وزارة التعليم العالي البحث العلمي

جامعة البصرة – جامعة كربلاء

كلية الزراعة

قسم علوم الاغذية

محاضرات المرحلة الثانية لمادة كيمياء حيوية عملي

مدرس الجزء العملي :- م.د شيرين فاضل عباس و م.م علي عبد الرحيم

منهج مقررات كيمياء الحيوية العملي

ت	المادة	
عملي1	الكشوفات النوعية عن السكريات الاحادية (الكشف العام،الكشف عن الصفة الاختزالية، القوة الاختزالية، التميز بين السكريات المختزلة الدهايدية والكيتونية، الخماسي والسداسية)	مختبر عملي
عملي 2	الكشوفات عن السكريات الثنائية (الكشف العام ، التميز بين السكريات الاحادية والثنائية، التميز بين السكريات المختزلة والغير مختزلة)	مختبر عملي
عملي3	الكشوفات عن السكريات المتعدد(الكشف العام، اختبار الصفة الاختزالية ، اختبار اليود)	مختبر عملي
عملي4	التحلل المائي للنشأ والكشف عن نواتج تحلل النشأ	مختبر عملي
عملي5	امتحان1	مختبر عملي
عملي 6	الاختبارات العامة عن البروتينات	مختبر عملي
عملي7	الكشف عن الاحماض الامينية الكبريتية في البروتينات	مختبر عملي
عملي8	الكشف عن الاحماض الامينية العطرية في البروتينات	مختبر عملي
عملي9	الكشف عن الاحماض الامينية القاعدية في البروتينات	مختبر عملي
عملي10	امتحان2	مختبر عملي
عملي11	ترسيب البروتينات- دنترة وتجلط البروتينات	مختبر عملي
عملي12	الكشوفات الخاصة بالدهون (التميز بين الاحماض الدهنية المشبعة والغير مشبعة، اختبار خلات النحاس، اختبار الرقم اليودي)	مختبر عملي
عملي 13	استحلاب الزيوت تصبن الدهون	مختبر عملي
عملي 15	تزنخ الدهون (اختبار رقم البيروكسيد)	مختبر عملي

الكاربوهيدرات : Carbohydrates

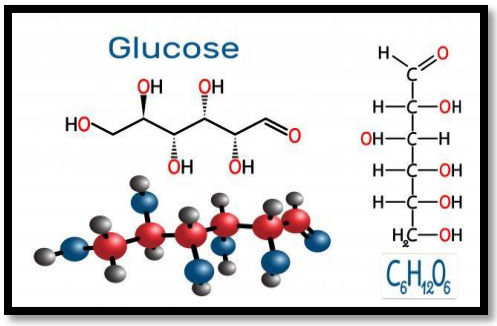
هي عبارة عن مركبات الديهايد او كيتون متعددة الهيدروكسيل وتتكون من الكاربون والهيدروجين و الاوكسجين موجودان بنفس نسبتهما بالماء وصيغتها العامة $C_nH_{2n}O_n$ حيث تنشا او تتخلق الكربوهيدرات من النباتات بعملية التركيب الضوئي.

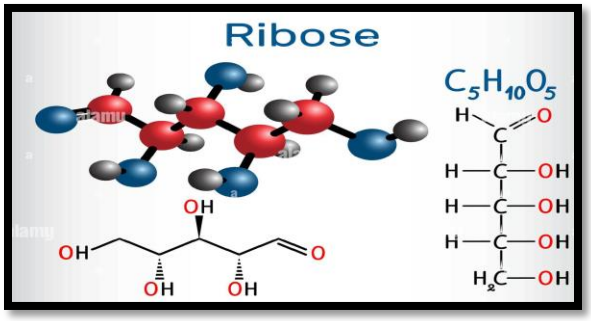
وللكاربوهيدرات وظائف او فوائد منها: -

1- تركيبية . تدخل في تركيب جدار الخلية الصلب كالسيليلوز

2- مخزن للطاقة مثل النشا والكلايكوجين .

3- مصدر للطاقة . مثل تحويل الكلوكوز بعملية التنفس الهوائي واللاهوائي الى ATP .





تصنيف السكريات حسب الزمرة الوظيفية التي تحتويها

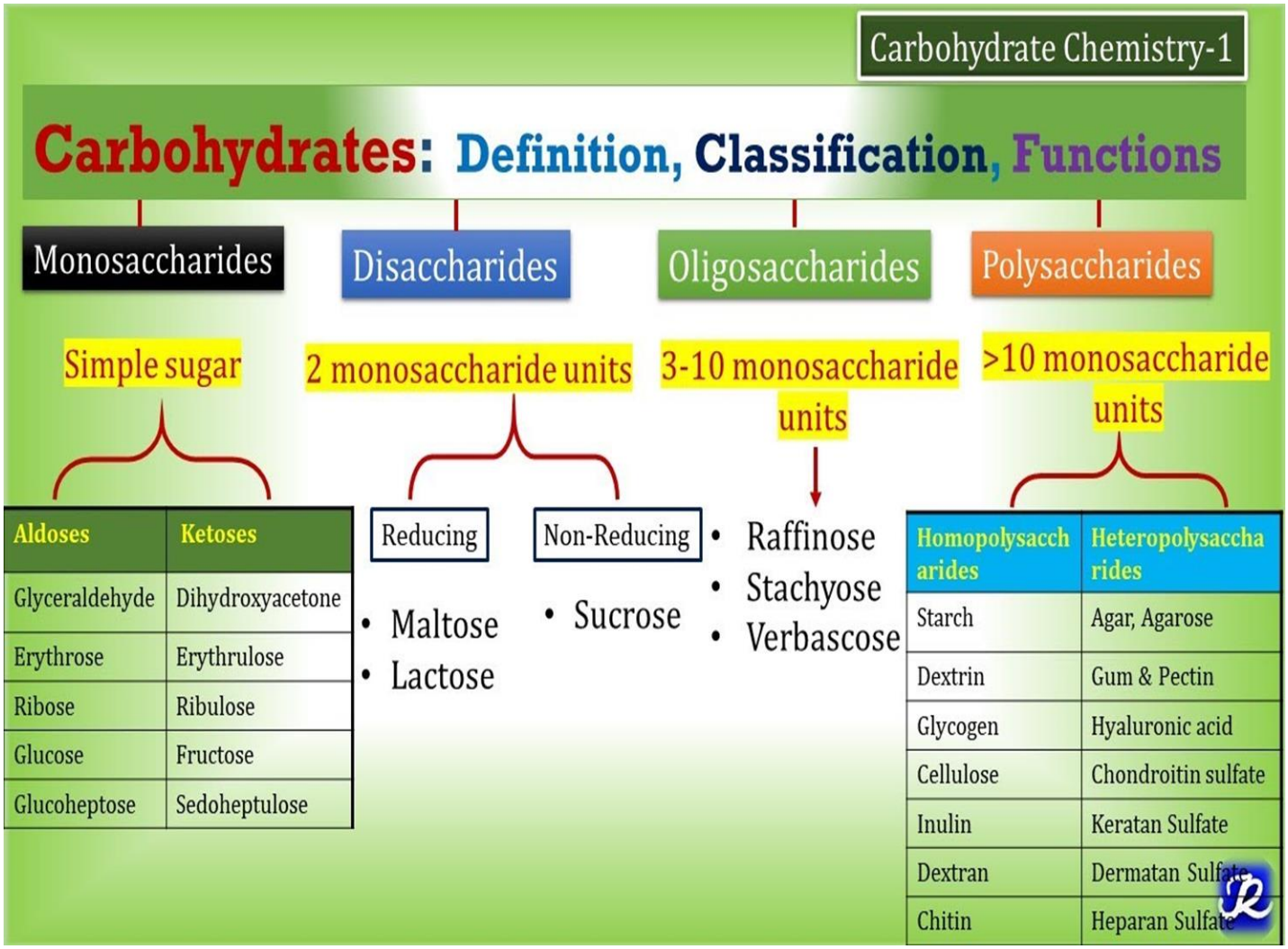
قد تحتوي السكريات زمرة ألديهايد وتدعى السكريات ألالديهايدية Aldoses أو تحتوي على زمرة كيتون وتدعى السكريات الكيتونية Ketoses والأمثلة موضحة بالشكل

الاختبارات العامة لكربوهيدرات: هي اختبارات وصفية او نوعية

الغرض من هذه الاختبارات هو:-

1- التعرف الكربوهيدرات كمواد مختلفة عن الجزيئات الأخرى مثل البروتينات و الدهون
2- التعرف على السكريات الأحادية والتمييز بين السكريات الخماسية (pentose) و السداسية(Hexose) و أيضا التميز بين السكريات الالديهايدية (aldose) و السكريات الكيتونية (ketose)
3- التعرف على الصفة الاختزالية والتمييز بين السكريات المختزلة والغير مختزلة
4- التعرف على السكريات الثنائية والتمييز بينها وبين السكريات الأحادية
5- التعرف على السكريات المتعددة.

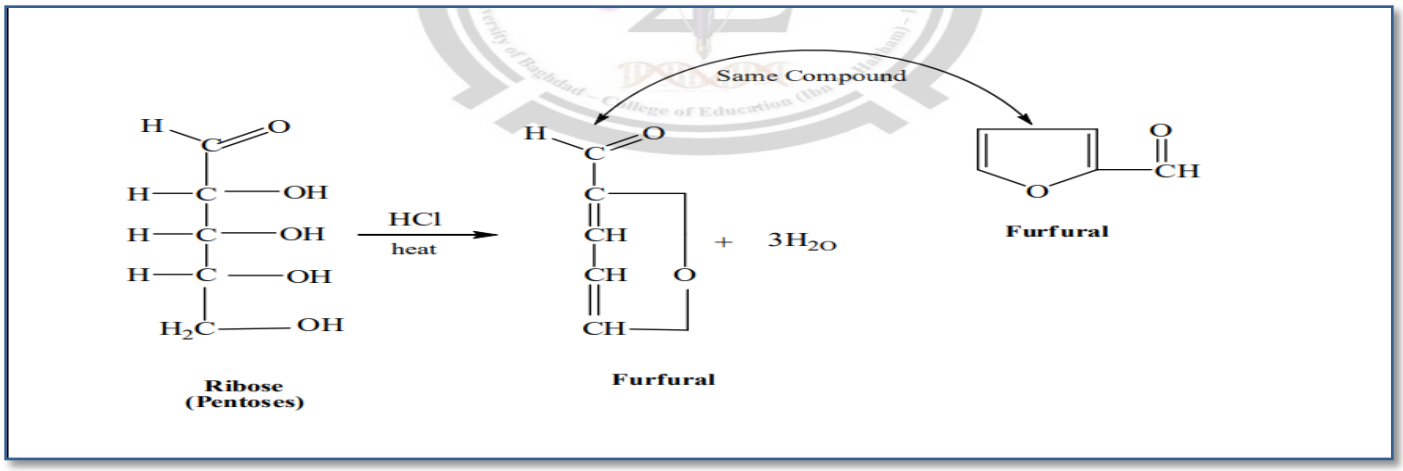
تصنيف الكاربوهيدرات

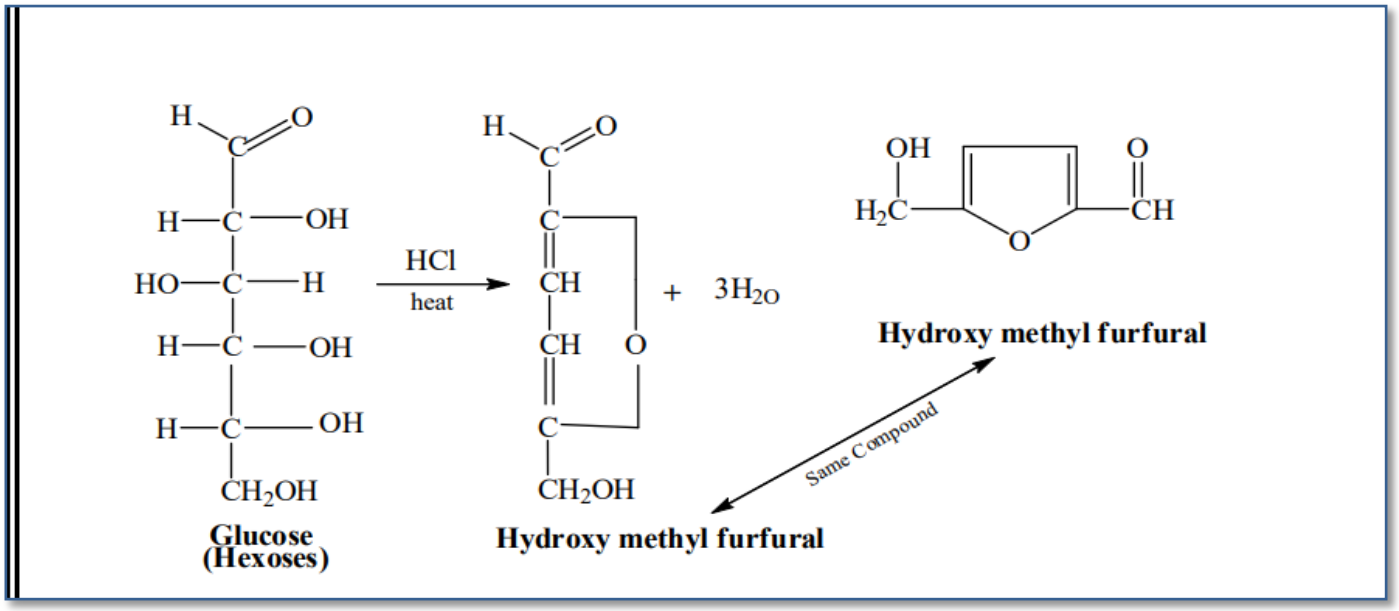


الكشف عن الكربوهيدرات :-

اولاً : تأثير الحوامض الغير مؤكسدة على الكاربوهيدرات

تتفاعل الحوامض الغير مؤكسدة مع السكريات الاحادية وتعمل على تجفيفها بإزالة ثلاثة جزيئات ماء منها مكونة مركب يدعى الفورفرال Furfural في حالة السكريات الخماسية .او مشتق الفورفرال furfural methyl Hydroxy في حالة السكريات السداسية . حيث يعتبر هذا المركب الاساس الذي تعتمد عليه تجارب كل من موليش , و سليفانوف , و بيال . حيث يتحد الفورفورال او مشتقه مع انواع مختلفة من الفينولات مكونا معقدات ملون.





1- كشف موليش Molisch's test

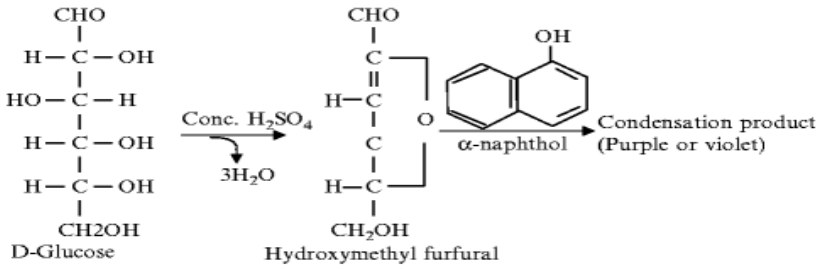
اختبار مولش هو اختبار كيميائي يستخدم للكشف من وجود الكاربوهيدرات في محلول العينة .تم تسمية هذا الاختبار نسبة الى عالم النبات التشيكي النمساوي هانز مولش و هو اختبارعام لجميع الكابروهيدرات و هو يعطي مع أحادي السكاريد اختبارًا إيجابيًا سريعًا، وتتفاعل السكريات الثنائية والسكريات المتعددة بشكل أبطأ.

ما هو الهدف او الغرض من كشف موليش ؟

التمييز او التعرف على الكربوهيدرات ومقارنتها مع الجزيئات الكبرى الأخرى مثل الدهون و البروتينات.

ما هو الاساس العلمي او مبدأ عمل كشف مولش؟

في اختبار موليش، تخضع جميع الكربوهيدرات إن وجدت للجفاف عند إدخال حامض الهيدروكلوريك أو حامض الكبريتيك المركز (الحوامض الغير مؤكسدة)، **حيث يعمل حامض H_2SO_4 المركز عامل مجفف وليس عامل مؤكسد** (agent dehydrating) يعمل على تكسير (تحطم) الأواصر الكلايكوسيدية أولاً ليعطي سكريات احادية تفقد بدورها ثلاث جزيئات من الماء لتعطي ال Furfural اذا كان السكريات الأحادية خماسية او مشتقه اذا كانت سكريات أحادية سداسية اللذين يتحدان بدورهما بعملية تكثيف مع جزيئتين من الفا نفثول الكحولي و تكوين المعقد البنفسجي على شكل حلقة.



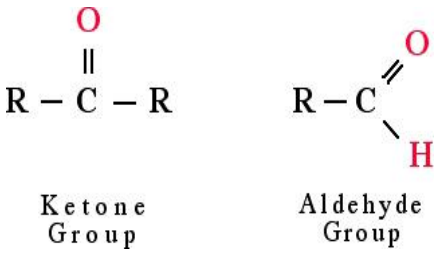
طريقة العمل :

1. اخذ انبوبة اختبار نظيفة عدد اثنان
2. نضع في انبوبة الاختبار الاولى 2 مل من المحلول السكري والاخرى محلول غير سكري
3. تضاف قطرتان من محلول الفا نفثول الكحولي الى كل انبوبة على حده من المحلول .

ثم يضاف وباحتراس على جدران الانبوبة الاختبار الداخلية 1 مل من حامض H_2SO_4 المركز بحيث ينزلق الى قعر الأنبوبة مكوناً طبقتين من المحلول السكري والحامض وعند السطح الفاصل تظهر الحلقة البنفسجية اما انبوبة الاختبار الاخرى التي تحتوي على محلول غير سكري نلاحظ عدم تكون الحلقة.

الكواشف Reagent:

1) H_2SO_4
2) الفا نفثول الكحولي يحضر بإذابة 0.5 g من الفانفثول في 100 ml من الايثانول يحضر حديثاً.



2- كشف سلفانوف Seliwanoff's test

ما هو الهدف او الغرض من كشف سلفانوف ؟

التمييز بين السكريات الكيتونية (Ketose) و الالدهايدية (aldose)

الكيتوز والألدوز عبارة عن سكريات أحادية يمكن تمييزها بناءً على المجموعة التي تحتوي عليها. يتم تعريف الألدوز على أنه أحادي السكاريد (سكر احادي) الذي يحتوي هيكله الكربوني على مجموعة ألدهايد. توجد في المقام الأول في النباتات. بينما الكيتوز هو أحادي السكاريد لهيكل كربوني لديه مجموعة كيتون. يتم استخدامها في المعالجة طعام. من أمثلة الكيتوز الريبولوز والفركتوز وما إلى ذلك.

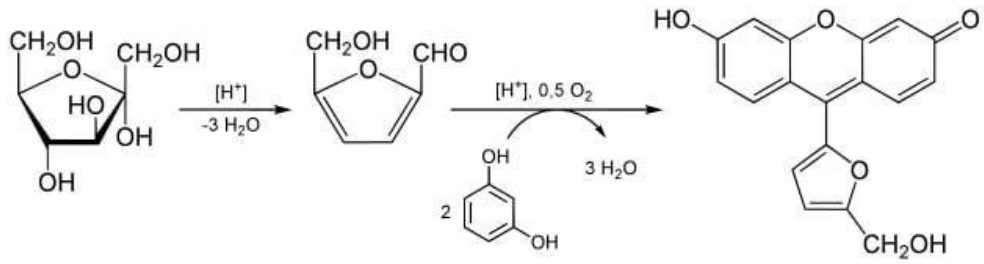
مالفرق بين الدوز والكيتوز؟

الخصائص	السكريات الدوز	سكريات كيتوز
المجموعة الفعالة	الديهايد	كيتون
تواجده	النباتات	الاطعمة
اختبار سلفانوف	وردي فاتح (-)	احمر قرمزي (+)
امثلة	Glucose, ribose, and galactose	Fructose, erythrulose, and ribulose

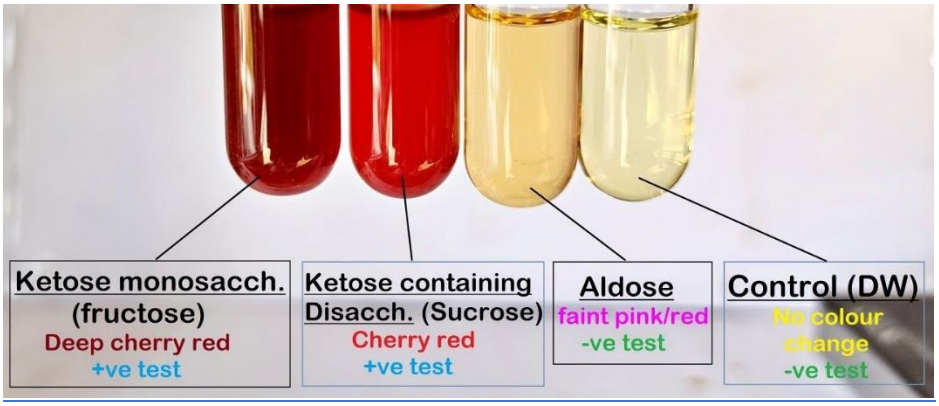
الاساس العلمي مبدأ عمل كشف سلفانوف Principle of Seliwanoff's test

يستخدم اختبار سيلفانوف Seliwanoff's test للتمييز بين السكريات التي تحتوي على مجموعة كيتون (سكريات الكيتوز) والسكريات التي تحتوي على مجموعة الألدهيد (سكريات الادوز) و هو اختبار كيمياء يعتمد سرعة فقدان الماء وتكون

فورفورال بسهولة أكثر وسرعة اكبر مع السكريات الكيتونية مقارنة مع السكريات الالدهايدية. ويتكثف الفورفورال الناتج من السكريات الكيتونية مع الريزوسينول يتكون معقد أحمر اللون.



بينما مع سكريات الدوز يكون التفاعل بطيء و يعطي لون وردي فاتح.



طريقة العمل :

1. اخذ انبوبة اختبار نظيفة عدد اثنان
2. نضع في انبوبة الاختبار الاولى 2 مل من المحلول السكريات الاحادية الكيتونية والاخرى محلول سكري الديهايدية
3. تضاف كمية مساوية (2 مل) من محلول سلفانوف الى كل انبوبة على حده من المحلول .
4. ضع الانبوبتان في حمام مائي مغلي لمدة 5 دقائق ولاحظ النتائج ثم سجلها.

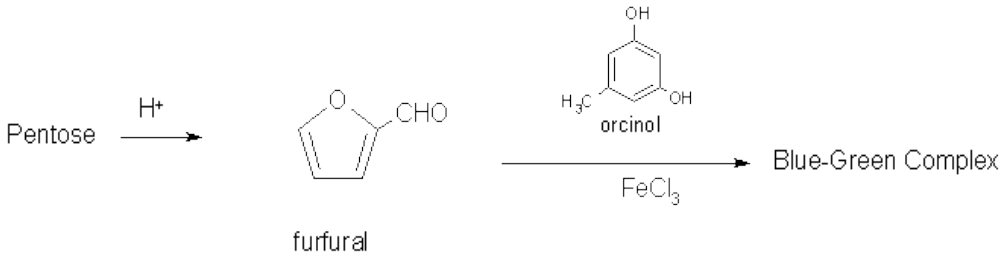
3- كشف بيال Bial's test

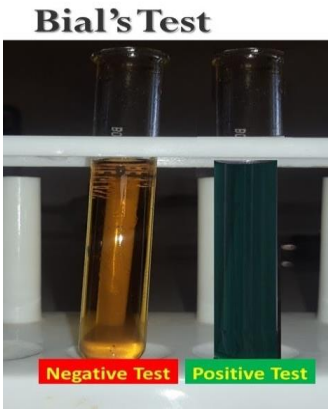
ما هو الهدف من اختبار بيال ؟

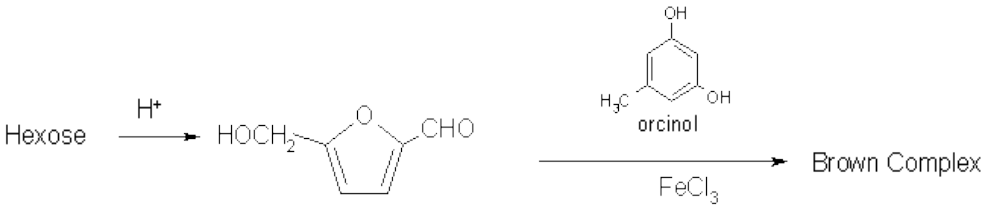
التمييز بين السكريات الخماسية و السداسية (البنتوز و الهكسوز)

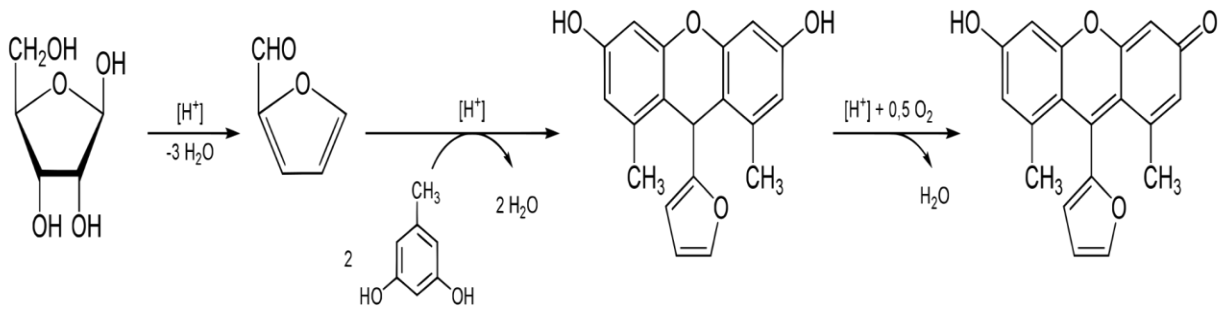
اختبار بيال أو كشف بيال Bial's test، هو اختبار كيميائي للكشف عن وجود السكر الخماسي (البنتوز). ويتكون من الاورسينول، حامض الهيدروكلوريك، وكلوريد الحديد الثلاثي. محلول سكر خماسي ، حيث يتم تجفيف (ازالة ثلاثة جزيئات ماء)

من السكر الخماسي لينتج مركب الفرفورال ثم يتكثف مع الاورسينول لتكوين معقد ازرق مخضر اللون بينما يتفاعل مع السكر السداسي يعطي معقد ذو لون البني.









طريقة العمل :

تحضير المحاليل والكواشف :-

1. محاليل الاختبار 5% من سكريات الخماسية و السداسية .
2. كاشف بيال 0.4 غم من الاورسينول، 200مل من حامض الهيدروكلوريك، و 0.5 مل من كلوريد الحديد الثلاثي
3. حمام مائي .
4. ماصه.
5. انابيب اختبار جافة.

حمام مائي مغلي مدة 5 دقائق.

ثانياً:- الكشوفات عن السكريات الثنائية (الكشف العام ، التميز بين الاحادية والثنائية، التميز بين السكريات المختزلة والغير مختزلة)

السكريات

ثانياً الصفة الاختزالية للسكريات :

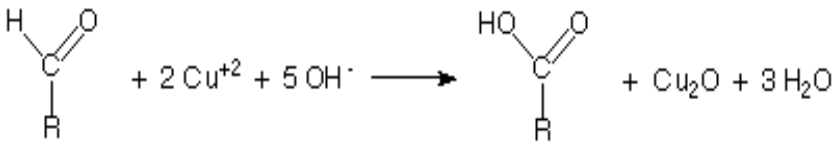
تسمى السكريات الأحادية وبعض السكريات الثنائية التي تحتوي على مجاميع وظيفية حرة الألدهايد CHO أو الكربونيل O=C (كيتون) بالسكريات المختزلة لأنها قادرة على نقل الهيدروجين (الإلكترونات) إلى مركبات أخرى ، وهذه العملية تعرف باسم عملية الاختزال. وهنا عدة اختبارات خاصة بالصفة الاختزالية منها خلط السكريات المختزلة مع كاشف

بندكت او بارفويد ومن ثم تسخينها ، و تقاس القابلية الاختزالية للسكريات من خلال قدراتها على اختزال ايونات الفلزات Cu^{+1} او Ag^{+1} في الوسط القاعدي او الحامضي الى اكاسيدها الواطئة او الى الفلز نفسه.

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.

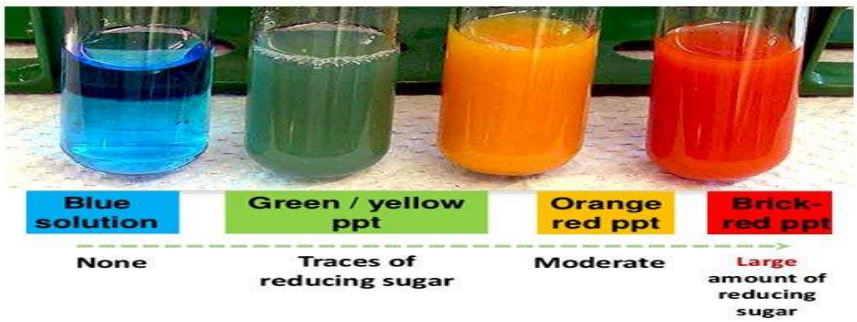
1- اختبار بندكت:

يستخدم اختبار بندكت لاختبار السكريات المختزلة (السكريات الأحادية وبعض السكريات الثنائية) ، التي تحتوي على مجموعات وظيفية حرة من الكيتون أو الألدهايد و هو اختبار كيميائي يتطلب استخدام محلول يعرف بمحلول بندكت الذي يتكون من خليط من كبريتات النحاس (II) المائي مع قاعدة ضعيفة من مزيج سترات الصوديوم و كربونات الصوديوم .



الاساس العلمي اومبدأ عمل كشف بندكت:

عندما يتم تسخين محلول بندكت مع الكربوهيدرات البسيطة ، يتغير المحلول إلى أحمر برتقالي / أحمر القرميدي. و يحدث هذا التفاعل بسبب خاصية الاختزال للكربوهيدرات البسيطة. و يتم اختزال أيونات النحاس (II) في محلول بندكت إلى أيونات النحاس (I)، مما يتسبب في تغيير اللون. و أكسيد النحاس الأحمر (I) المتكون غير قابل للذوبان في الماء ويتم ترسيبه خارج المحلول، و مع زيادة تركيز السكر المختزل ، كلما اقترب اللون النهائي من اللون الأحمر القرميدي و أيضا كلما زاد الراسب المتشكل.



طريقة العمل:

تحضير محلول بندكت من اذابة 100g كربونات الصوديوم اللامائية و 173gمن سترات الصوديوم و 17.3g من كبريتات النحاس المائية في قنينة حجمية سعة لتر واحد . حيث توفر كربونات الصوديوم الظروف القلوية (وسط قاعدي) اللازمة لتفاعل الأكسدة والاختزال.

1. يتم وضع ما يقرب من 1 مل من العينة في أنبوب اختبار نظيف.
2. يتم وضع 2 مل (10 قطرات) من كاشف بندكت ($CuSO_4$)في أنبوب الاختبار.

3. ثم يتم تسخين المحلول في حمام مائي مغلي لمدة 3-5 دقائق.
4. لاحظ تغير اللون في محلول أنابيب الاختبار أو تكوين راسب

(أحمر أو برتقالي أو أخضر دليل على كمية السكر المختزل(الكلوكوز و الفركتوز والكالاكتوز والاربينوز)
اما السكر الغير مختزل مثل (السكروز) يبقى المحلول بلونه الأزرق الرائق.

2- كشف بارفويد

اختبار بارفود هو اختبار كيميائي يجرى للكشف عن وجود السكريات المختزلة الأحادية. ويعتمد اختبار بارافويد على اختزال خلات النحاس الثنائي (وسط حامضي) إلى راسب أحمر طوبي من أكسيد النحاس الأحادي Cu_2O اما السكريات الثنائية تتفاعل أيضاً مع هذا الكاشف ولكن التفاعل يكون بطيء جداً.

الغرض من كشف بارفويد

التمييز بين السكريات الأحادية المختزلة (كلوكوز و فركتوز والرايبنوز و الريبوز) والسكريات الثنائية المختزلة او الغير مختزلة (اللاكتوز و المالتوز و السكروز)

الاساس العلمي او مبدأ عمل كشف بارفويد

يتكون كاشف بارفويد (Barfoed) من خلات النحاس في محلول مخفف من حامض الخليك, بما ان الوسط الحامضي غير مناسب للاختزال، فإن السكريات الأحادية تمتاز انها عوامل اختزال قوية تتفاعل خلال فتره زمنية تتراوح من 1-2 دقيقة مقارنة بالسكريات الثنائية المختزلة التي تستغرق وقتًا أطول يبلغ حوالي 7-8 دقائق، حيث يجب أن تتحلل أولاً في المحلول الحامضي ثم تتفاعل مع الكاشف. وبمجرد حدوث التفاعل، يتشكل راسب أحمر رقيق في قاع جوانب الأنبوب. وبالتالي فإن الاختلاف في وقت ظهور الراسب يساعد على التمييز بين السكريات الأحادية المختزلة والسكريات الثنائية المختزلة.

ان الاختلاف بين كشف بندكت و بارفويد هو فقط استبدال وسط التفاعل من القاعدي الى الحامضي

ملاحظة عند زيادة التسخين فإن السكريات الثنائية تتفكك بفعل الحرارة الى احادية وتعطى نفس النتيجة وهى تكون راسب احمر

$$(CH_3COO)_2Cu + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + Cu(OH)_2$$

$$Cu(OH)_2 \rightarrow CuO + H_2O$$

$$\text{D-glucose} + 2CuO \rightarrow \text{D-gluconic acid} + Cu_2O$$

طريقة العمل:

تحضير محلول بارفويد :- كشف بارفويد عبارة عن 0.33M محلول خلات النحاس Cu_2COOH في 1% من حامض الخليك CH_3COOH. ويفضل تحضيره انيا.

1. اخذ انبوبة اختبار نظيفة عدد ثلاثة
2. نضع في انبوبة الاختبار الاولى 1 مل من المحلول السكريات الاحادية المختزلة والثانية محلول سكري ثنائي مختزل أيضا اما الثالثة سكر غير مختزل
3. تضاف 5 قطرة من محلول بارفويد الى كل انبوبة على حده من المحلول .
4. ضع الانبوبتان في حمام مائي مغلي لمدة 2-3 دقائق ولاحظ النتائج ثم سجلها.
5. استمر بالتسخين اكثر من 5 دقائق ثم سجل النتيجة وناقشها؟

واجب بيتي

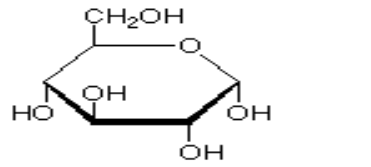
1- قارن بين كاشف بارفويد و بندكت؟
2- كيف تحضر محلول بارفويد 0.33M محلول خلات النحاس Cu_2COOH في 1% من حامض الخليك CH_3COOH ؟
3- وضح نتائج النقطة الخامسة في طريقة العمل (تأثير التسخين) معزز الإجابة ميكانيكة تفاعل ان وجدت؟

ثالثاً: السكريات المتعددة

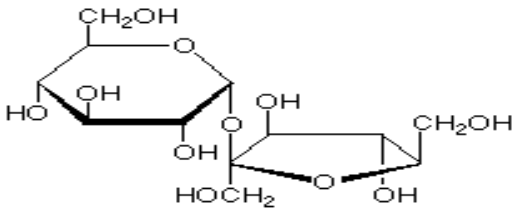
السكريات المتعددة (Polysaccharides) مركبات عديمة الطعم والرائحة مكونه من اتحاد عدد كبير من جزيئات السكريات الاحادية monosaccharides المرتبطة مع بعضها عن طريقة اواصر الكلاكوسيدية bonds glycoside مكونه سلاسل ذات اطوال مختلفة , وهذه السلا سل قد تكون متفرعة branched مثل الاميلوبكتين amylopectin والكلايكوجين glycogen او قد تكون مستقيمة السلسلة مثل اميلوزamylose والسيليلوز cellulose

صفات السكريات المتعددة:

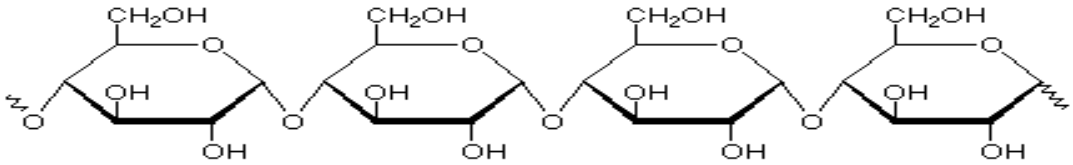
1 -وزنها الجزيئي العالي .
2-عدم وجودها بحالة بلورية.
3 -تحللها المائي يعطي وحدات عديدة من السكريات الأحادية



monosaccharide (glucose)



disaccharide (sucrose)



polysaccharide (amylose starch)

1- كشف اليود

الغرض من الاختبار:-

التمييز بين السكريات العديدة (اللاسكريات) (النشا- الكلايكوجين– الديكسترين) والسكريات الأخرى (الأحادية والثنائية).

ألاساس العلمي او مبدأ عمل كشف اليود :-

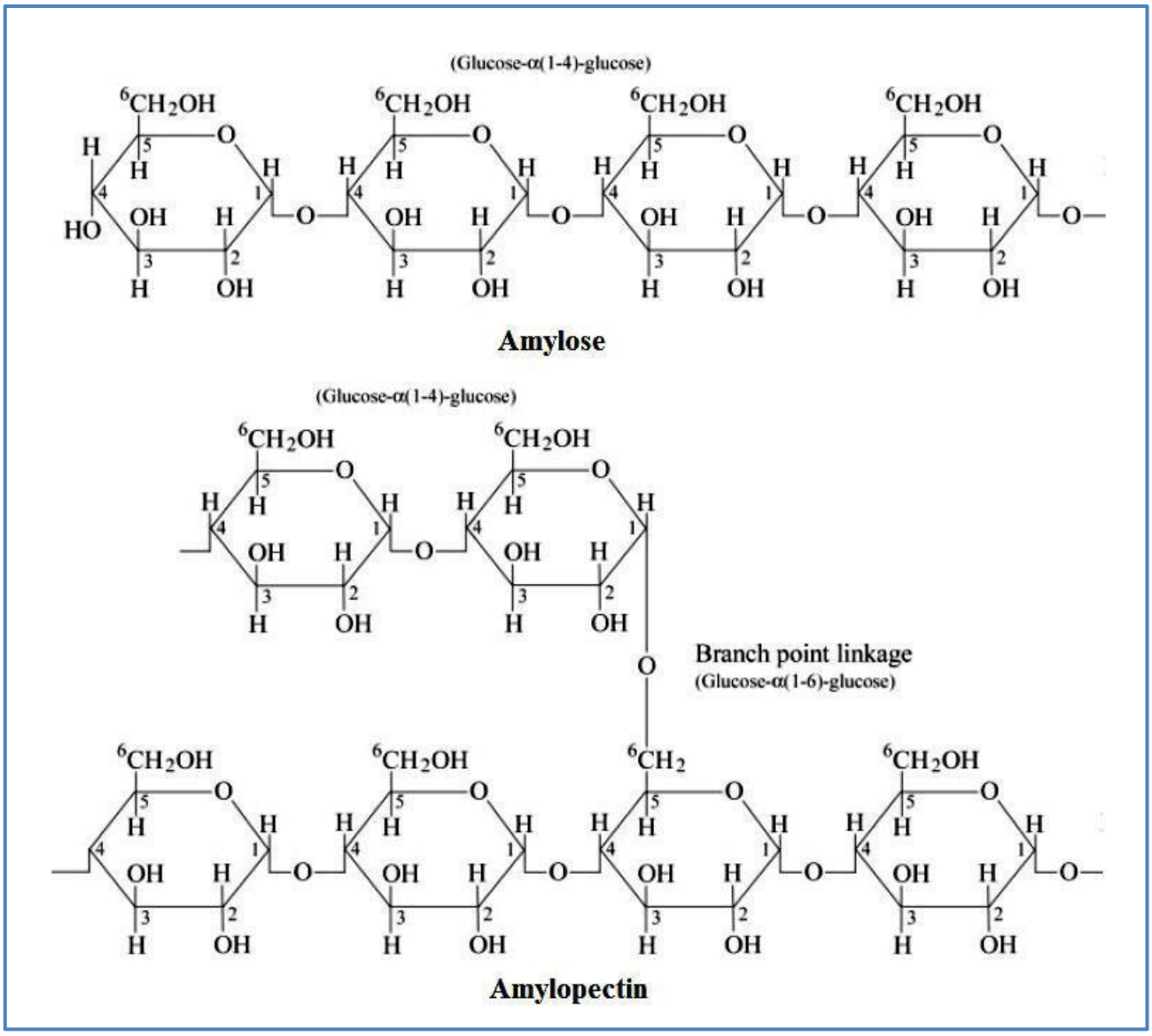
يكون محلول اليود متراكبات امتزازية مع السكريات العديدة في الوسطين الحامضي والمتعادل البارد فيعطي النشا لون أزرق و يزول بالتدفئة ثم يعود بالتبريد مرة أخرى لماذا ؟ ويعطي الكلايكوجين لون أحمر ويعطي الديكسترين اللون البنفسجي مع اليود.

طريقة العمل

محلول اليود Solution Iodine

يحضر 0.050 N من اليود I_2 في 3% من يوديد البوتاسيوم iodide Potassium

1. اخذ انبوبة اختبار نظيفة عدد اثنان
2. نضع في انبوبة الاختبار الاولى 5 مل من المحلول السكريات المتعددة النشأ والاخرى محلول سكري احادي او ثنائي
3. ثم يضاف 2 قطره من محلول اليود (0.05% من I_2 مذاب في 3% KI) نلاحظ هنا سيظهر اللون الازرق نتيجة امتزاز اليود على سطح السكر المتعدد و عدم ظهوراللون في السكريات المتعددة.



مكون النشأ من الاميلوز - والاميلوبكتين

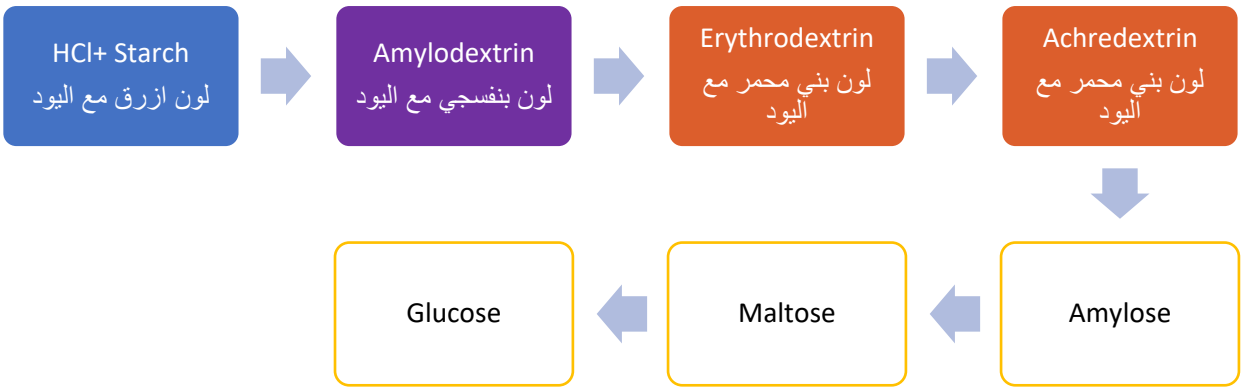
2- التحلل المائي للنشأ بواسطة الاحماض المعدنية Acid Hydrolysis of Starch

يتحلل النشأ وفق المخطط التالية:

طريقة العمل :

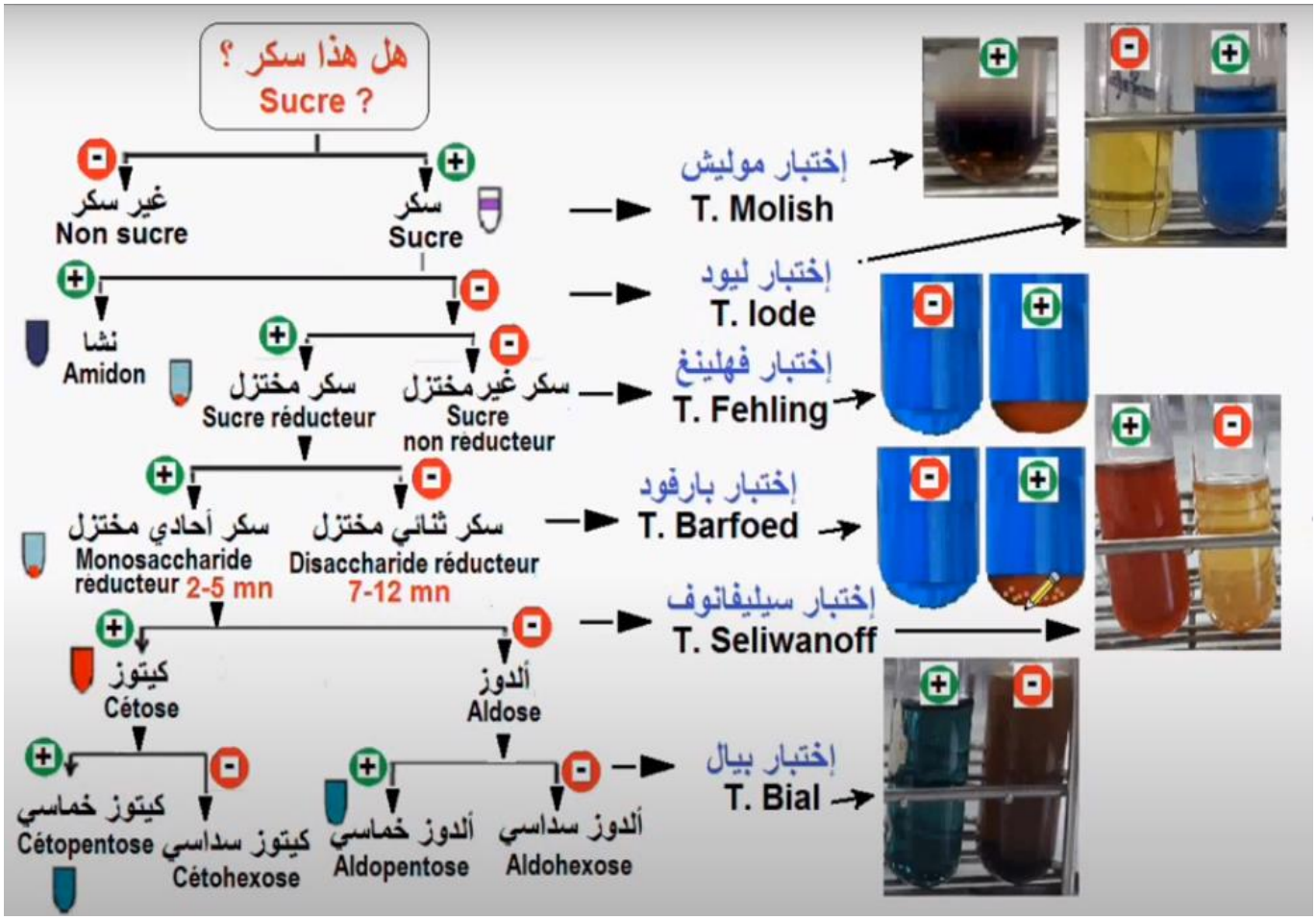
اخلط 10مل من محلول النشا مع 3مل من حامض HCl المخفف اغمر انبوبة الاختبار في حمام مائي مغلي .بعد كل 3 دقائق خذ قطرات من هذا المحلول واكشف عن نواتج التحلل بواسطة اليود1% .لاحظ في البداية يتكون لون ازرق نشأ ثم بنفسجي هو اميلودكسترين (Amylodextrin) ثم بني محمر اريثرودكسترين (Erythrodextrin) ثم لا يتغير بعد ذلك اللون لان سكريات قليلة التعدد و ثنائية و أحادية . ثم بعد هذه المرحلة عدم ظهور اللون المميز اترك الانبوبة في الحمام المغلي لمدة عشر دقائق بعد ذلك خذ قليل من هذا المحلول وعادل الحموضة بواسطة Na_2CO_3 ثم اجر كشف بندكت راسب برتقالي .

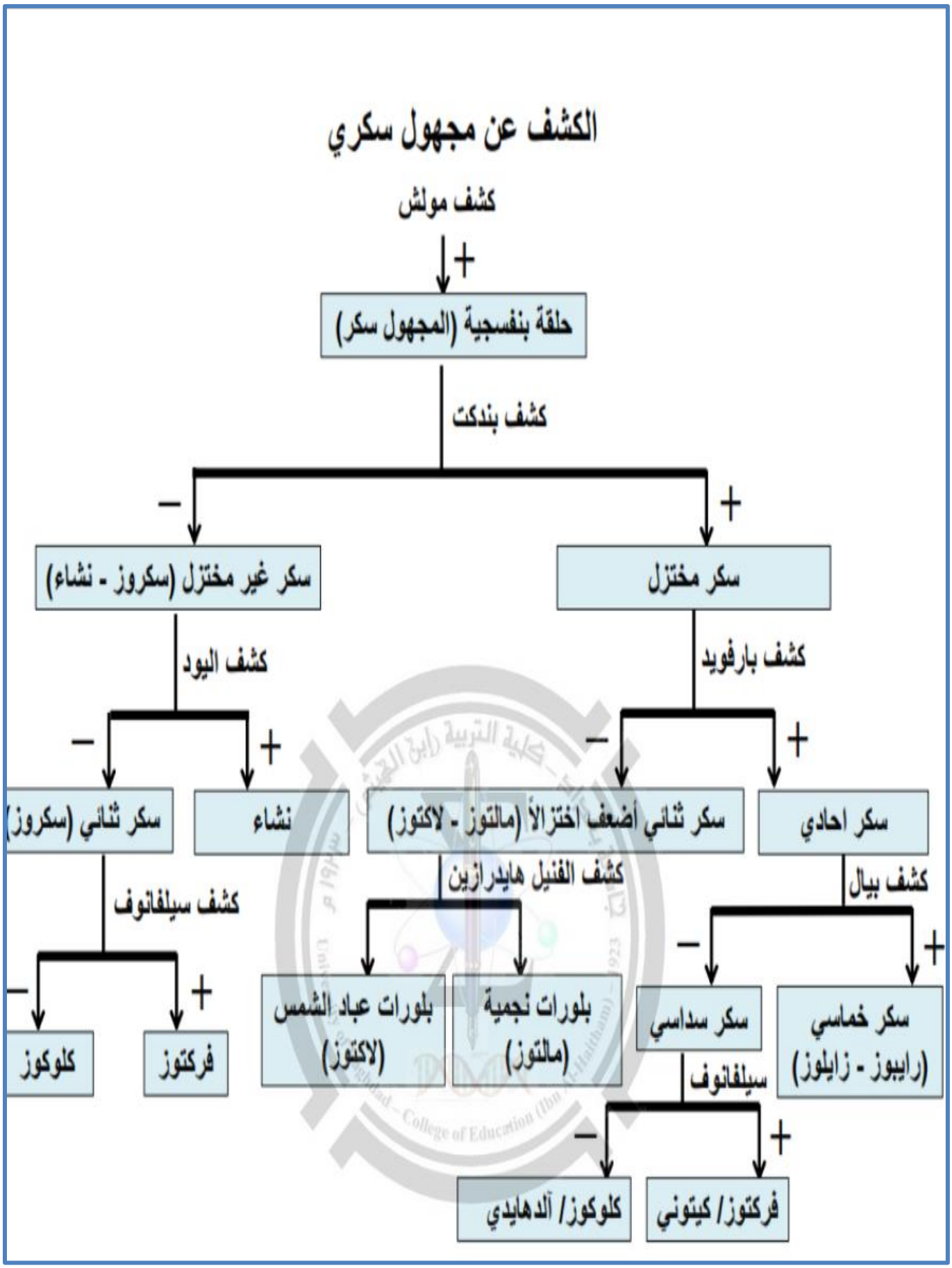
ثم اجر كشف الاوزازون سوف نلاحظ تكون بلورات ابرية صفراء دليل ان الناتج هو الكلوكوز مما يدل ان الناتج النهائي للتحلل المائي للنشا بواسطة الاحماض المخففة هو الكلوكوز اي ان النشأ يتكون من وحدات متعددة من الكلوكوز.كرر التجربة مع اللعاب بدل الحامض المخفف ماذا تستنتج؟



كيف يتم الكشف عن عينة محلول سكري مجهولة ؟

ج / يتم الكشف عنها عن طريق اجراء الكشوفات النوعية للكاربوهيدرات حسب المخطط التفصيلي ادناه




الكشف عن مجهول سكري
كشف مولش
+
حلقة بنفسجية (المجهول سكر)
كشف بندكت
−
+
سكر غير مختزل (سكروز - نشاء)
سكر مختزل
كشف اليود
كشف بارفويد
−
+
−
+
سكر ثنائي (سكروز)
نشاء
سكر ثنائي أضعف اختزالاً (مالتوز - لاكتوز)
سكر احادي
كشف الفنيل هايدرازين
كشف بيال
كشف سيلفانوف
−
+
−
+
كلوكوز
فركتوز
بلورات عباد الشمس (لاكتوز)
بلورات نجمية (مالتوز)
سكر سداسي
سكر خماسي (رايبوز - زايلوز)
سيلفانوف
−
+
كلوكوز/ آلدهايدي
فركتوز/ كيتوني