات المتعددة مثل (النشأ والكلايكوجين والدكسترين والاينولين) بأستعمال مواد مرسبة مثل (الايثانول وملح كبريتات الامونيوم ) والتي لها القابلية الجيدة على ترسيب هذه السكريات وتجري ميكانيكية الترسيب السكريات المتعددة اعتمادا على قوة العامل المرسب وعلى تركيزه المستعمل وكذلك على نوع السكر المتعدد فيما اذا كان سكراً متعدداً متجانساً او غير متجانس .

المواد الكيميائية المستعملة :

١- سكريات متعددة مثل (النشأ والكلايكوجين والدكسترين والانيولين)
٢- كحول الايثانول
٣- ملح كبريتات الامونيوم
٤- كاشف اليود

طريقة العمل :

١- حضر محاليل (النشأ والكلايكوجين والدكسترين والأنيولين) بتركيز (5% w/v) .
٢- خذ انبوبتي اختبار نظيفتين وجافتين تماما واضف الى كل منها 5 ml من محلول السكر المتعدد .
٣- اضف الى احدهم 5 ml من الايثانول والاخرى 5 ml من ملح كبريتات الامونيوم .
٤- لاحظ ترسب السكر المتعدد .
٥- رشح ثم اكشف على الراشح بمحلول اليود .

**التجربة الخامسة**

**الهدم الحامضي للنشا Acidic Catabolism of Starch**

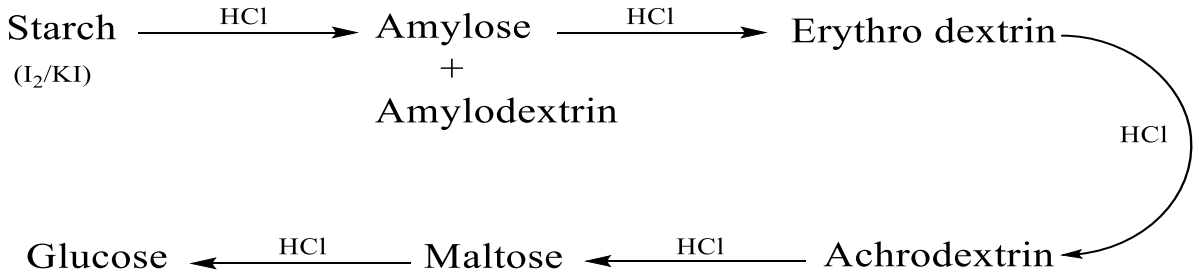
أن عملية الهدم الكيموحياتي للنشا حامضياً تعني دراسة ميكانيكية تحلل هذا السكر المتعدد المتجانس بواسطة حامض الهدروكلوريك الى السكر الأحادي (الكلوكوز) كما في المسار العام الآتي :

$$\text{Strach} \xrightarrow[I2/KI]{HCl} n\ (\text{glucose})$$

ويتم هنا الهدم أو التحلل الحامضي بوجود كشف اليود ($I_2$/KI) والتسخين ومتابعة الزمن المطلوب للتحلل , كما يمكن متابعة النشا حامضياً في الوقت نفسة بواسطة كشف بندكت إذ في بداية تحلل النشا يكون الكشف موجباً عند أستعمال كاشف اليود على عكس كاشف بندكت الذي يكون الكشف بواسطته سالباً , في حين يكون الكشف سالباً في نهاية التحلل عند أستعمال كاشف اليود , ويكون الكشف موجباً في نهاية التحلل عند أستعمال كاشف بندكت , ويتم تفسير ذلك من خلال القدرة الأختزلية للسكريات وأيضاً من خلال قابلية اليود في القيام بعملية الأمدصاص (الأمتزاز) على سطح السكر المتكون نتيجة هذا التحلل .

أن النشا سكر غير مختزل مع أنه يمتلك مجموعة الديهايد حرة طرفية وبالتالي فأنة يعطي كشفاً موجباً مع كاشف اليود بسبب كبر المساحة السطحية لهذا السكر في حين يكون الكشف سالباً مع بندكت لأن بندكت يبحث عن القدرة الأختزالية ولأن النشا سكر غير مختزل وبندكت كما هو معروف يعطي كشفاً موجباً مع السكريات المختزلة .

عند تحلل النشا بواسطة حامض الهيدروكلوريك تتكون سكريات مختلفة تختلف بقدرتها الأختزالية حتى نصل الى السكر الأحادي الكلوكوز كما في الميكانيكية الآتية :-



المواد الكيميائية المستعملة :

١- سكر النشا بتركيز (2% w/v)

٢- حامض الهدروكلوريك المركز

٣- كاشف اليود ($I_2$/KI) بتركيز (0.05N)

٤- هيدروكسيد الصوديوم

٥- كاشف بندكت

طريقة العمل :

١- خذ 50ml من محلول النشا (2% w/v) وضعها في قدح زجاجي Beaker .

٢- حضر وعاء البورسلاين ذا الستة تقعرات وضع في كل تقعر قطرة واحدة من كاشف اليود مع ترقيم التقعرات .

٣- أضف 5ml من حامض الهيدروكلوريك المركز الى محلول النشا مع الرج جيداً ثم أسحب قطرة من محلول السكر الحامضي وضعها على تقعر رقم 1 ولاحظ ظهور اللون الأزرق النيلي و يسمى الزمن هنا ($T_o$) .

٤- سخن النشا المحمض لمدة 3 دقائق في الحمام المائي أو في الأيزومنتل ثم أسحب 2ml منه وأضف قطرة الى قطرتين على التقعر رقم 2 وسجل اللون الناتج وماتبقى من المحلول ضعة في أنبوبة أختبار حاوية على 3 ml من كاشف بندكت و 2 ml من هيدروكسيد الصوديوم وسجل اللون أيضاً .

٥- كرر الخطوة الرابعة كل 3 دقائق وسجل الألوان الناتجة حتى تصل الى التقعر رقم 6 .

نتائج التحلل الحامضي للنشا توضح من خلال الجدول الأتي :-

| Time (min) / الكشف | 0 | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| اليود $I_2/KI$ | (+) أزرق نيلي | (+) بنفسجي | (+) بني | (+)بني محمر | (−) برتقالي | (−)برتقالي فاتح أو أصفر |
| بندكت | (−) أزرق | (−) أزرق فاتح | (−) أزرق–بني | (+) بني محمر مع راسب قليل | (+) أحمر وردي مع راسب قليل | (+) راسب أحمر تحلل تام |

ملاحظات حول التجربة :-

١- يمكن أجراء التجربة بأستعمال أنزيم الأمايليز بدلاً عن حامض الهيدروكلوريك .

٢- أن عمل كاشف اليود يكون تماماً عكس كاشف بندكت وهذا يعني أن كشف اليود في البداية يكون موجباً وبندكت سالباً في حين في نهاية التحلل يكون كشف اليود سالباً وبندكت موجباً .

٣- يتكون سكر المالتوز بكمية معينة في جميع خطوات التحلل ماعدا الخطوة الأخيرة إذ يتكون الكلوكوز بدلاً عن المالتوز .

# تجارب الدهون (اللبيدات)

# Fats (Lipids) Experiments

**التجربة الاولى**

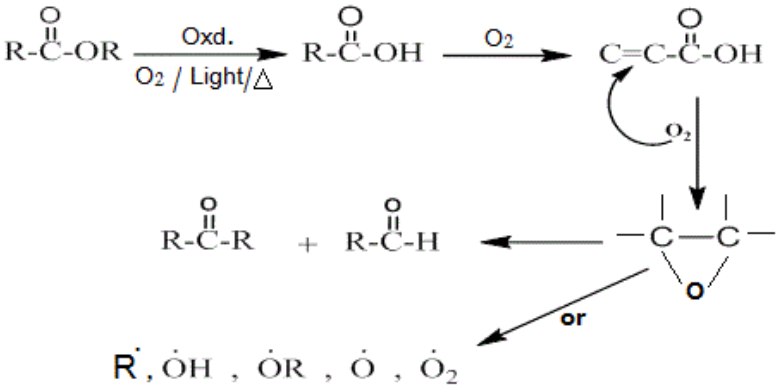
**تعيين رقم الحموضة للدهون المتعادلة Determination of Acidic number of neutral lipids**

ان الدهون المتعادلة او الكليســـريدات الثلاثية هي عبارة عن مركبات اســـتر ثلاثية للحامض الدهني ,تتكون من تفاعل الحوامض الدهنية بنوعيها المشبعة وغير المشبعة مع كحول الكليسرول (ثلاثي الهيدروكسيل) .

هذه الدهون تكون صـــــالحة غذائيا متى ماكانت مســـــتقرة اي غير متحللة الى احماض دهنية ,وكلما قلت كمية ونوعية الاحماض الدهنية في الدهن او الزيت فأنه يكون اكثر قيمة غذائية والعكس صـــــحيح. وفي ظروف معينة مثل تعرض الدهن والزيت الى الحرارة والرطوبة والهواء والضوء والخزن السيئ فأنه يتحلل او يتأكسد ليعطي بعض الاحماض الدهنية او اغلبها وهذا يعتمد على الظروف المذكورة , اذ كلما كانت هذه العوامل متوفرة وبشـــكل كبير فأن هذا يؤدي الى تحلل الدهن وبالتالي الحصـــــول على دهن حاوٍ كماً ونوعاً على محتوى كبير من الاحماض الدهنية مؤديا الى فقدان الدهن لقيمتة الغذائية اي انه يصبح غير صالح للأكل .

يتم تقدير رقم الحموضـــة بأســـتعمال القاعدة هيدروكســـيد البوتاســـيوم كمادة قياســـية والتي من خلالها يتم حســـاب ومعرفة كمية الاحماض الدهنية الموجودة في الدهن وعليه فأن رقم الحموضـــــة هو عدد مليغرامات هيدروكســـــيد البوتاسيوم اللازمة لمعادلة الاحماض الدهنية الحرة (الطليقة) الموجودة في غرام واحد من الدهن او الزيت المتعادل .

ومما يجب ذكره فأنـه بوجود العوامل الكيميائيـة والفيزيـاويـة التي ذكرت انفا (المؤثرة على تحلل الدهن ) فأن الاحماض الدهنية ايضـا تتحلل وخاصـة غير المشـبعة منها (الحاوية على اواصـر مزدوجة ) بتأثير الهواء الجوي (الاوكســجين ) الذي يهاجم هذه الاواصــر محولا الاحماض الدهنية الى مركبات اخرى هي البيروكســيدات بعملية تدعى الاكســـــدة الفوقية للدهون Lipids peroxidation وكما هو معروف فأن البيروكســـــيدات مركبات قلقة (غير مستقرة) سرعان ما تتحلل او تتفكك لتعطي الالديهايدات والكيتونات ذات اللون البني – الاسود والتي هي مركبات سامة او تكون الجذور الحرة مثل $O^{\cdot}-$,$OR^{\cdot}$, $OH^{\cdot}$, $R^{\cdot}$, $O^{\cdot}$ وغيرها , اي ان وجودها في الدهون يؤدي الى ســميةالدهن وتســمى هذه العملية بالتزنخ (rancidity) ويصــبح غير قابل للأكل تماما كما في المســار العام التالي :




المواد الكيميائية المستعملة:

١- دهن او زيت متعادل.

٢- هيدروكسيد البوتاسيوم (0.1N)

٣- كحول الايثانول

٤- دليل الفينولفثالين

طريقة العمل :

١- املا السحاحة بمحلول هيدروكسيد البوتاسيوم تركيزه 0.1N .

٢- ضع في دورق مخروطي 5 ml من الزيت التالف او(المتحلل) او 5 gm من الدهن التالف او (المتحلل) الذائب واضف اليه 3 قطرات من دليل الفينولفثالين .

٣- سحح بين القاعدة والدهن (الحاوي على الاحماض الدهنية ) ولحظة تغير اللون الى الوردي سجل الحجم النازل من السحاحة ويمثل الحجم هنا (V1) .

٤- اعد التسحيح مرتين وخذ المعدل .

التجربة الضابطة :

سحح القاعدة هيدروكسيد البوتاسيوم مع الايثانول وسجل الحجم القاعدة النازل من السحاحة بعد الحصول على نقطة النهاية والحجم هنا يمثل (V2) ومن ثم يستخرج حجم القاعدة الفعلي اللازم لمعادلة الاحماض الدهنية . ان الغرض من التجربة الضابطة هو لمعرفة فرق الحجم الناتج من تفاعل القاعدة مع كحول الكليسرول الموجود في الزيت .

الحسابات :

$$\text{رقم الحموضة} = \frac{N(KOH) * V(KOH) * Eq.wt(KOH)}{\text{Wt(gm)(Fat)}}$$

5 ml (1gm) Fat ⟶ mg of KOH

1ml (1gm) ⟶ X mg of KOH

- يهمل عامل الكثافة في هذه التجربة .

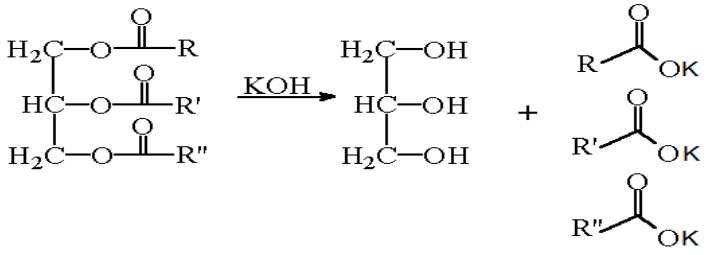
**التجربة الثانية**

**تقدير رقم التصبن للدهون المتعادلة**

**Determination of saponification number of neutralfats**

تتكون الدهون المتعادلة او البسيطة simple lipids او ماتسمى بالكليسريدات الثلاثية triglycerides او مركبات ثلاثي اسيل كليسرول triacylglycerol من تفاعل الكحول ثلاثي الهيدروكسيل (الكليسرول) مع الحامض الدهني وهذا التفاعل هو من نوع تفاعلات الأسترة Esterfication ان الصابون soap هو ملح الحامض الدهني او ملح الدهن والذي يتكون من تفاعل الدهن المتعادل مع قاعدة لاعضوية هي هيدروكسيد البوتاسيوم ,والتي تعد هي المادة القياسية ذات التركيز المعلوم والتي من خلالها يتم ايجاد تركيز مجهول وهو الدهن او الحامض الدهني ويتم ذلك عمليا بالاعتماد على نقطة انتهاء التفاعل End point والتي يتم تمييزها من خلال تغير لون الدليل .

ان رقم التصبن saponification number هو عدد مليغرامات القاعدة هيدروكسيد البوتاسيوم اللازمة للتصبن او صوبنة رقم 1 gm من الزيت او الدهن المتعادل كما في المعادلة الاتية :




يتم ايجاد رقم التصبن عمليا بالاعتماد على طريقة التسحيح titration بين القاعدة هيدروكسيد البوتاسيوم و الزيت او الدهن .

ان قيمة رقم التصبن تعتمد على طول السلسلة الهيدروكاربونية للحامض الدهني المكون للتركيب الكيميائي للدهن او الزيت المقابل له مثلا حامض الستيريك مكون للدهن ستيرين stearin و حامض البالمتيك مكون للدهن بالمتين palmitin ,اذ ان كلما زاد طول السلسلة الهيدروكاربونية للحامض الدهني كلما قلت قيمة رقم التصبن .

المواد الكيميائية المستعملة :

١- عينة دهن او زيت متعادل
٢- مذيب الايثانول (95%)
٣- مذيب ثنائي اثيل ايثر
٤- هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي
٥- حامض الهيدروكلوريك
٦- دليل الفينولفثالين

طريقة العمل :

١- حضـــر مزيج مذيب الدهن بحجم 3 ml من خلط ( 1.5 ml من الايثانول مع 1.5 ml من ثنائي اثيل ايثر) .
٢- اضف مذيب الدهن المتعادل الى 1 gm من الدهن او الزيت المتعادل في دورق مخروطي مع الرج جيدا حتى اتمام ذوبان الدهن .
٣- اضف الى الدورق 25 ml من هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي تركيزه (0.5N) .
٤- سخن المزيج في حمام مائي لمدة نصف ساعة ثم اتركه ليبرد .
٥- اضف الى المزيج 3 قطرات من دليل الفينولفثالين .
٦- سحح مقابل حامض الهيدروكلوريك تركيزه (0.5N) الموجود في السحاحة ولحظة ظهور اللون الوردي ثم سجل الحجم النازل .
٧- اعد التسحيح مرتين وخذ المعدل .
٨- اعد الخطوات من 1 الى 6 دون اضافة عينة الدهن .
٩- اعد التسحيح مرتين وخذ المعدل .

ملاحظات حول التجربة :

ان الحجم النازل من السـحاحة اللازم للتصـبن X gm من الدهن او الزيت المتعادل يمثل الفرق بين (الحجم النازل من السـحاحة بوجود الدهن والحجم النازل من السـحاحة بعدم وجود الدهن المتعادل) فلو فرضنا مايأتي :

T : حجم حامض الهيدروكلوريك النازل من السحاحة اللازم لمعايرة القاعدة (هيدروكسيد البوتاسيوم) فقط بعدم وجود الدهن المتعادل .

P : هو حجم حامض الهيدروكلوريك النازل من السحاحة اللازم لمعايرة القاعدة (هيدروكسيد البوتاسيوم) فقط بوجود الدهن المتعادل .

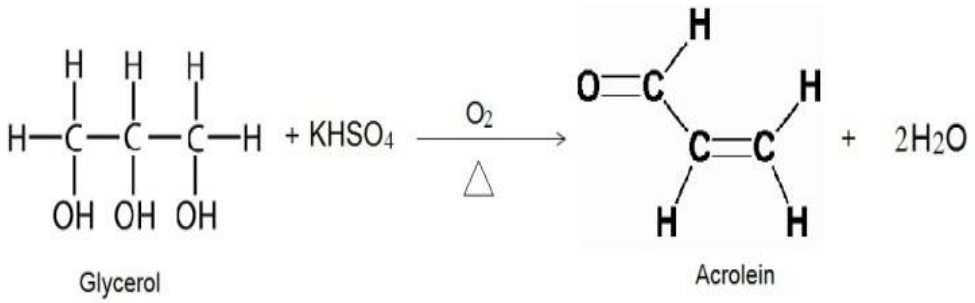
اذن T−P : حجم حامض الهيدروكلوريك اللازم لمعايرة القاعدة المتفاعلة .

الحسابات :

بما ان عيارية الحامض ( حامض الهيدروكلوريك ) مساوية الى عيارية القاعدة ( هيدروكسيد البوتاسيوم ) فهذا يعني ان كل 0.5 ml من HCl (0.5N) يعادل 0.5 ml من KOH (0.5N) .

اذن :

$$\frac{N(HCl) * M.wt(KOH) *(T-P)}{\text{Wt(gm)(Lipid)}} = \text{رقم التصبن (mg /1 gm)}$$




ان الاكرولين هو عبارة عن مادة كريهة مخدشة للشم .

المواد الكيميائية المستعملة :

١- عينة من الدهن او الزيت التالف .

٢- كليسرول .

٣- كبريتات البوتاسيوم الهيدروجينية .

طريقة العمل :

١- ضع في انبوبة اختبار نظيفة وجافة تماما 0.25 gm من كبريتات البوتاسيوم الهيدروجينية الصلبة .

٢- اضف الى الانبوبة 1 ml- 0.5 من الدهن او الزيت التالف الحاوي على الكليسيرول مع الرج جيدا .

٣- سخن المزيج على اللهب لمدة (3-2) دقائق ولاحظ انبعاث رائحة الأكرولين الكريهة والمخدشة مع ابخرة بيضاء .

٤- اعد الخطوات من 3-1 ولكن بوجود الكليسرول الحر وسجل النتائج .

ملاحظات حول التجربة :

١- كلما زادت كمية الكليسرول في الزيت او الدهن المتعادل التالف كلما كان تكون الأكرولين كناتج اسرع .

٢- الكليسرول هو كحول سكري وكلما قلت كميته في الدهن المتعادل(الكليسريد الثلاثي) كلما كان الدهن اكثر جودة .

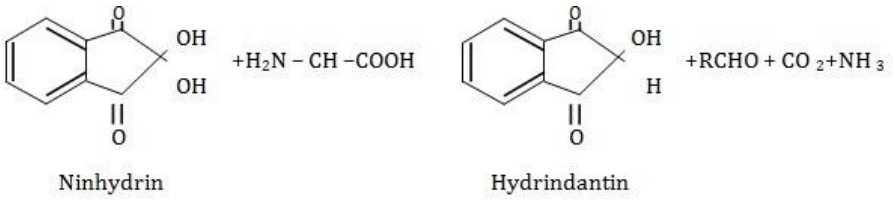
# تجـارب الأحماض الأمينية

# Amino Acids Experiments

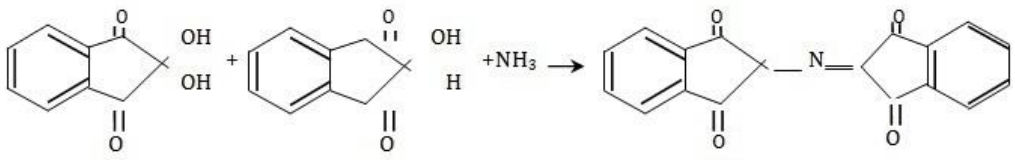
## كشف النهايدرين للاحماض الامينية Ninhydrin test for amino acids

الاحماض الامينية هي مركبات عضـوية نيتروجينية تحتوي على مجموعة كاربوكسـيل طرفية ومجموعة امين طرفية وهما المجموعتان المميزتان للأحماض الامينية عن غيرها من المركبات النتروجينية العضـوية و تسـمى مجموعة الكاربوكسيل بالطرف الحامضي او الطرف الكاربوكسيلي و تسمى مجموعة الامين بالطرف القاعدي او الطرف الأميني. ان الأحماض الامينية هي الوحدات الكيميائية التركيبية للبروتينات و التي ترتبط فيما بينها بواسطة اواصر ببتيدية , هناك 22 حامضاً امينياً وتصنف الى اصناف مختلفة منها الاليفاتية والاروماتية و منها القاعدية ومنها الحامضـية وبعضـها ذات تركيب متجانس الحلقة وبعضـها حاوٍ على الكبريت تبعا لنوع الحامض الاميني .

ان الكشف النوعي (اللوني) المميز الاحماض الامينية هو كشف النهايدرين الذي يعد كاشفاً مؤكسداً قوياً يقوم بأكسدة مجموعة الامين الحرة الموجودة في الحامض الاميني لتتحول الحامض الى الدهايد وامونيا وثاني اوكسيد الكاربون و ايضـا يتحول النهايدرين الى مركب النهايدرانتين Ninhydrantin وبعد ذلك يتفاعل هذا المركب مع جزيئـة اخرى من الامونيـا وبوجود التســـخين ويتم ازالـة ثلاث جزيئـات مـاء ليتكون معقـد وســـطي intermediate complex والذي بدوره يتفاعل مع جزيئة امونيا اخرى ليتكون معقد بنفسـجي مزرق يسـمى معقد رومان Ruhemann's complex كما في الميكانيكية التالية :



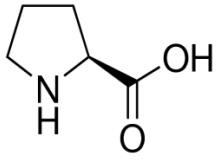

Ninhydrin Hydrindantin



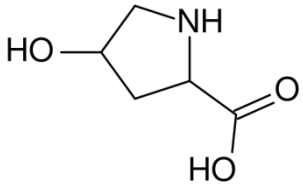

violet complex

ان تفاعل النننهايدرين مع الاحماض الامينية يتم ضمن دالة حامضية ( pH=4-8 ) وان هذا التفاعل حساس جدا اذ ان الكميات القليلة من الاحماض الامينية يمكن الكشف عنها بواسطة كروماتوغرافيا الورقة كما سياتي ذكرها لاحقا.

ان الحامضين الامينيين اللذين يعطيان كشفا سالبا مع النننهايدرين هما برولين proline وهيدروكسي برولين Hydroxy proline وذلك لانهما يمتلكان مجموعتي امين مقيدتين ضمن التركيب الكيميائي الحلقي وبالتالي لا تحصل عملية الاكسدة عليهما لانهما غير حرتين كما في التركيبين الاتيين :




Hydroxy proline




Proline

المواد الكيميائية المستعملة :

١- احماض امينية مختلفة ( كلايسين , ألانين , أرجنين , فنيل ألانين , سيرين , تربتوفان , تايروسين حامض الاسبارتيك , حامض الكلوتاميك , سستين , سستائين , برولين )

٢- بروتين الالبومين

٣- بروتين الكاسائين

٤- كاشف النننهايدرين

٥- كحول الايثانول

طريقة العمل :

١- حضر محاليل الاحماض الامينية بتركيز ( 1% w/v ) .

٢- حضر كاشف النننهايدرين بتركيز ( 2% w/v ) باذابة 2 غم من مادة نننهايدرين في كمية مناسبة من الايثانول ثم اكمل الحجم الى 100 ml في قنينة حجمية سعة 100 ml .

٣- خذ 5 انابيب اختبار وضع في كل منهما 2 ml من الاحماض الامينية ( كلايسين , ألانين , تربتوفان , تايروسين, حامض الكلوتاميك ) .

٤- اضف الى كل انبوبة 1ml من كاشف النينهايدرين .

٥- رج الانابيب جيدا ثم سخن لمدة دقيقة الى دقيقتين عند الحاجة ولاحظ تكون اللون البنفسجي المزرق .

٦- اجري كشف عن النينهايدرين على الحامض الاميني البرولين ولاحظ تكون اللون الاصفر مما يدل على سلبية الكشف .

٧- اجري كشف النينهايدرين على بروتين الالبومين و الكاسائين .

٨- سجل الملاحظات في دفتر التجربة .

ملاحظات حول التجربة :

١- في حالات كثيرة فأن تكون المعقد البنفسجي (معقد رومان) لا يحتاج الى تسخين وهذا يعتمد على تركيز الحامض الاميني .

٢- النينهايدرين يعطي كشف موجبا مع الببتيدات الثنائية والثلاثية الحاوية على مجموعة امين حرة اما الببتيدات الرباعية و صعودا فأنها تعطي كشفاً سالباً مع النينهايدرين .

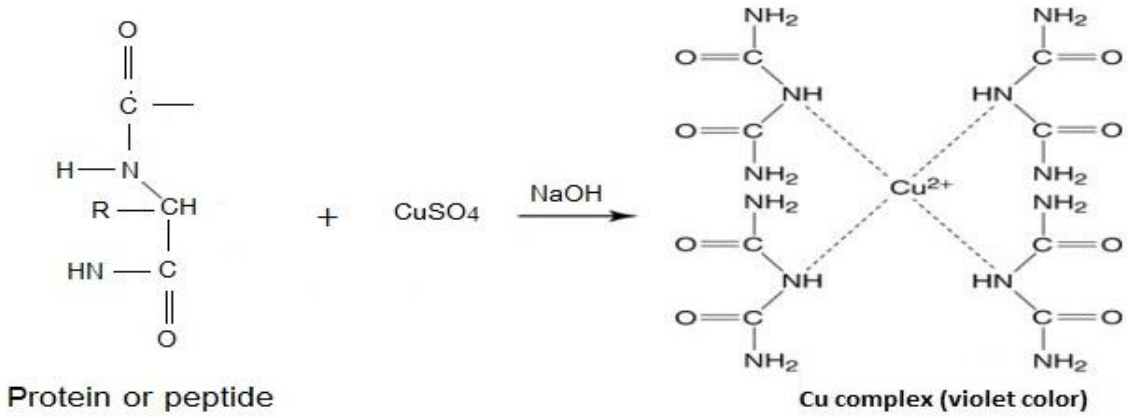
٣- النينهايدرين يعطى كشفاً سالباً مع البروتينات .

# تجارب البروتينات

# Proteins Experiments

## كشف بايوريت للببتيدات والبروتينات Biuret test of peptides and proteins

البروتينات هي سلاسل ببتيدية من الاحماض الامينية وتتكون من متعدد الببتيد ذات الاوزان الجزيئية العالية لذلك يتم الكشف عن الاواصر الببتدية في الببتيدات و البروتينات بواسطة كاشف بايوريت الذي يكشف عن الاواصر الببتيدية الموجودة في الببتيدات الثلاثية صعودا و كذلك يكشف عن البروتينات , يتضمن الكشف تفاعل كاشف بايوريت المتكون من كبريتات النحاس و هيدروكسيد الصوديوم مع الببتيد او البروتين او بصورة ادق تفاعل الكاشف مع الاواصر الببتيدية الموجودة في البيتيد او البروتين فيكون النحاس اربع اواصر تناسقية مع هذه الاواصر الببتيدية (الاميدية) وينتج في النهاية معقد ذو لون بنفسجي يسمى معقد النحاسيك التناسقي كما في التفاعل الاتي :




وعليه يمكن تقدير البروتينات كميا باستعمال هذا المعقد لونيا عن طريق قياس الامتصاصية للمعقد الناتج بطول موجي 570 نانومتر وحساب تركيز البروتين المعين .

المواد الكيميائية المستعملة :

١- بروتين الكاسائين او الالبومين او الجيلاتين .

٢- كبريتات النحاس

٣- هيدروكسيد الصوديوم

طريقة العمل :

١- ضع 2 ml من المحلول البروتيني الكاسائين او الالبومين في انبوبة اختبار نظيفة و جافة تماما .

٢- اضف الى المحلول البروتيني 0.5 ml من كبريتات النحاس تركيزها ( 1% w/v ) مع الرج جيدا .

٣- اضـف الى المزيج 2 ml من محلول هيدروكسـيد الصـوديوم تركيزه ( 40% w/v ) ولاحظ تكون اللون البنفسجي الذي يدل على وجود البروتين .

ملاحظات حول التجربة :

١- الببتيد الثنائي لا يعطي كشف بايوريت .

٢- الاحماض الامينية تعطي كشـفاً سـالباً مع كاشـف بايوريت لعدم أمتلاكها اواصـر ببتيدية في تركيبها الكيميائي .

٣- الببتيد الثلاثي (كلايسـيل-كلايسـيل كلايسـين) لا يعطي كشـف بايوريت بسـبب التدخل بين الاواصـر الببتيدية مع مجموعة R الموجودة معها في كل حامض من هذا البيتيد .

٤- بعض المركبات النتروجينية غير البروتينية مثل اليوريا تعطي كشفاً موجباً مع بايوريت .

# تجارب الفيتامينات
# Vitamins Experiments

**تقدير فيتامين C في الحمضيات والمواد الغذائية باستعمال كاشف اليود**

**Estimation of vitamin C in citrus and foods by iodine reagent**

يعد فيتامين C واسمه العلمي حامض الاسكوربيك Ascorbic acid احد الفيتامينات الرئيسة والمهمة وذلك لادواره الكيموحياتية المختلفة , ان فيتامين C هو من الفيتامينات الذائبة في الماء وذلك لانه يحتوي على عدة مجاميع هيدروكسيل قطبية التي بامكانها تكوين اواصر هيدروجينية مع الماء ,سمي فيتامين C بحامض الاسكوربيك لأن نقصه في جسم الانسان يؤدي الى حدوث مرض الاسقربوط والذي يسمى ايضا داء الحفر, و يعد حامض الاسكوربيك احد مشتقات سكر الكلوكوز وعليه فأنه يعتبر من الاحماض السكرية سداسية الكاربون وبالتالي فان بناءه الحياتي في بعض الحيوانات يتم من خلال السكريات الاحادية سداسية الكربون لكن الانسان لايمكنه بناء أو انتاج هذا الفيتامين .

لقد تم عزل حامض الاسكوربيك في اول مرة عام 1930 ويتميز بذوبانيته العالية في الماء كما انه حساس للأكسدة بصورة شديدة خاصة بوجود النحاس, و يتفكك ,فيتامين C عند تعرضه للقواعد ويفقد بعض فعاليته في الوسط المتعادل او قليل الحامضية .

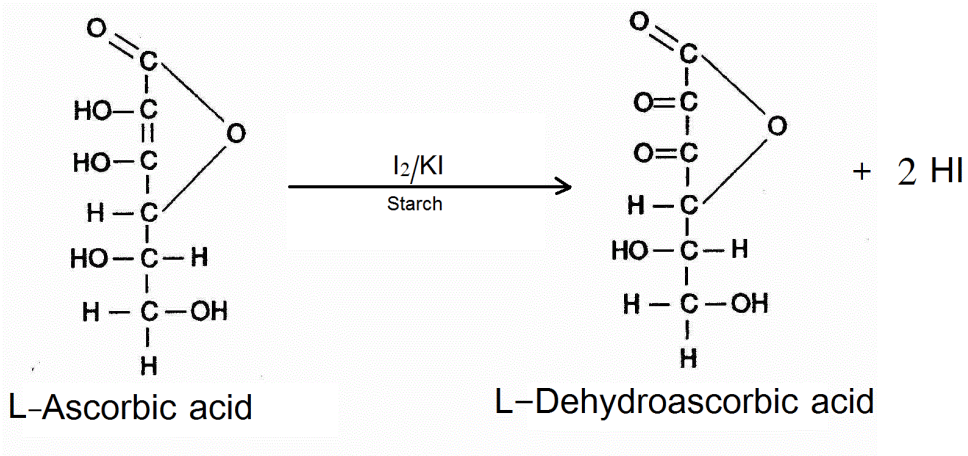
يساهم فيتامين C في تفاعلات الاكسدة والاختزال اذ انه يقوم بدور المادة المختزلة , اذ انه يختزل المادة التي تتفاعل معها في حين يتعرض هو للأكسدة و عليه فأنه يعد مادة مضاده للاكسدة Antioxidante ويتضح دوره هذا في مركبات مختلفة السايتوكرومات .

يتحول حامض الاسكوربيك في عملية الاكسدة الى حامض ديهايدروالاسكوربيك Dehydroascorbic acid وذلك بفقدان ذرتين من الهيدروجين من الفيتامين , وان حامضية فيتامين C تشتق من تفكك مجموعتين الهيدروكسيل الاينوليتين وفقدانها الى ذرة الهيدروجين كما ان L – ديهايدروحامض الاسكوربيك يمكن ان يتحول في عملية الاختزال الى L –حامض الاسكوربيك وذلك بوجود الكلوتاثيون Glutathione الذي يكون دوره هنا كعامل مختزل (اي مادة مضادة للاكسدة) ,ان فيتامين C بالصيغة المختزلة هو الاكثر تواجدا في الانسجة النباتية و الحيوانية, يعمل فيتامين C كمرافق انزيمي في تفاعلات ادخال جزيئات الاوكسجين الى المادة الاساس ومثال ذلك ادخال جزيئات الاوكسجين الى الحامض الاميني برولين proline والحامض الاميني لايسين Lysine لانتاج هيدروكسي برولين و هيدروكسي لايسين على التوالي .

يساهم فيتامين C في بناء بروتين الكولاجين Collagen كما انه له دوراً في التئام الجروح ويساهم ايضا في عملية امتصاص الحديد في القناة الهضمية وخاصة الاثنى عشر.

يمكن لفيتامين C في حالات معينة ان يتهدم الى حامض الاوكزاليك ويترسب في الكليتين على شكل املاح الكالسيوم ذات الذوبانية القليلة, ان نقص فيتامين C كما ذكر سابقا يؤدي الى حصول مرض الاسقربوط الذي يتصف بحصول ورم ونزيف في الفم وتغيرات فسيولوجية في الاسنان واللثة والالم الشديد في المفاصل و عسر التنفس وألم في الجلد والعضلات, تعد الحمضيات من اغنى المصادر النباتية لفيتامين C كما يوجد هذا الفيتامين في اللهانة والطماطة والبطاطس والفلفل الاخضر والبقدونس و الخس والتفاح و في البذور النامية لبعض النباتات و تقدر حاجة الجسم من فيتامين C بمعدل 70 mg في اليوم بينما تحتاج المراة الحامل وكذلك المرضعة الي حوالي 100 mg في اليوم .

يتم ايجاد تركيز فيتامين C في الحمضيات والمواد الغذائية الاخرى اعتمادا على طريقة التسحيح Titartion واعتمادا على اليود كمادة قياسية معلومة التركيز وبوجود النشأ كدليل لتعيين نقطة انتهاء التفاعل أذ يتاكسد L – حامض الاسكوربيك الى L – حامض ديهايدرو الاسكوربيك فيتم اختزال اليود الي يوديد الهيدروجين وبالتالي يحصل تفاعل اكسدة واختزال كما في المعادلة الكيميائية الاتية :




المواد الكيميائية المستعملة :

١- حمضيات مختلفة ( برتقال , نارنج , لالنكي , كيوي , سندي , فاش , ليمون )

٢- كاشف اليود بتركيز ( $I_2/KI$ ) بتركيز 0.1N

٣- دليل النشا

٤- ماء مقطر

طريقة العمل :

١- حضر عصائر الحمضيات المختلفة وازل عنها الالياف والنوى ثم ضعها في بيكر زجاجي .

٢- املأ السحاحة بمحلول اليود ( $I_2/KI$ ) تركيزه 0.1N .

٣- اسحب 10 ml من العصير وضعه في دورق مخروطي .

٤- اضف الى العصير خمس قطرات من دليل النشا مع الرج جيدا .

٥- سحح و لحظة تغيير اللون الى الازرق سجل الحجم .

٦- أعد تسحيح مرتين وقس المعدل .

٧- أعد التجربة على عصير اخر من الحمضيات و قارن النتائج .

الحسابات :

يمكن ايجاد تركيز فيتامين C في عصير الحمضيات من العلاقة الاتية :

$$\text{Conc. Of vitamin C (mg/100ml)} = 0.88 * N * V * 10$$

N : تركيز كاشف اليود ( 0.1N )

V : الحجم النازل من السحاحة

ملاحظة : يمكن استعمال مادة ( 6,2-ثنائي كلوروفينول-اندوفينول) كمادة قياسية بدلا منه كاشف اليود.