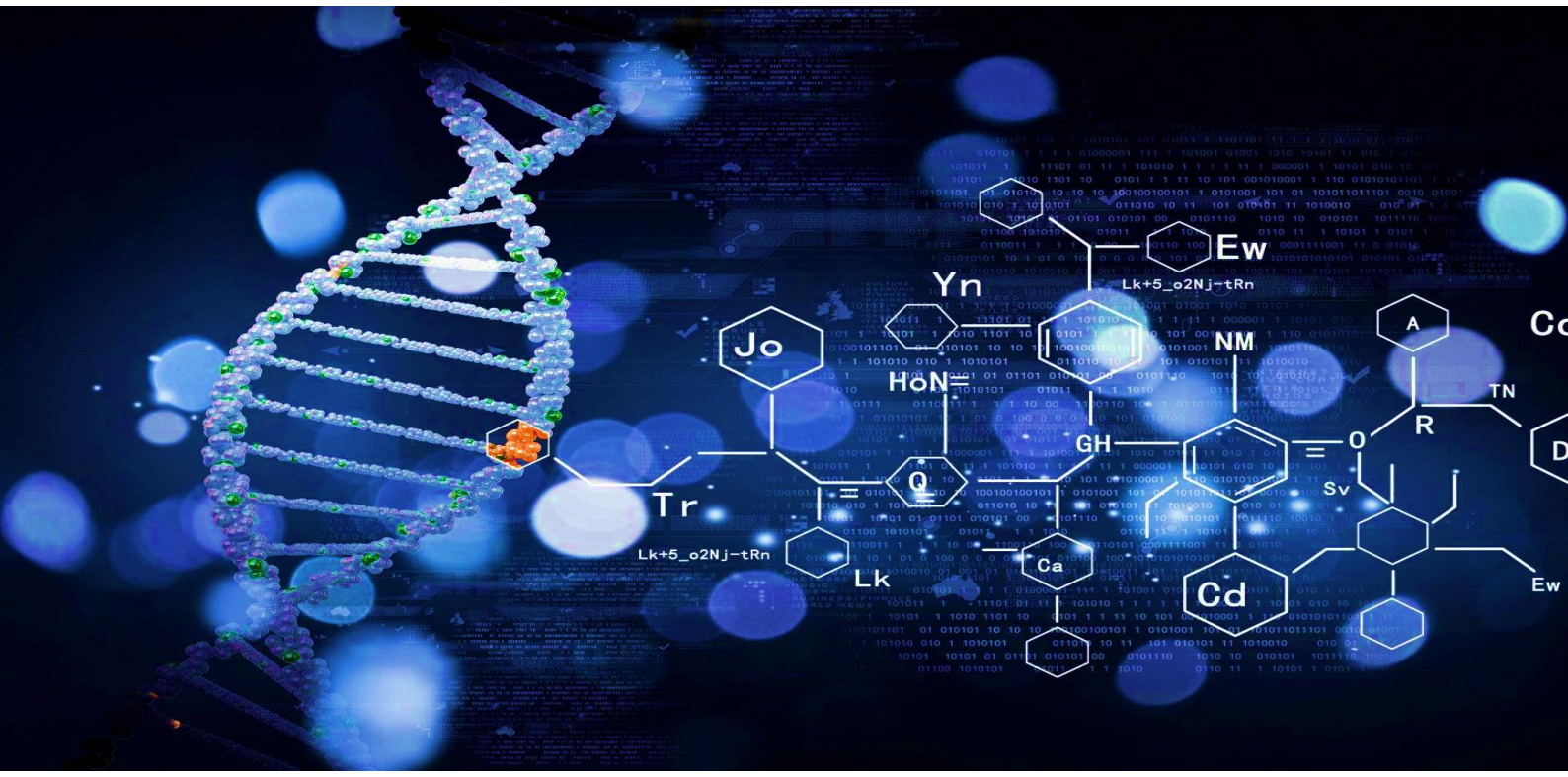
جَـامعة
المَـنارة
MANARA UNIVERSITY



دليل جلسات العملي لمقرر الكيمياء الحيوية

كلية طب الأسنان

إعداد

د. سوسن يوسف سعد

مدرّس الجزء العملي

د. سوسن يوسف سعد

جَـامعة
المَـنارة
MANARA UNIVERSITY

المحتويات

Contents

الجلسة الأولى: مقدمة في الكيمياء الحيوية وقواعد العمل المخبر..... 10

مقدمة..... 10

قواعد العمل والأمان في مخابر الكيمياء الحيوية:..... 10

الإسعافات الأولية للإصابات الشائعة في المخابر الكيميائية 12

الحروق 12

a. الحروق الناجمة عن الحرارة 12

b- الحروق الناجمة عن الحموض والقلويات 13

c - الحروق الناجمة عن البروم 13

d- الحروق الناجمة عن البروم 13

f- الحروق الناجمة عن الفينول 13

الجروح 13

إصابات العين..... 13

ابتلاع المواد الكيميائية 13

الجلسة الثانية: السكريات (1) 14

أهداف الجلسة 14

مقدمة..... 14

التجارب العملية 16

التجربة رقم 1: اختبار موليش..... 16

المبدأ 16
المواد المستعملة 16
طريقة العمل 16
التجربة رقم 2: اختبار سلفانوف 17
المبدأ 17
المواد المستعملة 18
طريقة العمل 18
التجربة رقم 3: اختبار بيال 18
المبدأ 18
المواد المستعملة 18
طريقة العمل 19
الجلسة الثالثة:السكريات (2) تفاعلات السكريات المرجعة والسكاكر المتعددة 20
أهداف التجربة 20
مقدمة 20
التجربة رقم 1: اختبار بينديكت 21
المبدأ 21
المواد المستعملة 21
طريقة العمل 21
التجربة رقم 2: اختبار بارفويد 22
المبدأ 22
المواد المستعملة 22

طريقة العمل.....22
اختبارات السكريات المتعددة.....23
خواص السكريدات المتعددة.....23
أهم السكريدات المتعددة.....23
التجارب العملية.....24
التجربة رقم 1: اختبار اليود.....24
المبدأ.....24
المواد المستعملة.....24
طريقة العمل.....24
الكشف عن محلول سكري مجهو ل.....24
الجلسة الرابعة: الشحوم (1) الكشف عن الحموض الدسمة وثلاثيات الغليسيريد.....25
أهداف الجلسة.....25
مقدمة.....25
الحموض الدسمة.....26
أهم الشحو م.....26
1 - الدهون البسيطة.....26
2- الغليسيريدات.....26
الدهون المركبة (المعقدة).....27
1- الشحميات الفوسفورية.....27
2- السفينغوليبيدات.....28
3- الشحوم المشتقة (الستيرولات والستيروئيدات).....28
التجربة رقم 1: دراسة الخاصية الذوبانية للشحو م.....28

المبدأ 28
المواد المستعملة 28
طريقة العمل 29
التجربة رقم 2: الكشف عن الغليسيرول من خلال تفاعل تشكل الأكرولئين 29
المبدأ 29
المواد المستعملة 29
طريقة العمل 30
التجربة رقم 3: التفاعل مع خلات النحاس لتمييز الحموض الدسمة الحرة 30
المبدأ 30
المواد المستعملة 30
طريقة العمل 30
الجلسة الخامسة: الشحوم (2) الكشف عن الكوليسترول 31
أهداف الجلسة 31
تفاعلات الكشف عن الكوليسترول 31
التجربة رقم 1: تفاعل ليبرمان للكشف عن الكوليستيرول 32
المبدأ 32
المواد المستعملة 32
طريقة العمل 32
التجربة 2: تفاعل سالكوفسكي للكشف عن الكوليسترول 32
المبدأ 32
المواد المستعملة 33

طريقة العمل.....33
تفاعل التصبن.....33
تصنيف الشحوم من حيث قابلية التصبن.....33
1- الشحوم المعقدة (القابلة للتصبن).....33
2- الشحوم البسيطة (غير القابلة للتصبن).....34
التجربة 3: تفاعل تصبن الغليسيريدات.....34
المبدأ.....34
المواد المستعملة.....34
طريقة العمل.....34
الجلسة السادسة: الأحماض الأمينية والببتيدات والبروتينات (1).....35
أهداف الجلسة.....35
مقدمة.....35
الأحماض الأمينية.....36
البروتينات.....36
التجربة رقم 1: تفاعل النينهيدرين.....37
المبدأ.....37
المواد المستعملة.....37
طريقة العمل.....37
التجربة رقم 2: تفاعل البيوريت (البولة المضاعفة).....38
المبدأ.....38
المواد المستعملة.....39
طريقة العمل.....39

الجلسة السابعة: الأحماض الأمينية والببتيدات والبروتينات (2) 40

أهداف الجلسة 40

التجربة رقم 1: تفاعل الكزانتوبروتئين للكشف عن الأحماض الأمينية العطرية 40

المبدأ 40

المواد المستعملة 40

طريقة العمل 41

التجربة رقم 2: تفاعل الكشف عن التربتوفان (تفاعل هوبكنز- كول) 41

المبدأ 41

المواد المستعملة 41

طريقة العمل 41

التجربة رقم 3: تفاعل الكشف عن التيروزين (تفاعل ميلون) 42

المبدأ 42

المواد المستعملة 42

طريقة العمل 42

الجلسة الثامنة: الأحماض الأمينية والببتيدات والبروتينات (3) 43

أهداف الجلسة 43

التجربة رقم 1: الكشف عن الآرجنين (تفاعل ساكاغوشي) 43

المبدأ 43

المواد المستعملة 43

طريقة العمل 44

التجربة رقم 2: تفاعل الكشف عن الأحماض الأمينية الكبريتية (تفاعل فول) 44

المبدأ 44

المواد المستعملة 44
طريقة العمل 44
الجلسة التاسعة: فصل وترسيب البروتينات 45
أهداف الجلسة 45
مقدمة 45
أهم طرائق ترسيب وفصل البروتينات 46
ترسيب البروتينات بالتسخين 46
الترسيب بواسطة أملاح المعادن الثقيلة 46
الترسيب بواسطة الأحماض المعدنية 47
الترسيب بواسطة الأحماض العضوية 47
الترسيب بواسطة المحلات العضوية 47
الترسيب بالأملاح 47
الترسيب بالاعتماد على نقطة التعادل الكهربائي 48
التجربة العملية 48
عزل واستخلاص بروتين الكازئين من الحليب بالاعتماد على نقطة التعادل الكهربائي 48
المبدأ 48
المواد المستعملة 48
طريقة العمل 49
الجلسة العاشرة : الكشف عن المركبات الآزوتية (البولة والكرياتينين والنشادر) 50
أهداف الجلسة 50
مقدمة 50

البولة 51
الكرياتينين 51
التجربة رقم 1: الكشف عن البولة باستخدام دي أسيتيل مونوكسيم 52
المبدأ 52
المواد المستعملة 52
طريقة العمل 52
التجربة رقم 2: تفاعل جافيه Jaffee للكشف عن الكرياتينين 53
المبدأ 53
المواد المستعملة 53
طريقة العمل 54
التجربة رقم 3: الكشف عن النشادر باستخدام كاشف نسلر 54
المبدأ 54
المواد المستعملة 54
طريقة العمل 54

الجلسة الأولى

مقدمة في الكيمياء الحيوية وقواعد العمل المخبري

Introduction to biochemistry and rules of laboratory work

1. مقدمة introduction:

يعرف علم الكيمياء الحيوية بأنه علم كيمياء الحياة، حيث يعنى هذا العلم بدراسة المكونات الرئيسية الداخلة في تركيب المادة الحية، والتي تشمل البروتينات والسكريات والدسم والحموض النووية وجزيئات حيوية أخرى، وتحديد البنية الكيميائية لهذه المركبات، ودورها في العمليات والوظائف الحيوية، والتفاعلات الاستقلابية التي تطرأ عليها داخل الخلايا الحية والتي تشمل الاصطناع (البناء) والتدرك (الهدم).

أما الكيمياء الحيوية السريرية فهي أحد فروع الكيمياء الحيوية، وتدعى أيضاً الكيمياء المرضية أو الكيمياء السريرية، وتدرس الاضطرابات التي تطرأ على العمليات الاستقلابية ودلالاتها المرضية. إن العمل في المخابر الكيميائية يتطلب وعياً كاملاً بخطورة المواد المستخدمة، حيث أن كثير من المواد يتصف بالسمية، أو القدرة على تهييج الأغشية المخاطية، ومنها ما هو حارق أو قابل للاشتعال، وغير ذلك من أشكال الخطورة. إضافة لذلك فإن مخابر الكيمياء الحيوية يتم التعامل فيها مع عينات حيوية (دم، بول..)، قد تكون مصدراً للعدوى بعوامل ممرضة معينة. بناء على ذلك يجب أخذ الحيطة والحذر واتباع تعليمات السلامة الموصى بها خلال العمل المخبري.

2. قواعد العمل والأمان في مخابر الكيمياء الحيوية:

Work and safety rules in biochemistry laboratories

1- التقيد بارتداء لباس خاص مصمم للعمل المخبري من طبيعة قطنية، لا يعيق الحركة، ولونه أبيض، وعدم ارتداء الحلي، وعدم ترك الشعر مفروداً خلال العمل، ويفضل ارتداء نظارات واقية للعينين وكمامات وقفازات خاصة عند التعامل مع المواد الكيميائية الخطرة أو مع العينات الحيوية.

2 - يمنع منعاً باتاً تناول الطعام أو الشراب أو التدخين في المخبر.

3- يهيأ مكان العمل قبل البدء بإجراء التجارب المخبرية، وتجهز جميع الكواشف والمحاليل والأجهزة اللازمة، وتغسل الأدوات قبل البدء بالماء العادي ثم بالماء المقطر.

4 - توضع عبوات المحاليل والكواشف في أماكن مخصصة ولا يجوز نقلها من مكان إلى آخر. ويراعى عدم تحريك الأنابيب الزجاجية الحاوية على مواد كيميائية فوق رؤوس الزملاء في المخبر.

5 – يمنع منعاً باتاً تذوق المادة الكيميائية أو تقريبها من الأنف لمعرفة هويتها، ويتم التعامل مع المواد السامة أو ذات الأبخرة تحت ساحبة الهواء حصراً.

6- توضع اللصاقات على جميع العبوات للدلالة على محتواها والمعلومات الخاصة بالمواد الموجودة فيها. ويجب الانتباه إلى بعض الرموز التي تشير إلى خطورة محتوى العبوات، ومن أهم هذه الرموز

7- تؤخذ المواد السائلة من العبوات الرئيسية بالممصات أو الاسطوانات المدرجة، ويمنع ملء الممصات من خلال الفم عند التعامل مع المواد الكيميائية السامة، وتستخدم لذلك الإجاصات المطاطية.

8- تؤخذ المواد الصلبة بواسطة ملاعق خاصة، ويمنع لمس المواد الصلبة باليد لأن بعضها قد يكون مخرش أو حارق. ويراعى عدم نقل الممصات أو الملاعق بين العبوات المختلفة لمنع تلويثها.

9- يجب الحذر عند تسخين الأنابيب الزجاجية، واستخدام الملاقط الخاصة، وعدم توجيه فوهة الأنبوب أثناء التسخين نحو نفسك أو نحو الأشخاص المجاورين. ولا يجوز خلط المحاليل أو إضافة المواد الصلبة إليها خلال عملية التسخين.

10- لا يجوز تسخين المواد القابلة للاشتعال على اللهب مباشرة إنما عن طريق الحمامات المائية.

11- يجب الانتباه لإعادة الأغطية إلى العبوات بعد الانتهاء وعدم تركها مفتوحة على طاولات العمل، ويمنع منعاً باتاً ترك الأوعية الحاوية مواداً قابلة للاشتعال أو الانفجار عرضة للحرارة أو النار.

12- يرتب وينظف المكان بعد الانتهاء من العمل وتغسل جميع الأدوات ويتم التخلص من الفضلات وبقايا المواد وفق إرشادات المشرف المخبري، ولا تعاد الكميات المتبقية من المحاليل أو المواد الصلبة إلى العبوات الرئيسية بعد الانتهاء من العمل.

13- تسجل المشاهدات ونتائج التجارب سواء كانت إيجابية أو سلبية على دفتر خاص.

3- الإسعافات الأولية للإصابات الشائعة في المخابر الكيميائية:

First aid for common injuries in chemical laboratories:

1- الحروق the burn:

a. الحروق الناجمة عن الحرارة The burns caused by the heat:

بحالة حروق الدرجة الأولى يغسل مكان الحرق جيداً بالماء ويطهر بالكحول الإيتيلي ثم يغطى بضماد عقيم، أما في حالة حروق الدرجات المتقدمة ينقل المصاب إلى أقرب مركز طبي

b- الحروق الناجمة عن الحموض والقلويات: The burns caused by the acids and alkalis:

تغسل أولاً بشكل جيد بالماء ثم يغسل مكان الإصابة بمحلول بيكربونات الصو ديوم 1% في حال الحموض، أما في حال القلويات تغسل الإصابة بمحلول حمض البوريك أو حمض الخل 2% أو حمض الليمون.

c- الحروق الناجمة عن البروم The burns caused by bromine:

يغسل مكان الحرق بالماء جيداً ثم يدهن بالغليسيرين أو الفازلين أو مرهم مضاد للحروق.

d- الحروق الناجمة عن الفينول The burns caused by phenol:

يدهن مكان الحرق بالغليسيرين حتى عودة الجلد للونه الطبيعي ثم يغسل بالماء جيداً ويضمد بشاش عقيم مبلل بالغليسيرين.

2- الجروح the wounds:

ينظف مكان الجرح جيداً، ويتم التخلص من بقايا الزجاج بحالة جروح الأدوات الزجاجية وذلك باستخدام ملقط أو بواسطة تيار الماء القوي، ثم يطهر الجرح باليود أو الكحول ويغطى بضماد عقيم.

3- إصابات العين eye injuries:

في حال تلوث العين بمواد كيميائية تغسل جيداً بكميات كبيرة من الماء، وفي حالة الحموض يتم غسلها بمحلول بيكربونات الصوديوم، أما في حال التلوث بالقلويات فتغسل العين بمحلول حمض البور .

في حال تناثر شظايا زجاجية في العين تتم إزالتها بملقط خاص وتغسل العين بالماء جيداً لحين الوصول إلى الطبيب المختص.

4- ابتلاع المواد الكيميائية Ingestion of chemicals:

في حال ابتلاع حمض يخفف بشرب كميات كبيرة من الماء مصحوباً بمحلول بيكربونات الصوديوم، أما في حال ابتلاع قلوي فيخفف بالماء مضافاً إليه الخل أو حمض الليمون أو عصير البرتقال. أما في حال ابتلاع مواد سامة أخرى فيعطى المصاب مقيئاً بأسرع وقت ممكن لمنع امتصاص تلك المواد في المعدة، وينقل إلى أقرب مركز طبي.

الجلسة الثانية

السكريات (1)

Carbohydrates (1)

1. أهداف الجلسة Objectives of the session:

1- التعرف على التفاعلات اللونية للكشف عن السكريات في محاليلها وتمييزها عن المواد غير السكرية.

2- التعرف على تفاعلات التمييز بين السكريات الألدهيدية (الألدوزات) والكيتونية (الكيتوزات) .

3- التعرف على تفاعلات التمييز بين السكريات البسيطة: الخماسية (البنتوزات) والسداسية (الهيكسوزات).

2- مقدمة introduction:

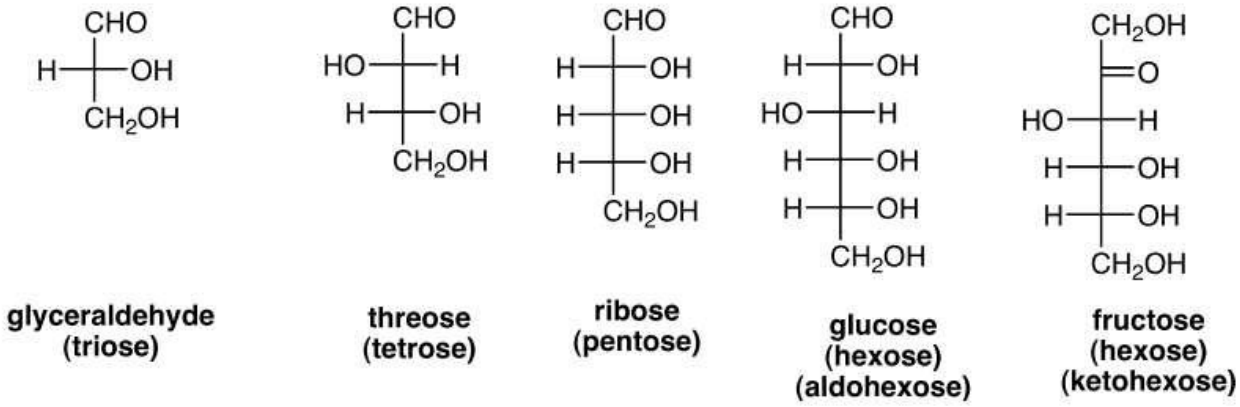
السكريات هي مركبات كيميائية عديدة الهيدروكسيل تحتوي في صيغتها على زمرة ألدهيدية، كيتونية. تتميز السكريات بطعمها الحلو وتنتشر بشكل واسع في الطبيعة وتتواجد في جميع الكائنات الحية في المملكتين الحيوانية والنباتية على عدة أشكال: فمنها البنائي كالسيللوز في النباتات والكيتين في الحيوانات اللافقارية، ومنها كمخزون للطاقة كالغليكوجين الحيواني، ومنها ما يدخل في تركيب الجزيئات الهامة في الجسم كالسكريات الداخلة في تركيب الحموض النووية.

تصنف السكريات اعتماداًعلى خصائصها المختلفة

حسب درجة تعقيدها (عدد الوحدات السكرية):

1- سكريات أحادية Monosaccharides:

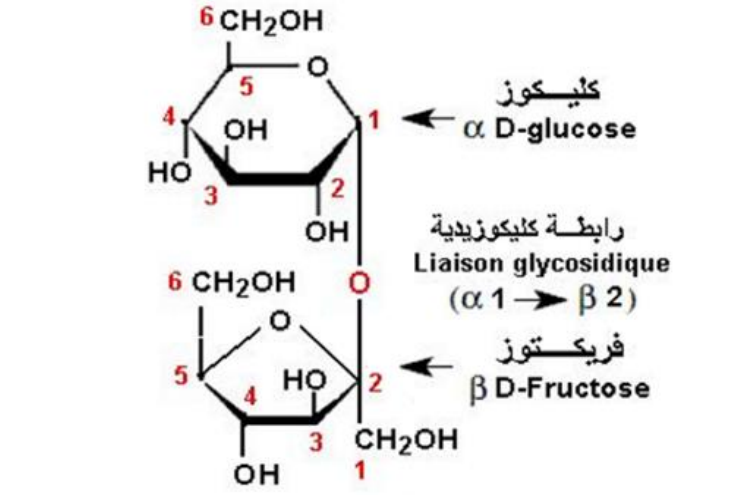
تحتوي وحدة سكرية واحدة ولا يمكن تحليلها لسكريات أبسط وتصنف إما بحسب عدد ذرات الكربون (سكريات ثلاثية، رباعية، خماسية، سداسية...إلخ) وإما بحسب نوع الزمرة الكربونيلية: (الألدوازت تحوي زمرة ألدهيدية، الكيتوازت تحوي زمرة كيتونية).



2- السكريات قليلة التعدد Oligosaccharides: (3-10جزيئات سكاكر أحادية) مثال عنها:

السكريات الثنائية disaccharides:

هي مكونة من وحدتين اثنتين من السكريات الأحادية مرتبطتين برابطة غليكوزيدية كالسكروز (غلكوز وفركتوز) اللاكتوز (غلكوز وغالاكتوز) المالتوز (جزيئتي غلكوز)



D-glucopyranosido (α 1 → β 2) D-fructofuranoside
(= Glc (α 1 → β 2) Fru)

سكـــر القصب (سكروز، Saccharose)

3- السكريات المتعددة Polysaccharides :

أكثر من 10 جزيئات سكاكر أحادية قد تكون متجانسة وقد تكون غير متجانسة وتصنف السكريات حسب القدرة الإرجاعية للسكر إلى سكريات مرجعة وسكريات غير مرجعة.

3- التجارب العملية The practical experiences:

1- التجربة رقم (1): اختبار موليش Molisch Test:

المبدأ the principle:

تفاعل عام لكافة السكريات، يعطي نتيجة إيجابية مع جميع السكريات الأحادية والثنائية والمتعددة وحتى مع السكريات المرتبطة بالمركبات الأخرى ذات الفعالية الحيوية مثل البروتينات السكرية أو الليبيدات السكرية.

يعتمد التفاعل على نزع الماء من السكر وتشكيل المشتق الفورفورالي (الفورفورال من السكر الخماسي وهيدروكسي ميتيل الفورفورال من السكر السداسي) الذي يتحد مع كاشف موليش (محلول كحولي 10 % من ألفا النفتول) معطياً معقدات بنفسجية اللون على شكل حلقة على السطح الفاصل. إن النتيجة السلبية هي دليل على غياب السكريات من الوسط.

المواد المستعملة The materials used:

- حمض الكبريت المركز.
- كاشف موليش: يحضر بإذابة 10 غ ألفا نفتول في 100 مل من الكحول الايتيلي.
- محاليل سكرية مختلفة (غلوكوز% 2، فركتوز% 2)

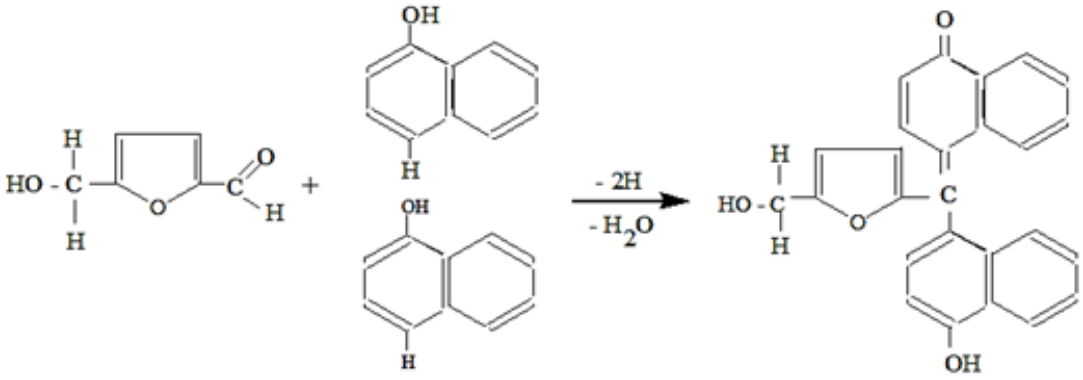
طريقة العمل Method of working:

1- ضع 2 مل من كل محلول من المحاليل السكرية ومحلول البروتين في أنبوب اختبار خاص واكتب اسم المادة المأخوذة على كل أنبوب.

2- أضف قطرتين من كاشف موليش إلى كل أنبوب اختبار ورج الأنابيب جيداً.

3- أضف ببطء وبحذر 1مل من حمض الكبريت المركز على جدران الأنبوب الداخلية.

4- دون النتائج والمشاهدات في جدول خاص.

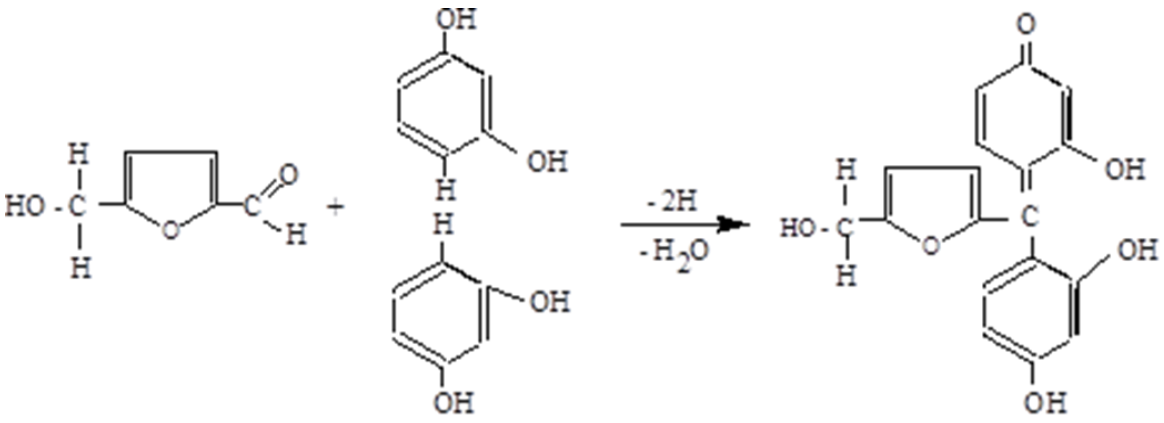


مشتق فوكسون (صباغ أحمر بنفسجي) α- نفتول 5- هيدروكسي ميتيل فورفورال

2- التجربة رقم 2: اختبار سلفانوف Seliwanoff:

المبدأ the principle:

يستخدم هذا الاختبار لتمييز الكيتوهيكسوزات (السكريات الأحادية الكيتونية الحاوية على 6 ذارت كربون) مثل الفركتوز عن الألدو هيكسوزات (مثل الغلوكوز). حيث تتحول الكيتو هيكسوزات في الأوساط الحمضية القوية مثل حمض كلور الماء المركز إلى مشتقات فورفورالية تتفاعل مع الريزورسينول وتعطي معقداً بلون أحمر كرزي بشكل سريع مقارنة بالألدوزات.



معقد أحمر اللون ريزورسين 5- هيدروكسي ميثيل فورفورال

المواد المستعملة The materials used:

- كاشف سلفانوف: يحضر بحل 1غ ريزورسينول في 330 مل من حمض كلور الماء المركز ثم يكمل الحجم حتى اللتر بالماء المقطر.
- محاليل سكرية (غلوكوز، فركتوز)

طريقة العمل Method of working:

1- أضف 1مل من كل محلول سكري إلى أنبوب اختبار زجاجي خاص.

2- أضف 3مل من كاشف سلفانوف إلى كل أنبوب.

3- سخن في حمام مائي لمدة دقيقة ثم اترك الأنابيب لتبرد.

4- لاحظ الألوان المتشكلة في الأنابيب وسجل الملاحظات والنتائج.

3- التجربة رقم 3: اختبار بيال (Bial's Test):

المبدأ the principle:

يستخدم هذا الاختبار لتمييز السكريات الخماسية (البنتوزات) مثل سكر الريبوز. يتم نزع الماء من السكر الخماسي بتفاعله مع حمض كلور الماء المركز فيتشكل مركب فورفوالي، يتكاثف الفورفورال مع الأورسينول بوجود ثلاثي كلور الحديد مشكلا معقداً لونياً بلون أخضر.

المواد المستعملة The materials used:

- كاشف بيال: يحضر بحل 0.4 غ أورسينول في 200 مل من حمض كلور الماء المركز، ثم يضاف 0.5 مل من محلول ثلاثي كلور الحديد 10 %.
- محاليل سكرية (ريبوز، غلوكوز)

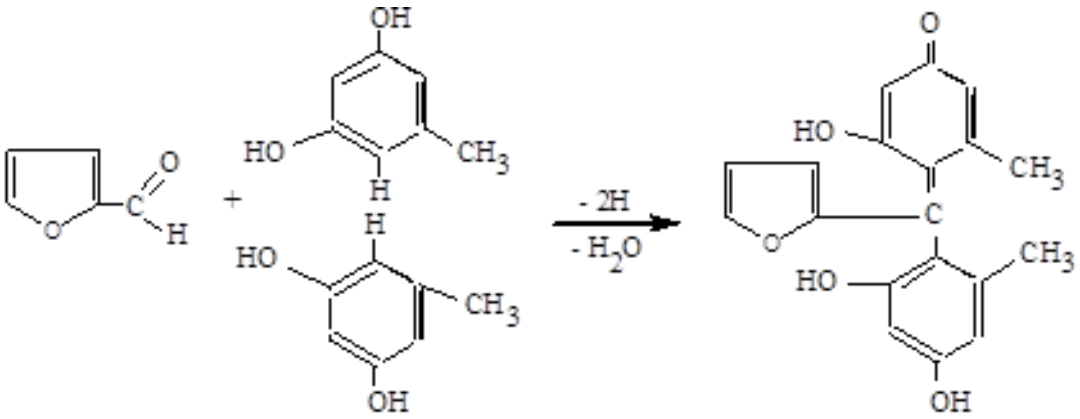
طريقة العمل Method of working:

1- أضف 1مل من كل محلول سكري إلى أنبوب اختبار زجاجي خاص.

2- أضف 3 مل من كاشف بيال إلى كل أنبوب.

3- سخن في حمام مائي مغلي لعدة دقائق ثم اترك الأنابيب لتبرد ولاحظ الألوان المتشكلة.

4- سجل الملاحظات والنتائج.



فورفورال **أورسين** **معقد ذو لون زهري**

الجلسة الثالثة

السكريات (2)

تفاعلات السكريات المرجعة والسكاكر المتعددة

Reactions of reducing sugars and polysaccharides

1- أهداف الجلسة Objectives of the session:

1- التعرف على تفاعلات التمييز بين السكريات المرجعة وغير المرجعة.

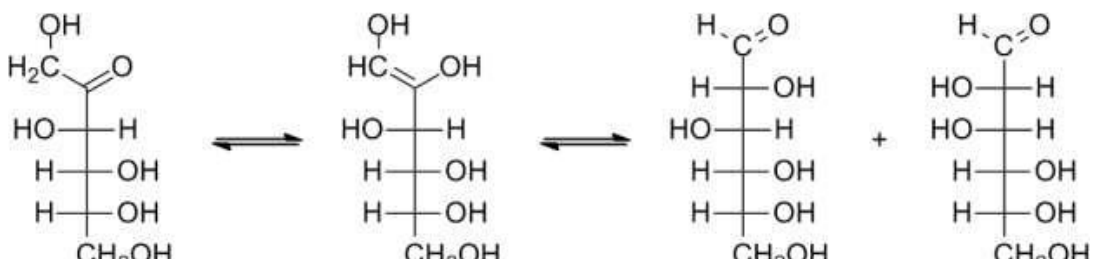
2- التعرف على الاختبارات لمميزة للسكريات المتعدد ة

2- مقدمة introduction:

تتميز السكريات التي تحوي مجموعة هيدروكسيل غليكوزيدية حرة بقدرتها على إرجاع العوامل المؤكسدة، من خلال إعطائها في محاليلها مركباً أو أكثر يحمل مجموعة ألدهيدية قابلة للأكسدة بسهولة إلى حموض كربوكسيلية، ليتحول السكر المرجع إلى الحمض الكربوكسيلي الموافق. بالتالي يمكن الاعتماد على التفاعلات الخاصة الإرجاعية للتمييز بين محاليل السكريات المختلفة، ولكشف ومعايرة السكريات في العينات الحيوية كالدم والبول.

تتمتع السكريات الأحادية الألدهيدية (مثل الغلوكوز والغالاكتوز والمانوز) جميعها بالخاصية المرجعة، أيضا السكريات الأحادية الكيتونية مثل الفركتوز تتمتع بالخاصية الإرجاعية رغم احتوائها على مجموعة كيتونية وذلك بسبب تحوله في المحاليل القلوية إلى مزيج من الغلوكوز والمانوز المرجعين.

السكريات الثنائية بعضها مرجع (اللاكتوز والمالتوز) وبعضها غير مرجع مثل السكروز، حيث تساهم المجموعتين الكربونيليتين للغلوكوز والفركتوز في تشكيل الجسر الأوكسجيبني لتشكيل جزيئة السكروز التي تفقد بالتالي خاصيتها المرجعة. كذلك فإن السكريات المتعددة كالنشاء ليست مرجعة.



1- التجربة رقم 1: اختبار بينديكت Benedict Test:

المبدأ The principle:

يستخدم هذا التفاعل لتمييز السكريات المرجعة عن غير المرجعة. يتألف الكاشف من كبريتات النحاس في وسط قلوي ضعيف من كربونات الصوديوم، وتضاف سترات الصوديوم ويكون محلولاً رائقاً أزرق اللون. حيث تقوم السكريات المرجعة بإرجاع أيونات النحاس الثنائية الموجودة في كاشف بندكت إلى أيونات النحاس الأحادية والذي يعطي عند التسخين أكسيد النحاسي الأحمر بينما تتأكسد السكاكر المرجعة للحموض الكربوكسيلية

الموافقة.

المواد المستعملة The materials used:

- كاشف بينديكت: يحضر بإذابة 173 غ من سترات الصوديوم مع 100 غ من كربونات الصوديوم في 800 مل من الماء المقطر (يسخن المحلول للإسراع في الذوبان) ثم يرشح المحلول. يضاف إلى الرشاحة محلول مكون من 17.3 غ كبريتات النحاس المذابة في 100 مل ماء مقطر ثم يكمل الحجم حتى 1000 مل بالماء المقطر.
- محاليل سكريات (غلوكوز 2%، سكروز 2 %)

طريقة العمل Method of working:

1- ضع 1مل من كاشف بينديكت في أنابيب مختلفة واكتب على كل منها اسم المادة السكرية المراد إضافتها لكل أنبوب.

2- أضف 1مل من محاليل السكريات كل على حدة إلى الأنبوب الخاص به.

3 - رج محتويات كل أنبوبة جيداً

4- سخن الأنابيب في حمام ماء مغلي لمدة 3 – 5 دقائق، اترك الأنابيب لتبرد ببطء.

5- لاحظ تكون الرواسب وألوانها في حالة السكاكر ذات الخاصة المرجعة.

6- دون نتائجك وملاحظاتك.

2- التجربة رقم 2: اختبار بارفويد Barfoed Test:

يستخدم هذا الاختبار للتمييز بين السكريات الأحادية المرجعة والثنائية المرجعة

المبدأ The principle:

يستخدم هذا التفاعل للتمييز بين السكريات الأحادية المرجعة والثنائية المرجعة من خلال إجراء التفاعل في وسط حمضي متوسط الحموضة من حمض الخل حيث يمكن فقط للسكريات الأحادية ذات القوة الإرجاعية المرتفعة أن ترجع أسيتا ت النحاس (خلات النحاس) في كاشف بارفويد إلى أوكسيد النحاسي معطية راسباً بلون أحمر يظهر في قعر الأنبوب، أما السكريات الثنائية فقدرتها الإرجاعية ضعيفة.

المواد المستعملة The materials used:

- كاشف بارفويد: يحضر بحل 4.5 غرام من خلات النحاس في 100 مل ماء مقطر ثم يضاف 1مل من حمض الخل 50 %
- محاليل سكرية (غلوكو ز 2 %، مالتوز 2 %)

طريقة العمل Method of working:

1- ضع 1مل من كل محلول سكري إلى أنبوب اختبار زجاجي خاص.

2- أضف 1مل من كاشف بارفويد إلى كل أنبوب.

3- سخن الأنابيب في حمام الماء المغلي لعدة دقائق (لا تتجاوز 5دقائق) وراقب تشكل الراسب الأحمر من عدم تشكله.

4- دون النتائج والملاحظات.

3- اختبارات السكريات المتعددة Polysaccharide tests:

السكريات المتعددة هي عبارة عن سكريات ذات وزن جزيئي كبير، يعطي الجزيء الواحد منها عدداً كبيراً من جزيئات السكريات الأحادية، تكون هذه السكريات مرتبطة مع بعضها بروابط غليكوزيدية ناتجة عن نزع جزيئة ماء من زمرتي الهيدروكسيل لسكريدين متجاورين بحيث يتكون جسر أوكسجيني يربط السكريدات الأحادية على شكل سلسلة.

خواص السكريدات المتعددة properties of polysaccharides:

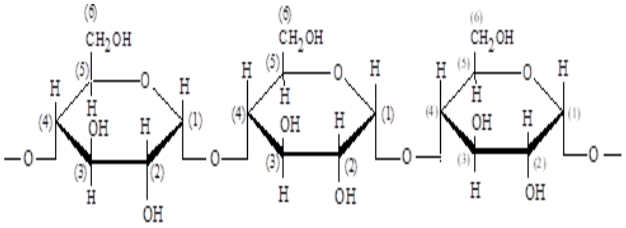
1- لا تنحل في الماء بل تشكل محاليلاً غروية معه.

2- ليس لها طعم حلو.

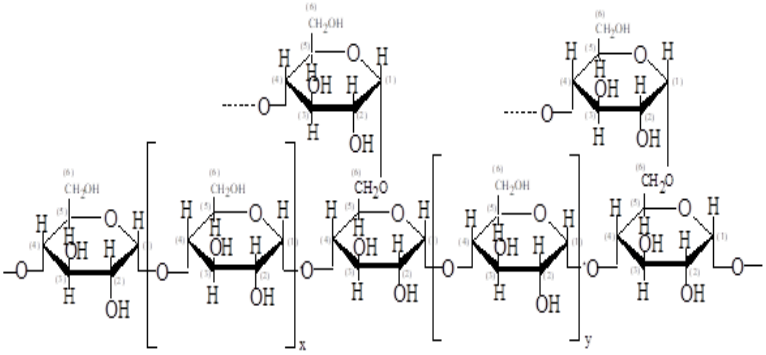
3- لا تتمتع بخواص إرجاعية.

أهم السكريدات المتعددة The most important polysaccharides:

النشاء Starch هو من السكريدات الإدخارية التي تشكل الغذاء الرئيسي للإنسان حيث يتحلمه بإنزيم الأميلاز محرراً وحدات الغلوكوز المكونة له. يتكون النشاء من الأميلوز Amylose والأميلوبكتين Amylopektin . يشكل الأميلوز % (20-30) من النشاء وترتبط جزيئات الغلوكوز فيه بروابط غليكوزيدية (1 - 4) مكونة سلسلة غير متفرعة تأخذ شكلاً حلزونياً. أما الأميلوبكتين فيشكل الجزء الأكبر من النشاء % (70 – 80)



الأميلوز



الأميلو بكتين

التجارب العملية Practical experiments :

1- التجربة رقم 1: اختبار اليود Iodine Test

المبدأ The principle:

يستخدم هذا التفاعل لتمييز السكريات المتعددة عن السكريات البسيطة حيث يعطي نتيجة إيجابية مع السكريات المتعددة فقط. يعتمد هذا الاختبار على خاصية ادمصاص جزيئات اليود على سلاسل السكريات المتعددة لتشكل معقداً ملوناً يختلف حسب نوع السكاريد المتعدد (أزرق مع النشاء، بني مزرق مع الغليكوجين). في النشاء تتوضع جزيئات اليود بشكل أساسي داخل السلسلة الحلزونية للأميلوز معطية لوناً أز رقاً كثيفاً، أما في تفرعات الأميلوبكتين فتكون إلى كمية اليود المتوضعة أقل وتعطي لونا أحمراً مائلاً إلى البنفسجي

المواد المستعملة The materials used:

- محلول لوغول اليودي: يحضر بإذابة 1غ من اليود الحر مع 5غ من يوديد البوتاسيوم في 100 مل من الماء المقطر.
- محاليل سكريات أحادية (غلوكوز% 2) وقليلة التعدد (سكروز% 2) ومتعددة (نشاء % 2)

طريقة العمل Method of working:

1- ضع في ثلاثة أنابيب اختبار نظيفة 3مل من المحاليل السكريدّية (الغلوكوز، السكروز، النشاء).

2- أضف لكل أنبوب قطرتين من محلول لوغول اليودي ثم قارن بين الألوان المتشكلة في الأنابيب.

3- سخن حتى الغليان ماذا تلاحظ ؟ برد من جديد ماذا تلاحظ ؟ فسر ذلك.

التجربة الكشف عن محلول سكري مجهول:

The experiment detected an unknown glucose solution

لديك محلول مجهول هو أحد المحاليل التالية: غلوكوز، فركتوز، ريبوز، سكروز، مالتوز، نشاء، ألبومين.

1- اكتب مخططاً توضح فيه آلية التمييز بين هذه المحاليل.

2- طبق مجموعة التفاعلات النوعية للكشف عن هوية هذا المحلول.

الجلسة الرابعة

الشحوم (1)

الكشف عن الحموض الدسمة وثلاثيات الغليسيريد

Detection of fatty acids and triglycerides

1. أهداف التجربة Objectives of the session:

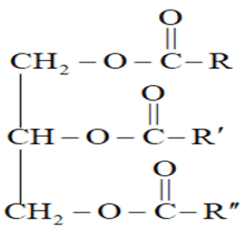
1- دراسة خاصية انحلالية الشحوم في الماء والمذيبات العضوية المختلفة .

2- التعرف على التفاعلات النوعية للكشف عن الغليسيرول وثلاثيات الغليسيريد.

3- التعرف على التفاعلات النوعية لتمييز الحموض الدسمة سواء المشبعة أو غير المشبعة .

2- مقدمة introduction:

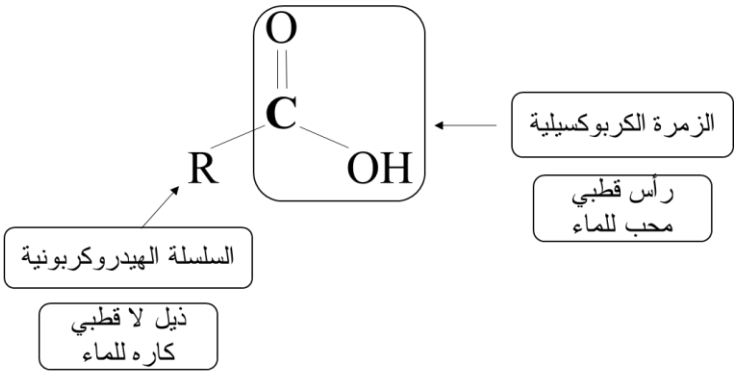
تعرف الشحو م (الليبيدات Lipids) بأنها مركبات عضوية تكون غالباً بشكل أسترات لأغوال معقدة مع الحموض الدسمة. تتميز بأنها مركبات غير قطبية، انحلاليتها ضعيفة أو معدومة في الماء، بينما تنحل في المحلات العضوية. تأتي في المركز الثاني كمركز للطاقة في الجسم بعد السكريات، وتؤدي وظائف أخرى هامة حيث تساهم في بنية الأغشية الخلوية (الفوسفولبيدات والكوليسترول) وتؤدي دور تمائم إنزيمية (الفيتامينات المنحلة في الدسم) وتساهم في ضبط الاستتباب الداخلي في الجسم (الهرمونات الستيروئيدية).



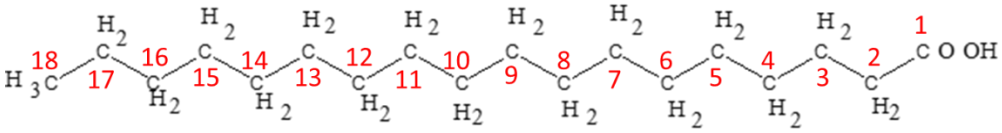
غليسريد ثلاثي

3- الحموض الدسمة Fatty acids:

تتكون الحموض الدسمة من سلسلة هيدروكربونية طويلة وزمرة كربوكسيلية طرفية، وتكون مشبعة (جميع الروابط فيها أحادية) مثل حمض الشمع أو غير مشبعة (تحوي رابطة مضاعفة أو أكثر) مثل حمض الزيت. تكون الحموض الدسمة المشبعة صلبة في درجة حرارة الغرفة الأمر الذي يجعل الدهون الحيوانية صلبة على اعتبار أنها مكونة بشكل رئيسي من حموض دسمة مشبعة (لا تحوي روابط ثنائية) حمض الشمع، أما الحموض الدسمة اللا مشبعة فتكو ن سائلة كما في الزيوت النباتية (تكون حاوية على رابطة ثنائية واحدة أو أكثر) حمض الزيت.



مثال حمض الستياريك



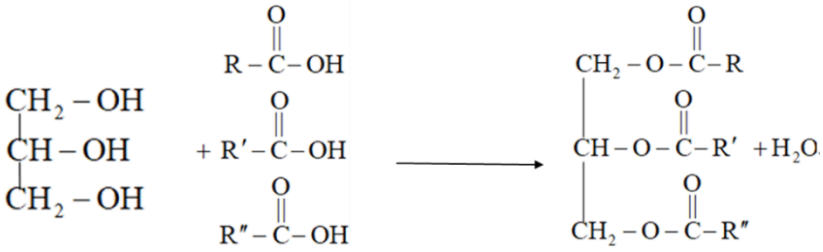
حمض الستياريك

أهم الشحوم The most important fat:

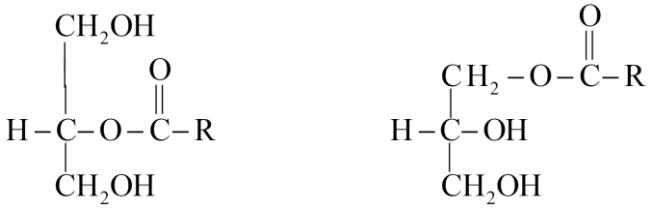
1- الدهون البسيطة Simple fat

الغليسيريدات glycerides:

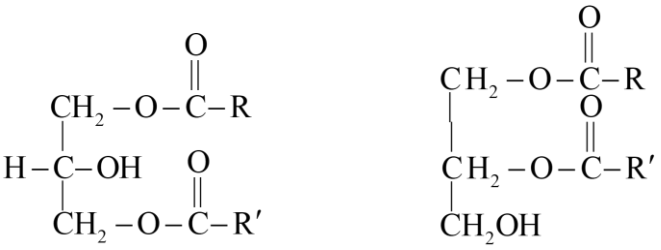
تنتج عن أسترة الغليسرول مع الحموض الدسمة وهي إما متجانسة (تحتوي على نوع واحد من الحموض الدسمة) أو غير متجانسة (تحتوي على أكثر من نوع من الحموض الدسمة). حسب عدد الحموض الدسمة المؤسترة مع الغليسيرول تصنف إلى أحاديات أو ثنائيات أو ثلاثيات الغليسيريد (الشحوم الثلاثية)



غليسرول 3 أحماض دسمة غليسريد ثلاثي



غليسيريد أحادي أو أحادي أسيل غليسرول

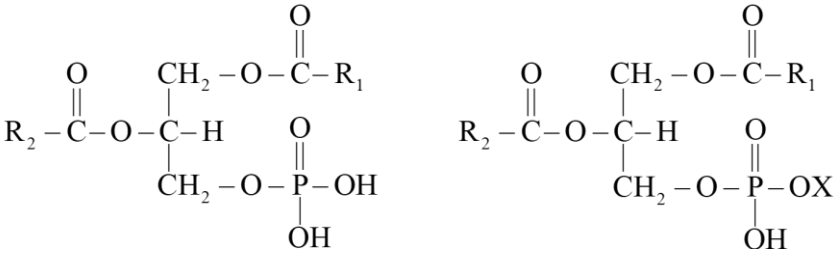


غليسيريد ثنائي أو ثنائي أسيل غليسرول

2- الدهون المركبة (المعقدة) Complex fats:

1- الشحميات الفوسفورية Phospholipids:

مكونات هامة ومميزة للأغشية الخلوية يتم فيها أستر ة إحدى الوظائف الكحولية الأولية للغليسرول مع حمض الفوسفور.



الصيغة العامة للفوسفوليبيدات

X تأتي من مركب كحولي

حمض L - فوسفاتيديك أو

Sn -3 - حمض فوسفاتيديك

2- السفينغوليبيدات sphingolipids :

ليبيدات معقدة أساسها السفينغوزين، وهي مكونات هامة للأغشية الخلوية وتوجد بكميات كبيرة في الدماغ والنسيج العصبي ومكونة من ثلاث جزيئات هي السفينغوزين أو أحد مشتقاته، وحمض دسم طويل السلسلة مشبع أو غير مشبع، وجزيئة قطبية كبيرة الحجم.

3- الشحوم المشتقة (الستيرولات والستيروئيدات)Derived lipids (sterols and steroids) :

من أهمها الكوليسترول، يتواجد في المصل حراً أو مؤستراً مع حموض دسمة. يتمثل دوره في بناء الأغشية الخلوية مع الشحميات الفوسفورية، وكطليعة لاصطناع الهرمونات الستيروئيدية والحموض الصفراوية والفيتامين D (40 %) من كولسيترول الجسم خارجي المنشأ، و 60 %منه داخلي المنشأ يتم اصطناعه من Acetyl-CoA خاصة في الكبد وقشر الكظر.

1- التجربة رقم (1) دراسة الخاصية الذوبانية للشحوم:

1- Experiment No. (1) Studying the solubility of fats:

المبدأ The principle:

يمكن الكشف عن الشحوم من خلال خواصها الانحلالية، كذلك يمكن الاستفادة من تفاوت انحلاليتها في المحلات المختلفة من أجل فصلها من مزائجها. تنحل في المحلات العضوّية اللاقطبية مثل الكلوروفورم والأيتر، وأغلبها ينحل في الإيتانول والأسيتون. وتشكل جميعها في الماء مستحلباً ذا لون حليبي.

المواد المستعملة The materials used:

- أسيتو ن
- ايتر ايتيلي
- ايتانول 95 %
- ماء مقط ر

- زيت نباتي
- حمض دسم (حمض الزيت).

طريقة العمل Method of working:

1- خذ أربعة أنابيب اختبار نظيفة وجافة وضع في الأول 2 مل ماء مقطر وفي الثاني 2 مل من الإيتر أو الكلوروفورم وفي الثالث 2 مل كحول إيتيلي وفي الرابع 2 مل من الأسيتون.

2- أضف إلى كل أنبوب 4 نقاط من الزيت النباتي أو من حمض الزيت.

3- خض الأنابيب بشكل جّيد ولاحظ مدى الانحلال في الأنابيب الأربعة.

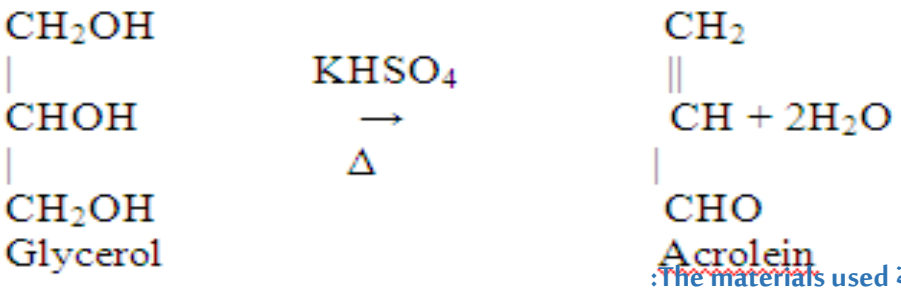
4 - سجل ملاحظاتك ونتائجك.

2- التجربة رقم 2: الكشف عن الغليسيرول من خلال تفاعل تشكل الأكرولئين

2- Experiment No. 2: Detection of glycerol through the acrolein formation reaction

المبدأ The principle:

يستخدم هذا الاختبار للكشف عن الغليسرول الحر أو المرتبط مع الحموض الدسمة بروابط إستيرية بشكل غليسيريدات من خلال تفاعل تشكل الأكرولئين، يتم نزع جزيئ ماء من كل جزئ غليسرول من خلال التسخين بوجود بيكبريتات البوتاسيوم KHSO4 الصلبة، فيتحول الغليسرول إلى أكرولئين والذي يمكن تمييزه من رائحته الواخذة المهيجة للأغشية المخاطية.



المواد المستعملة The materials used:

- مسحوق ثاني كبريتات البوتاسيوم.
- زيت نباتي (زيت الزيتون)

طريقة العمل Method of working:

1- ضع حوالي 0.25 غ من مسحوق ثاني كبريتات البوتاسيوم في أنبوب اختبار.

2- أضف 5 قطرات من زيت الزيتو ن.

3- سخن بحذر على نار هادئة حتى يسوّد المزيج.

4- الرائحة النّفاذة الحادة هي رائحة الأكرولئين.

3- التجربة رقم 3: التفاعل مع خلات النحاس لتمييز الحموض الدسمة الحرة

المبدأ The principle:

يستخدم هذا الاختبار لتمييز الحموض الدسمة الحرة سواء كانت مشبعة أو غير مشبعة. لا تتفاعل الزيوت أو الدهون مع محلول خلات النحاس أما الأحماض الدسمة فتتفاعل مع خلات النحاس وتعطي ملح النحاس المقابل. مثلاً يتفاعل حمض الزيت مع خلات النحاس معطياً زيتات النحاس. الملح النحاسي المتكون يمكن استخلاصه بواسطة الإيثر البترولي. حيث أن الأملاح النحاسية الخاصة بالحموض الدهنية المشبعة لا تذوب في الماء والايتر البترولي بينما أملاح الحموض الدهنية غير المشبعة النحاسية فإنها تذوب بالايتر البترولي ملونة إياه بلون أزرق أو أخضر.

المواد المستعملة The materials used:

- زيت نباتي.
- حمض دسم (حمض الزيت).
- محلول خلات النحاس (كاشف بارفويد).
- إيتر البترول.

طريقة العمل Method of working:

1- ضع 2 مل من محلول خلات النحاس في أنبوبي اختبار.

2- أضف 5 قطرات من الزيت النباتي إلى أحد الأنابيب ومن حمض الزيت إلى الأنبوب الآخر وامزج جيداً.

3- أضف 2 مل من الايتر البترولي إلى كل أنبوب.

4- لاحظ تلون الطبقة الايترية العلوية في الأنبوب الحاوي الحمض الدسم بلون أزرق نتيجة احتوائها على ملح زيتات النحاس، أما في الأنبوب الحاوي الزيت النباتي فتبقى الطبقة الإيترية شفافة.

الجلسة الخامسة

الشحوم (2) الكشف عن الكوليسترول

Lipids (2) detection of cholesterol

1. أهداف الجلسة Objectives of the session:

1- التعرف على التفاعلات النوعية للكشف عن الكوليسترول في محاليله.

2- التعرف على تفاعل التصبن والذي يمكن أن يستخدم للكشف عن الحموض الدسمة وللتمييز بين الليبيدات القابلة للتصبن وتلك غير القابلة للتصبن.

أولاً: تفاعلات الكشف عن الكوليسترول Cholesterol detection interactions:

الكوليسترول هو عبارة عن مركب ستيروئيدي له مصدران: خارجي عن طريق الغذاء الحيواني (الكبد، المخ، صفار البيض، السمك ...) وداخلي عن طريق الاصطناع الحيوي له في خلايا الكبد بشكل رئيسي بدءاً من Acetyl Co A. ينقل الكولسترول في البلازما عن طريق البروتينات الشحمية Lipoproteins حيث يكون مرتبطاً مع البروتينات والفوسفوليبيدات وثلاثيات الغليسريد لتشكيل بنية البروتين الشحمي.

يوجد الكولسترول بشكلين: حر غير مؤستر يتركز على سطح الليبوبروتين وبشكل مؤستر مع الحموض الدسمة (حمض الزيت وحمض الشمع) يتركز داخل اللب الكاره للماء في الليبوبروتين، ويمثل الكولسترول المؤستر ثلثي الكولسترول الكلي في البلازما. يؤدي الكولسترول دوراء حيوياً هاماً في بناء وإصلاح الأغشية الخلوية وهو طليعة لاصطناع الحموض الصفراوية وفيتامين D والهرمونات ذات البنية الستيروئيدية.

1- التجربة رقم 1: تفاعل ليبرمان للكشف عن الكوليستيرول:

Experiment 1: Lieberman's reaction for cholesterol detection

المبدأ The principle:

يعد تفاعل ليبرمان التفاعل النوعي للكشف عن الكوليسترول وله أهمية كبيرة في معايرة الكوليسترول في الدم. يتفاعل الكوليسترول مع بلا ماء حمض الخل في وسط يحوي حمض الكبريت المركز فيتشكل مركب كبريتات الكوليسترولين ذي اللون الأخضر المزرق

المواد المستعملة The materials used:

- بلا ماء حمض الخل
- حمض الكبريت المركز
- محلول الكوليسترول 1 % (يحل 1غ من الكوليستيرول في 100 مل من حمض الخل الثلجي).

طريقة العمل Method of working:

1- ضع 2 مل من محلول الكوليسترول في أنبوب اختبار زجاجي جاف.

2- أضف 1 مل من بلا ماء حمض الخل وامزج جيداً.

3- أضف 2 مل حمض كبريت مركز على جدران الأنبوب وبهدوء.

4- لاحظ تشكل لون زهري في البداية ثم لا يلبث أن يتحول تدريجياً إلى لون أخضر مزرق.

2- التجربة رقم 2: تفاعل سالكوفسكي للكشف عن الكوليستيرول:

Experiment #2: Salkowski reaction for cholesterol detection

المبدأ The principle:

يستخدم هذا التفاعل للكشف عن الكوليستيرول في محلوله في الكلوروفورم وذلك باستخدام حمض الكبريت المركز. حيث تتلون طبقة الكلوروفورم العلوية باللون الأحمر القاتم، أما طبقة حمض الكبريت تتلون بلون أصفر وتألق أخضر.

المواد المستعملة The materials used:

• محلول الكوليسترول في الكلوروفورم 1 %

• حمض الكبريت المركز

طريقة العمل Method of working:

1- ضع في أنبوب اختبار جاف ونظيف حوالي 2 مل من محلول الكولسترول في الكلوروفورم.

2- أضف بحذر على جدار الأنبوب الداخلي 0.5 مل من حمض الكبريت المركز

3- خض الأنبوب بلطف.

4- لاحظ ظهور اللون الأحمر البنفسجي.

5- سجل النتائج والملاحظات.

ثانياً: تفاعل التصبن Saponification reaction :

يعرف تفاعل التصبن saponification بأنه تفاعل حلمهة الأسترات في وسط قلوي يؤدي لتشكيل الكحول وأملاح الحموض الدسمة التي تعرف بالصابون .يكون الصابون الصوديومي مادة صلبة بينما الصابون البوتاسيومي فهو أقل صلابة وكلاهما قابل للذوبان في الماء. أما الصابون الكالسيومي فهو صلب وغير قابل للذوبان في الماء. ونستطيع استعادة الحمض الدسم بشكله الحر عن طريق التفاعل مع حمض قوي مثل HCl.

تصنف الشحوم من حيث قابلية التصبن إلى:

1- الشحوم المعقدة (القابلة للتصبن) Complex fats (saponifiable):

- ثلاثيات الغليسريد
- الفوسفوليبيدا ت
- السفينغوليبيدا ت
- الشموع

2- الشحوم البسيطة (غير القابلة للتصبن) Simple fats (non-saponifiable) :

- التربينا ت
- الستيرولات و الستيروئيدا ت
- البروستاغلاندينا ت

3- التجربة 3: تفاعل تصبن الغليسيريدات:

Experiment 3: The saponification reaction of glycerides

المبدأ The principle:

تخضع الغليسيريدات في الأوساط القلوية لتفاعلات حلمهة يتشكل بنتيجتها أملاح للحموض الدسمة التي تعرف بالصابون. يكون ذلك من خلال تسخين المادة الدسمة الحاوية الغليسيريدات بوجود قلوي(هيدروكسيد الصوديوم أو البوتاسيوم).

المواد المستعملة The materials used :

- محلول هيدروكسيد البوتاسيوم KOH أو هيدروكسيد الصوديوم NaoH
- زيت نباتي (زيت الزيتون)

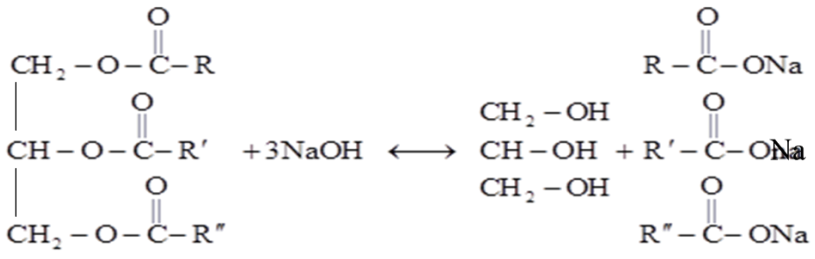
طريقة العمل Method of working:

1- خذ في أنبوبي اختبار كبيرين نسبياً 1مل زيت وأضف 10 مل من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم إلى الأنبوب الأول و 10 مل من هيدروكسيد الصوديوم للأنبوب الثاني.

2- امزج المحتويات وسخن المزيج في حمام مائي مع التحريك المستمر، استمر بالتسخين لمدة (15 - 20) دقيقة.

3- لاحظ تشكل طبقة من الصابون على سطح المزيج.

4- اترك المزيج يبرد وافصل الصابون بالإبانة واحفظه للتفاعلات التالية.



الجلسة السادسة

الأحماض الأمينية والببتيدات والبروتينات (1)

Amino Acids, Peptides & Proteins (1)

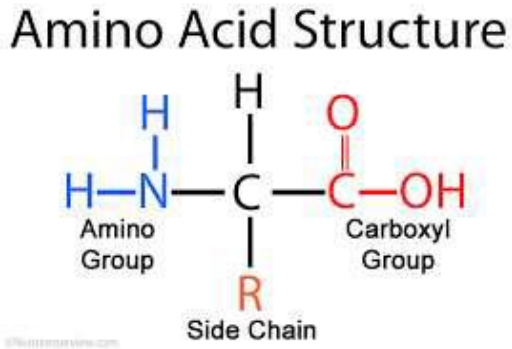
1- أهداف الجلسة Objectives of the session:

1- التعرف على تفاعلات الكشف عن الأحماض الأمينية في محاليلها وتمييزها عن المحاليل البيولوجية الأخرى.

2- التعرف على تفاعلات الكشف عن البروتينات في محاليلها وتمييزها عن المحاليل البيولوجية الأخرى.

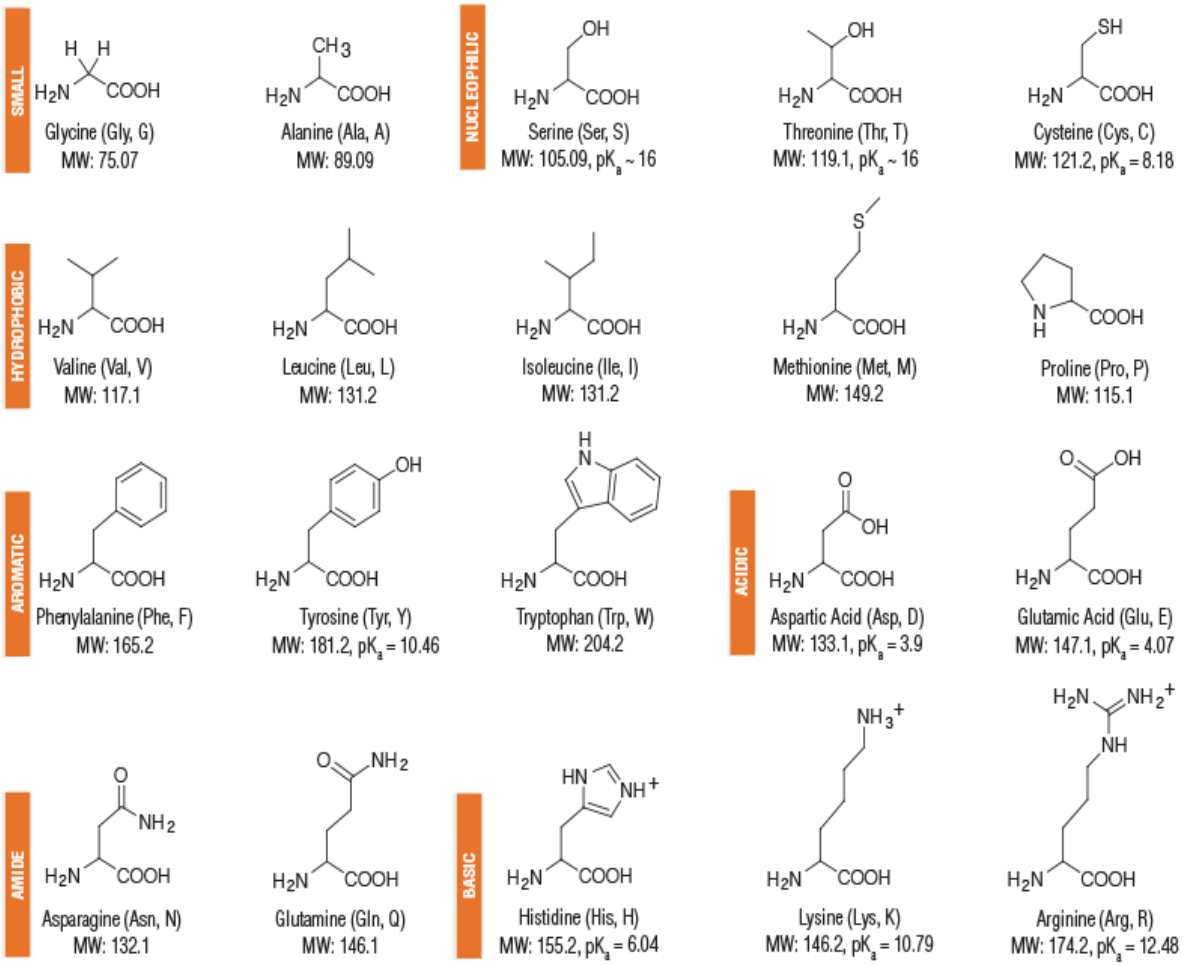
2- مقدمة introduction:

الأحماض الأمينية هي الوحدات الأساسية في بناء عديدات الببتيد والبروتينات، وتنتج عن الحلمهة الكيميائية أو الإنزيمية للبروتينات. تشترك جميع الحموض الأمينية المكونة للبروتينات الحيوية بأنها تحتوي على زمرة كربوكسيلية حمضية وزمرة أمين أولي قاعدية (عدا البرولين والهيدروكسي برولين فيحتويان على أمين ثانوي).



تم التعرف حتى الآن على حوالي 200 حمض أميني موجودة في تركيب المادة الحية إما بشكل حر أو مرتبط. 20 حمضاً أمينياً منها فقط هي التي تدخل في تركيب البروتينات. يمكن اصطناع بعض الحموض الأمينية في الجسم، أما بعضها الآخر فلا يمكن اصطناعه ويجب الحصول عليه حصراً عن طريق الغذاء وتدعى تلك الأحماض الأمينية بالأحماض الأمينية الأساسية (التربتوفان، الليزين، الميتيونين، الفينيل ألانين، التريونين، الفالين، اللوسين، الإيزولوسين). وتصنف الأحماض الأمينية وفق بنيتها الكيميائية إلى خطية وحلقية، كما تصنف بناء على امتلاكها لمجموعات وظيفية معينة (هيدروكسيلية مثل السيرين والتريونين، كبريتية مثل الميتيونين والسيستئين)، أو بناء على خصائص كيميائية معينة

(الأحماض الأمينية الحمضية مثل حمض الأسبارتيك والغلوتاميك، الأحماض الأمينية القلوية مثل الليزين والأرجينين والهيستدين). يرمز للأحماض الأمينية بالأحرف الثلاثة الأولى من اسمها



3- البروتينات proteins:

هي جزيئات مكونة من تسلسل من الأحماض الأمينية المرتبطة مع بعضها بروابط ببتيدية. تتشكل الرابطة الببتيدية من تفاعل الزمرة الحمضية من حمض أميني مع الزمرة الأمينية من الحمض الأميني الذي يليه بعد حذف جزيئة ماء. تصنف البروتينات وفق تركيبها الكيميائي إلى بروتينات بسيطة متجانسة (تعطي عند حلمهتها أحماضاً أمينية فقط، مثل الألبومين والغلوبولين) وبروتينات معقدة أو غير متجانسة (تعطي عند حلمهتها جزيئات أخرى غير الأحماض الأمينية، مثل البروتينات السكرية والبروتينات الشحمية والبروتينات النووية والبروتينات المعدنية).

1- التجربة رقم 1: تفاعل النينهيدرين Ninhydrin reaction

المبدأ The principle:

هو تفاعل عام يستخدم للكشف عن الحموض الأمينية الحاوية على زمرة أمينية حرة في الموقع α. يتم التفاعل على مرحلتين: في الأولى يحصل تفاعل أكسدة -إرجاع بين النينهيدرين والحمض الأميني فيتحرر غازي النشادر وثاني أوكسيد الكربون ويتشكل الشكل المرجع للنينهيدرين والذي يدعى بالهيدريندانتين Hydrindantine أما في الثانية فيتم تكاثف جزيئة من الهيدريندانتين وجزيئة من النينهيدرين الحر بوجود النشادر لإعطاء معقد ذو لون أزرق بنفسجي.

ملاحظة: لا يتفاعل الحمضان الأمينيان برولين وهيدروكسي برولين مع النينهيدرين ويعطيان لوناً أصفراً مع هذا الاختبار.

المواد المستعملة The materials used:

- محلول النينهيدرين 0.1 %
- محلول ألبومين
- محاليل أحماض أمينية (غليسين0.5 % ، برولين 0.5 %)

طريقة العمل Method of working:

1- أضف 1مل من محلول النينهيدرين 0.1 % إلى كل من المحاليل التالية:

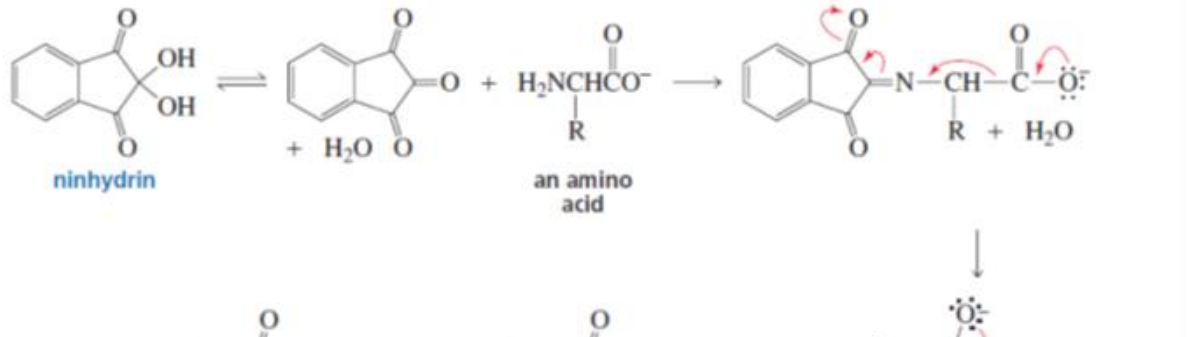
a- 2 مل من محلول الألبومين.

b- 2 مل من محلول الغليسين.

c- 2 مل من محلول البرولين.

2- سخن الأنابيب في حمام الماء المغلي 100 م لمدة دقيقة واحدة.

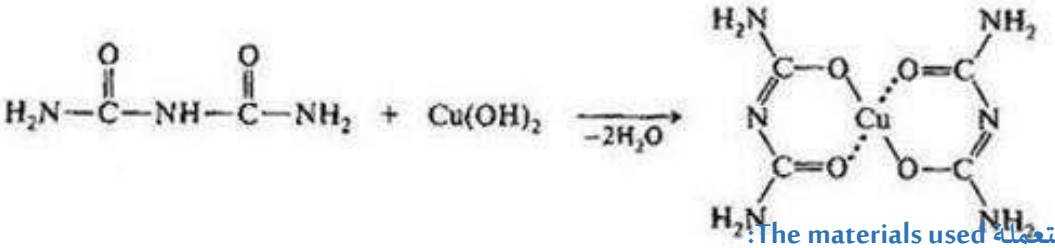
3- لاحظ الألوان المتشكلة دون نتائجك وملاحظاتك.



2- التجربة رقم 2: تفاعل البيوريت (البولة المضاعفة) Biuret reaction

المبدأ The principle:

هو التفاعل العام لكشف عديدات الببتيد والبروتينات وتمييزها عن الأحماض الأمينية. يعتمد تفاعل البيوريت على مبدأ معاملة البروتين بمحلول كبريتات النحاس في وسط قلوي فينتج مركب بنفسجي اللون. يشترط وجود رابطتين ببتيديتين على الأقل لكي يعطي هذا الاختبار نتيجة إيجابية، لذلك فإن أبسط مركب يعطي نتيجة إيجابية هو البيوريت من ذلك سمي التفاعل بهذا الاسم.



المواد المستعملة The materials used:

- كاشف البيوريت: يحضر بإذابة 1.5 غ من كبريتات النحاس المائية مع 6غ من طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم في 500 مل ماءً مقطراً، ثم يضاف 300 مل من ماءات الصوديوم % 10، ويكمل الحجم بالماء المقطر حتى اللتر. يمكن إضافة يوديد البوتاسيوم 1غ للحفظ.
- محلول الألبومين.
- محلول حمض أميني (غليسين).

طريقة العمل Method of working:

1- أضف 3 مل من كاشف البيوريت إلى 2 مل من كل من المحاليل الآتية:

a- محلول الألبومين.

b- محلول الغليسين.

2-احضن الأنابيب الزجاجية لمدة عشر دقائق بالدرجة 37 م.

3- لاحظ تشكل اللون البنفسجي من عدم تشكله في الأنابيب.

4- دون النتائج والملاحظات.

الجلسة السابعة

الأحماض الأمينية والببتيدات والبروتينات (2)

Amino Acids – Peptides – Proteins (2)

1- أهداف الجلسة Objectives of the session:

1- التعرف على التفاعلات العامة للكشف عن الأحماض الأمينية العطرية (تربتوفان، تيروزين).

2- التعرف على التفاعلات النوعية للكشف عن بعض الأحماض الأمينية (تربتوفان، تيروزين).

1- التجربة رقم 1: تفاعل الكزانتوبروتئين للكشف عن الأحماض الأمينية العطرية:

Experiment 1: Xantoprotein reaction for the detection of aromatic amino acids

المبدأ The principle:

يستخدم هذا التفاعل لتمييز الأحماض الأمينية العطرية مثل التيروزين والتربتوفان. يتم التفاعل على مرحلتين:

أولاً: نترجة الحلقة العطرية للحمض الأميني بواسطة حمض الآزوت المركز الذي يؤدي لتشكل ثنائي نترو الحمض الأميني ذو اللون الأصفر. في المرحلة الثانية يتفاعل المركب الناتج مع ماءات الأمونيوم منتجاً مشتقاً برتقالي اللون هو عبارة عن الملح القلوي لثنائي نترو الحمض الأميني العطري.

المواد المستعملة The materials used:

- حمض الآزوت المركز
- محلول هيدروكسيد الصوديوم 40 %
- محاليل حموض أمينية (تيروزين، تربتوفان، غليسين)

طريقة العمل Method of working:

1. أضف 1مل من كل من التيروزين والتربتوفان والغليسين إلى أنبوب اختبار زجاجي خاص.

2. أضف 1مل من حمض الآزوت المركز وسخن على حمام مائي مغلي حتى ظهور راسب أصفر اللو ن

3. أضف عدة قطرات من هيدروكسيد الصوديوم 40 %

4. لاحظ تحول اللون إلى برتقالي في الأنبوبين الحاويين على التيروزين والتربتوفان.

5. دون نتائجك وملاحظاتك.

2- التجربة رقم 2: تفاعل الكشف عن التربتوفان (تفاعل هوبكنز- كول) Hopkins-Cole

Experiment 2: Tryptophan detection reaction (Hopkins-Cole reaction)

المبدأ The principl:

يعتمد مبدأ هذا التفاعل على تكاثف حلقة الإندول في الحمض الأميني تربتوفان مع زمرة الألدهيد من الأسيت ألدهيد أو الفورم ألدهيد معطية نواتج تكاثف ملونة بلون بنفسجي غامق.

المواد المستعملة The materials used:

- محلول فورم ألدهيد
- حمض الكبريت المركز
- محاليل أحماض أمينية (تربتوفان، آرجينين)
- محلول بروتيني (ألبومين)

طريقة العمل Method of working:

1- أضف 2 مل من كل حمض أميني ومن المحلول البروتيني إلى أنبوب اختبار زجاجي خاص.

2- أضف 2 مل من الفورم ألدهيد إلى كل أنبوب.

3- أضف بحذر بضع قطرات من حمض الكبريت المركز على جدران الأنبوب.

4.- اترك الأنابيب بدون خض على حامل الأنابيب ولاحظ تشكل حلقة بنفسجية غامقة اللون على السطح الفاصل في أنبوب التربتوفان (حلقة الإندول).

5- دون الملاحظات والنتائج.

3- التجربة رقم 3: تفاعل الكشف عن التيروزين (تفاعل ميلون) Millon's Test

Experiment 3: Tyrosine detection reaction (Millon reaction)

المبدأ The principle:

يعد هذا التفاعل نوعي للأحماض الأمينية الفينولية مثل التيروزين. يتفاعل التيروزين مع كاشف ميلون (كبريتات الزئبق وحمض الآزوت) مشكلاً معقداً بلون زهري محمر.

المواد المستعملة The materials used:

- كاشف ميلون: يحضر بإذابة 10 غ من الزئبق في 10 مل من حمض الآزوت المركز، ثم يمدد الناتج بـ 20 مل من الماء المقطر.
- محاليل أحماض أمينية (تيروزين، آرجينين).

طريقة العمل Method of working:

1- أضف 1 مل من كل حمض أميني إلى انبوب اختبار زجاجي خاص.

2- أضف إلى كل أنبوب 1 مل من كاشف ميلون.

3- سخن على اللهب لمدة 2 - 3 دقائق.

4- لاحظ تشكل اللون أو الراسب الزهري المحمر في الأنبوب الخاص بالتيروزين.

5- دون الملاحظات والنتائج.

الجلسة الثامنة

الأحماض الأمينية والببتيدات والبروتينات (3)

Amino Acids – Peptides - Proteins

1- أهداف الجلسة Objectives of the session:

1- التعرف على تفاعل ساكاغوشي للكشف عن الآرجينين.

2- التعرف على التفاعلات النوعية للكشف عن الأحماض الأمينية الكبريتية.

1- التجربة رقم 1: تفاعل الكشف عن الآرجنين (تفاعل ساكاغوشي) Sakaguchi reaction

Experiment 1: Arginine detection reaction (Sakaguchi reaction)

المبدأ The principle:

يعطي الأرجينين والبروتينات الحاوية عليه بفضل وجود زمرة الغوانيدين لوناً أحمراً قاتماً مع ألفا نفتول في وسط قلوي قوي من هيدروكسيد الصوديوم وبوجود مؤكسد من هيبوكلوريت أو هيبوبروميت الصوديوم.

المواد المستعملة The materials used:

- محلول ألفا نفتول 5 % في الكحول الإيتيلي
- محلول هيدروكسيد ال صوديوم
- هيبوكلوريت الصوديوم
- محاليل حموض أمينية (أرجينين ، تربتوفان)
- محلول بروتيني (ألبومين).

طريقة العمل Method of working:

1. أضف 1مل من كل من الألبومين والأرجينين والتربتوفان إلى أنبوب اختبار زجاجي خاص.

2- أضف 2- 3 قطرات من محلول هيدروكسيد الصوديوم و 2 - 3 قطرات من محلول الألفا نفتول و 2 - 3 قطرات من هيبوكلوريت الصوديوم إلى كل أنبوب.

3- لاحظ تشكل اللون الأحمر القاتم من عدمه.

4- دون نتائجك وملاحظاتك.

2- التجربة رقم 2: تفاعل الكشف عن الأحماض الأمينية الكبريتية (تفاعل فول):

Experiment 2: Detection reaction for sulfur amino acids (Fole reaction)

المبدأ The principle:

يستخدم التفاعل مع خلات الرصاص لتمييز الأحماض الأمينية الحاوية الكبريت مثل السيستئين. يتم بالحلمهة القلوية فصل الكبريت بشكل Na_2S وتتفاعل الزمرة الكبريتية مع خلات الرصاص لتعطي راسباً أسوداً هو كبريت الرصاص.

المواد المستعملة The materials used :

- هيدروكسيد الصوديوم 10 %
- خلات الرصا ص
- محاليل أحماض أمينية (تيروزين، سيستئين)

طريقة العمل Method of working:

1- خذ في أنبوبي اختبار1 مل من الحمض الأميني (التيروزين والسيستئين)

2- أضف 1 مل محلول ماءات الصوديوم 10 % ثم سخن المزيج لمدة دقيقتين.

3- أضف 1 مل من محلول خلات الرصاص وسخن لمدة 5 دقائق تقريباً.

4- لاحظ تشكل راسب ذو لون أسود إذا كان يحتوي على حمض أميني كبريتي.

الجلسة التاسعة

فصل وترسيب البروتينات

Separation and precipitation of proteins

1- أهداف الجلسة Objectives of the session:

1- التعرف على طرائق فصل وترسيب البروتينات من محاليلها.

2- عزل واستخلاص بروتين الكازئين من الحليب بطريقة الترسيب بالاعتماد على نقطة التعادل الكهربائي.

2- مقدمة introduction:

تختلف البروتينات من حيث قابلية ذوبانها في المحاليل فهي بصوره عامة قليلة الذوبان في الماء والمذيبات القطبية ولكنها تكون محلولاً غروياً مع الماء له لزوجة خاصة. تعتمد قابلية الذوبان للبروتينات في المحاليل المائية على توزع ثمالات الأحماض الأمينية المحبة للماء والكارهة للماء على سطح البروتين. البروتينات التي تحتوي على نسبة عالية من الأحماض الأمينية الكارهة للماء على السطح لها قابلية منخفضة للذوبان في المذيبات المائية. تتفاعل الثمالات السطحية المشحونة مع المجموعات الأيونية في المذيب وتزيد من قابلية البروتين للذوبان. تساعد معرفة نوع الأحماض الأمينية المكونة البروتين في تحديد المذيبات التي ينحل فيها وأساليب الترسيب المثالية.

يعتمد ذوبان البروتينات إذا على عدة عوامل منها:

- نوع السلاسل الجانبية للأحماض الأمينية المكونة للبروتين.
- بنية البروتين (كروي أوليفي)
- عوامل خارجية مثل القوة الأيونية للمحلول – درجة الـ pH – درجة الحرارة – نوع المذيب المستعمل.

يوجد عدد من التفاعلات التي يتم عن طريقها ترسيب البروتينات وبالتالي فصلها عن المكونات الأخرى في المحاليل البيولوجية. يمكن أن يكون الترسيب عكوساً أو غير عكوس تبعاً للطريقة المستخدمة. لا تتغير في تفاعلات الترسيب العكوسة الجزيئات البروتينية بشكل كبير، حتى أنه لا يحدث تغير في الشكل الفراغي وبالتالي فإن نواتج هذه التفاعلات تبقى قابلة للانحلال وتبقى فعاليتها البيولوجية سليمة دون أن تتحطم. أما في تفاعلات الترسيب اللاعكوسة فيحدث تغير كبير في خواص البروتينات وفي شكلها الفراغي، مما يؤدي إلى تغيرات في فعاليتها البيولوجية وتفقد قدرتها على الانحلال.

تستخدم تفاعلات ترسيب البروتينات لعدة أهداف منها:

- دراسة خواص البروتينات.
- تنقية البروتينات وفصلها عن الشوائب.
- فصل أنواع البروتينات ومعايرتها وذلك في الحالات المرضية المختلفة.

3- أهم طرائق ترسيب وفصل البروتينات:

The most important methods of sedimentation and separation of proteins

1- ترسيب البروتينات بالتسخين:

تعد البروتينات مركبات غير ثابتة بالحرارة، ويؤدي تعريضها للحرارة إلى تغيرات غير عكوسة في خواصها الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية، ويعرف ذلك بتمسخ البروتينات. يؤدي التسخين إلى تفكيك الروابط الهيدروجينية والروابط الكارهة للماء وبالتالي إلى تخريب البنيتين الثانوية والثالثية للبروتينات دون تأثر البنية الأولية (الناتجة عن الروابط الببتيدية). انطلاقاً من هذا المبدأ تستخدم الحرارة لتخثر البروتينات الغذائية وجعلها أسهل هضماً، وأيضاً تستخدم الحرارة كعامل تعقيم حيث تقضي على الجراثيم من خلال تمسخ البروتينات الجرثومية.

2- الترسيب بواسطة أملاح المعادن الثقيلة Precipitation by salts of heavy metals:

يجري ترسيب البروتينات في المحاليل بإضافة أملاح المعادن الثقيلة مثل الرصاص، النحاس، الفضة، الزئبق، وغيرها. يعود ذلك إلى تعديل الأيونات المعدنية الموجبة للشحنة السالبة على سطح البروتينات فتتشكل نتيجة لذلك معقدات

غير منحلة في الماء. انطلاقاً من ذلك تستخدم بعض أملاح المعادن الثقيلة في التعقيم، وبالمقابل يستخدم الحليب وزلال البيض كترياق لعلاج حالات التسمم بأملاح المعادن الثقيلة.

3- الترسيب بواسطة الأحماض المعدنية Precipitation by mineral acids:

تؤدي الأحماض المعدنية المركزة إلى تشكيل معقدات مع البروتينات بسبب تخرب الطبقة المائية المحيطة بالبروتين وتعادل شحنتها مما يؤدي إلى فقدان بنيتها الطبيعية وتشكل رواسب غير منحلة في الماء.

4- الترسيب بواسطة الأحماض العضوية Precipitation by organic acids:

تؤدي الأحماض العضوية مثل ثالثي كلور حمض الخل وسلفو حمض الساليسيليك إلى عزل الطبقة المائية المحيطة بجزيئة البروتين وتعديل شحنته ولذا تعد هذه العملية من العمليات اللاعكوسة. يستعمل سلفو حمض الساليسيليك بشكل واسع في المخابر السريرية للكشف عن بروتينات البول.

5- الترسيب بواسطة المحلات العضوية sedimentation by organic solvents:

تستطيع المحلات العضوية الممزوجة بالماء (الغول، الأسيتون) الارتباط مع الغلاف المائي المحيط بالجزيئة البروتينية من خلال تكسير الروابط الهيدروجينية بين السلاسل الجانبية للأحماض الأمينية وتشكيل روابط هيدروجينية بديلة مع الكحول أو الأسيتون مما يؤدي إلى إضعاف ثبات البروتين في المحلول وترسبه

6- الترسيب بالأملاح Salt precipitation :

تزداد قابليه ذوبان البروتينات بوجود تراكيز قليلة من الأملاح المتعادلة وتسمى هذه الظاهرة "التمليح الداخلي in-Salting" . أما في حالة ازدياد التراكيز فإن البروتين يترسب وهذا ما يسمى "التمليح الخارجي " out-Salting وسبب الترسيب هو فقدان الماء من جزئية البروتين المستحلبة) بفعل أيونات الملح (وكذلك بسبب تعادل الشحنات الكهربائية في البروتين مع الشحنات المعاكسة لأيونات الملح. إن درجة الترسيب الحاصل تعتمد على تركيز ونوع الملح المستعمل، وطبيعة البروتين، ووزنه الجزيئي. وتستخدم طريقه التمليح الخارجي في فصل البروتينات في مزيج منها وذلك بزيادة تركيز الملح بصورة تدريجية، ومن أكثر الأملاح شيوعاً هو كبريتات الأمونيوم.

7- الترسيب بالاعتماد على نقطة التعادل الكهربائي sedimentation depending on the electroneutral point:

يعتمد ذوبان البروتينات على قيمة الـ PH ويكون هذا الذوبان في نقطة التعادل الكهربائي أصغرياً في نقطة التعادل الكهربائي pI، والتي تعرف بأنها الأس الهيدروجيني pH التي يكون عندها محصلة الشحنات على الجزيء تساوي الصفر نتيجة لتساوي الشحنات الموجبة والسالبة، وعند هذه النقطة يصبح البروتين أقل ذوبانية فيسهل ترسيبه، وتختلف نقطة التعادل الكهربائي من بروتين إلى آخر حسب الأحماض الأمينية المكونة له، بالتالي يمكن الاستفادة من هذه الطريقة في فصل البروتينات ذات نقاط التعادل الكهربائي المختلفة.

4- التجربة العملية Practical experience:

عزل واستخلاص بروتين الكازئين من الحليب بالاعتماد على نقطة التعادل الكهربائي:

Isolation and extraction of casein protein from milk based on the electroneutral point

المبدأ The principle:

يعد الحليب الغذاء الأكثر تكاملاً في الطبيعة. يوجد ثلاثة أنواع من البروتينات في الحليب: الكازئين وألبومين الحليب وغلوبولين الحليب. تتميز هذه البروتينات باحتوائها على جميع الأحماض الأمينية الضرورية لبناء الدم والنسج وتأمين النمو الطبيعي. يشكل الكازئين البروتين الرئيسي من تلك الأنواع الثلاثة (80 %) وهو عبارة عن بروتين فوسفوري (يحوي مجموعات فوسفات مرتبطة مع مجموعات الهيدروكسيل في السلاسل الجانبية لبعض الأحماض الأمينية)، ويتواجد في الحليب على شكل ملح للكالسيوم (كازئينات الكالسيوم). يوجد ثلاثة أنواع لكازئين الحليب (ألفا وبيتا وغاما كازئين) ويكون النوع غاما هو المسؤول عن تأمين انحلالية الكازئين من خلال تشكيل المذيلات.

تكون نقطة التعادل الكهربائي لكازئينات الكالسيوم عند درجة pH = 4.6، لذلك تكون غير منحلة في درجات الـ pH القريبة من4.6. وبالتالي يمكن ترسيب الكازئين في الحليب بالاعتماد على هذه الخاصية وإضافة محلول موقي لتخفيض درجة الـ pH إلى نقطة التعادل الكهربائي.

المواد المستعملة The materials used:

- 100 مل حليب خالي الدسم (تركيزه 50 غ/لتر)
- محلول موقي (حمض الخل + خلات الصوديوم) pH = 4.6
- إيتانول 95 % ▪
- إيتر

طريقة العمل Method of working:

1- يوضع 100 مل من الحليب في بيشر زجاجي ويسخن حتى درجة الحرارة 40 مئوية.

2- يسخن 100 مل من المحلول الموقي إلى الدرجة 40 مئوية.

3- يضاف المحلول الموقي إلى الحليب ببطء مع التحريك بواسطة قضيب زجاجي. يجب الانتباه إلى عدم إضافة كمية المحلول الموقي الحمضي بسرعة.

4- تستمر إضافة المحلول الموقي والتحريك حتى يصبح الحليب رائقاً ويتوقف ترسب الكازئين.

5- يترك المعلق الناتج بدرجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق ثم يرشح باستخدام ورق الترشيح.

6- يغسل الراسب على ورقة الترشيح ب 5 مل من الإيتر مرتين متتاليتين ثم يترك ليجف حتى الأسبوع القادم. يوزن الراسب وتحسب النسبة المئوية للكازئين والبروتين الكلي في الحليب المستخدم.

الجلسة العاشرة

الكشف عن المركبات الآزوتية (البولة والكرياتينين والنشادر)

Detection of nitrogenous compounds

(urea, creatinine, and ammonia)

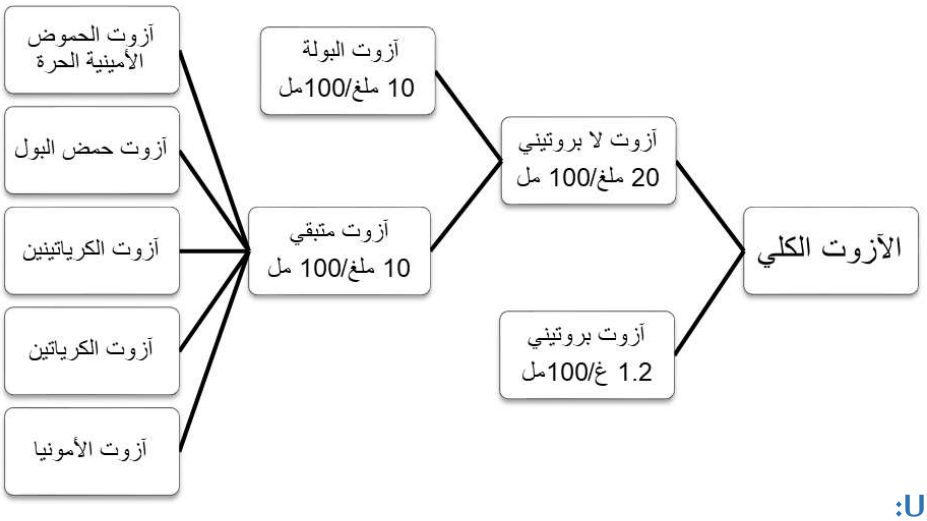
1. أهداف الجلسة Objectives of the session:

1- التعرف على أهم المواد الآزوتية اللابروتينية الموجودة في الجسم الحي.

2- التعرف على التفاعلات النوعية للكشف عن أهم هذه المواد الآزوتية (النشادر والبولة والكرياتينين) وتمييزها.

2- مقدمة introduction:

تتوزع المواد الآزوتية الكلية الموجودة في الدم إلى آزوت بروتيني وآزوت لا بروتيني، يشمل الآزوت اللابروتيني مجموعة من نواتج استقلاب البروتينات تضم: البولة Urea، الأحماض الأمينية الحرة، حمض البول Uric acid ، الكرياتين والكرياتينين، الأمونيا. تعد البولة والكرياتينين النواتج الرئيسية لاستقلاب المواد الآزوتية في الجسم.

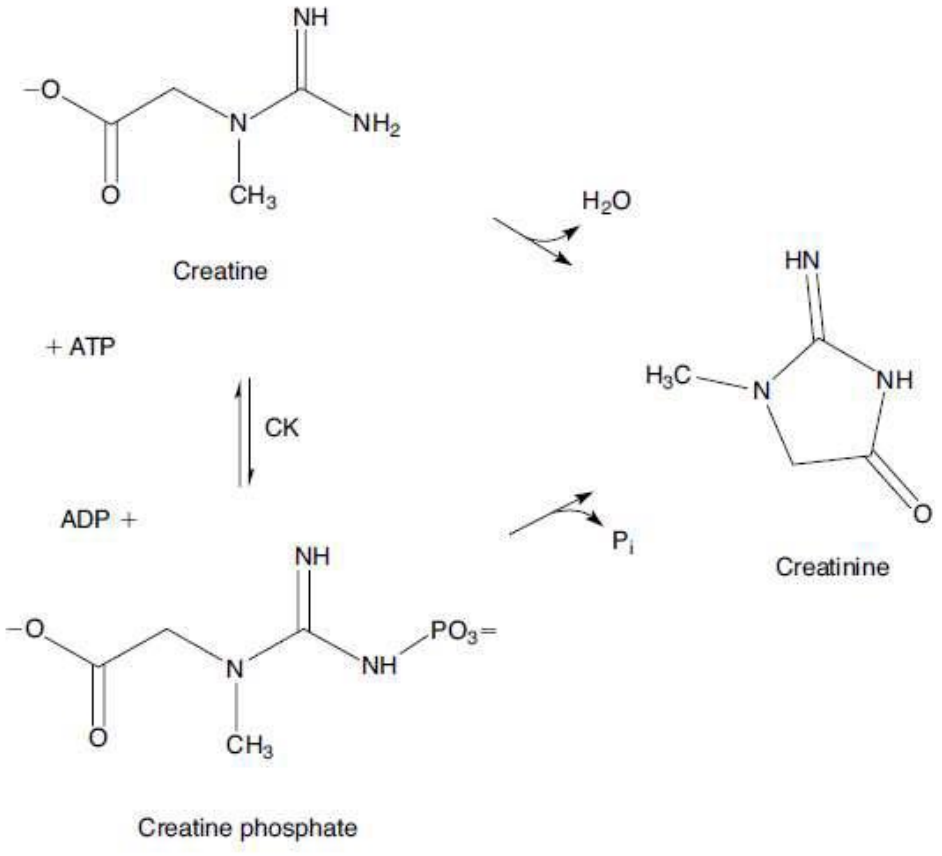


3- البولة Urea:

هي المستقلب الرئيسي للبروتينات والحموض الأمينية، حيث تنتج الأمونيا بعمليات نزع الأمين من الحموض الأمينية وتدخل الأمونيا في حلقة البولة urea cycl في الكبد لتشكيل البولة. تشكل البولة % (75–50) من المركبات الآزوتية غير البروتينية. تطرح البولة عن طريق الكلية بنسبة % 90 لذلك تعطي دلالة على الوظيفة الكلوية وبما أنها تتشكل في الكبد فهي تعطي أيضاً دلالة على الوظيفة الكبدية.

4- الكرياتينين creatinine:

هو بلا ماء الكرياتين، ينشأ الكرياتين في الكبد من الحموض الأمينية التالية: الغليسين والأرجينين والمثيونين، ثم يتحول في العضلات إلى كرياتين فوسفات كمركب خازن للطاقة بتدخل إنزيم الكرياتين كيناز. يتحول يومياً من%(1.5 –2) من مجموع الكرياتين في الجسم إلى كرياتينين الذي ينتقل بالبلاسما إلى الكلية حيث ينطرح بالبول بشكل كامل تقريباً. ويعد الكرياتينين أيضاً من أهم مشعرات الوظيفة الكلوية.

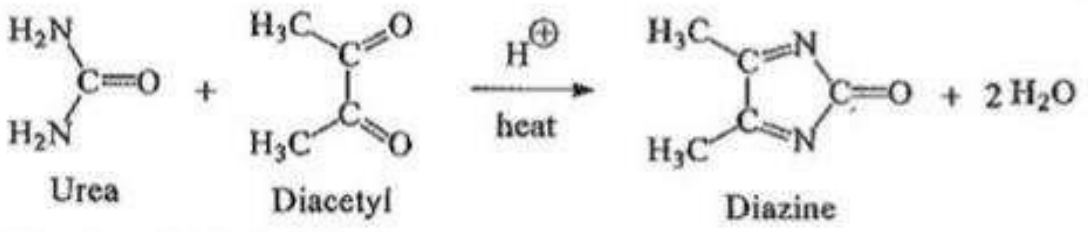


1- التجربة رقم 1: الكشف عن البولة باستخدام دي أسيتيل مونوكسيم

Experiment 1: Detection of urea using D-acetylmonoxime

المبدأ The principle:

يستخدم هذا الاختبار في الكشف الكيفي والكمي عن البولة. يتحلمه الدي أسيتيل مونوكسيم في وسط حمضي معطياً دي أسيتيل، تتكاثف البولة مع الدي أسيتيل بدرجة حرارة 100 م وتعطي معقداً بلون أحمر وردي. يضاف الثيوسيمي كاربازيد Thiosemicarbazide لتحفيز تشكل المعقد اللوني.



1- المواد المستعملة The materials used:

- محلول دي أسيتيل مونوكسيم 1 %
- محلول تيوسيميكاربازيد 0.5 %
- حمض كبريت مركز
- محلول البولة 1%

2. طريقة العمل Method of working:

1- يوضع في أنبوب اختبار 0.5 مل من محلول البولة.

2- يضاف 0.5 مل دي أسيتيل مونوكسيم.

3- تضاف بضع قطرات من حمض الكبريت المركز على جدران الأنبوب.

4- يضاف 0.5 مل تيوسيميكاربازيد.

5- يسخن الأنبوب على حمام مائي بالدرجة 100 مئوية لمدة 10 دقائق.

6- تسجل الملاحظات والنتائج.

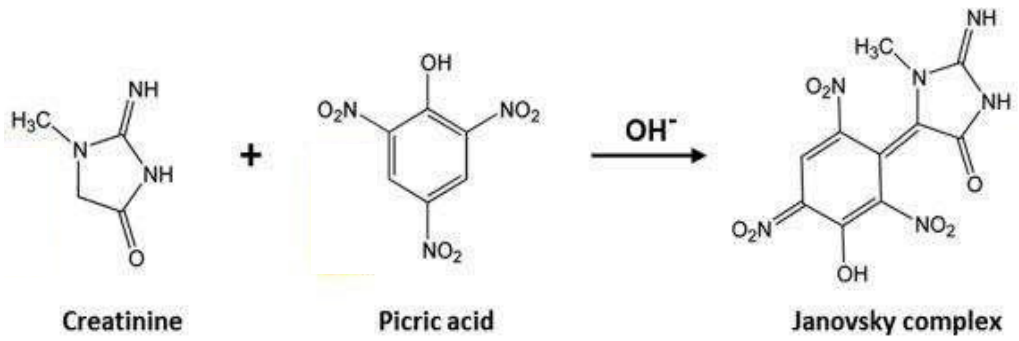
2- التجربة رقم 2: تفاعل جافيه Jaffee للكشف عن الكرياتينين

Experiment 2: Jaffee's reaction for creatinine detection

المبدأ The principle:

إن طريقة جافيه هي أقدم طريقة ولازالت تستخدم حتى اليوم في كشف ومعايرة الكرياتينين لكن مع بعض التعديلات.

يتكاثف الكرياتينين مع حمض المرPicric acid (حمض 4،2، 6 - ثلاثي نترو الفينول) في وسط قلوي مشكلاً معقداً بلون أصفر برتقالي يدعى (معقد جانوفسكي).



المواد المستعملة The materials used:

- حمض المر
- ماءات الصوديوم
- محلول الكرياتينين

طريقة العمل Method of working:

1- يوضع في أنبوب اختبار 0.5 مل من محلول الكرياتينين.

2- يضاف 0.5 مل من حمض المر.

3- تضاف عدة قطرات من ماءات الصوديوم.

4- تسجل الملاحظات والنتائج.

3- التجربة رقم 3: الكشف عن النشادر باستخدام كاشف نسلر

المبدأ The principle:

يتألف كاشف نسلر من رباعي يود زئبقات البوتاسيوم $K_2(HgI_4)$. يعطي هذا الكاشف مع النشادر راسباً بلون أصفر برتقالي إلى أحمر حسب تركيز النشادر.

المواد المستعملة The materials used:

- كاشف نسلر
- كبريتات الأمونيوم 1%

ماءات الصوديوم 5 %

طريقة العمل Method of working:

1- يوضع في أنبوب اختبار 0.5 مل من محلول كبريتات الأمونيوم.

2- يضاف 0.5 مل من كاشف نسلر.

3- تضاف عدة قطرات من ماءات الصوديوم.

4- تسجل الملاحظات والنتائج.

نهاية التجارب....

جَـامعة
المَـنارة
MANARA UNIVERSITY

مع أطيب التمنيات بالنجاح والتوفيق...

Best of Luck my dears ....

Dr. Sawsan Yousef Saad