الكيمياء الحيويَّة

(الجزء العملي)

السنة: الأولى

القسم: الهندسة الطبيَّة

الاختصاص: الهندسة الطبيَّة

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفهرس

الموضوع	الصفحة
المقدَّمة	11
الفصل الأول: مبادئ العمل والسلامة في مخبر الكيمياء الحيويَّة	13
1-1- القواعد الواجب التقيُّد بها في مخبر الكيمياء الحيويَّة	17
1-2- كيفيَّة التعامل مع المواد القابلة للاشتعال	18
1-3- الإسعافات الواجب تقديمها عند التعرُّض للحوادث المخبريَّة ...	19
الفصل الثاني: الأدوات والأجهزة المستخدَمة في مخبر الكيمياء الحيويَّة	23
2-1- مُقدَّمة	25
2-2- وصف الأدوات والأجهزة المخبريَّة	25
الفصل الثالث: بعض المعلومات عن المحاليل الكيميائيَّة وتحضيرها، وطرائق التعبير عن تركيز المحاليل والمعايرة الحجميَّة	45
3-1- تعريف المحلول.....	47
3-2- تركيز المحلول.....	47
3-3- المعايرة الحجميَّة	61
3-4- المشعرات (الدلائل)	62
3-5- المحاليل الموقية.....	65
3-6- الحلمهة	66
3-7- تحضير بعض المحاليل الكيميائيَّة	68
3-8- مُعايرات التعديل بين الحموض والأسس	71
تجربة (3-1) مُعايرة حمض قوي مع أساس قوي	72

تجربة (3-2) مُعايرة حمض ضعيف مع أساس قوي	74
3-9 - مُعايرات تفاعلات الأكسدة والإرجاع	76
تجربة (3-3): مُعايرة محلول اليود بمحلول تيوكبريتات الصوديوم	76
الفصل الرابع: السكَّريَّات	79
4-1- مُقدَّمة	81
4-2- تصنيف السكَّريَّات	83
4-3- الكشف عن السكَّريَّات البسيطة (الأحاديَّة)	87
4-3-1- التفاعل بين الحموض المعدنيَّة المركَّزة والسكَّريَّات	87
تجربة (4-1): تأثير الحموض المركَّزة على السكَّريَّات	87
4-3-2- التفاعلات العامَّة للكشف عن السكَّريَّات الأحاديَّة	89
تجربة (4-2): تفاعل موليش	89
تجربة (4-3): تفاعل التيمول	91
تجربة (4-4): تفاعل الأنثرون	92
4-4- التفاعلات الخاصَّة للكشف عن السكَّريَّات الأحاديَّة	93
4-4-1- التفاعلات اللونيَّة	93
تجربة (4-5): تفاعل سليفانوف	93
تجربة (4-6): تفاعل روثنفورز	95
تجربة (4-7): تفاعل بيال	96
تجربة (4-8): تفاعل خلات الأنيلين	98
4-4-2- تفاعلات الأكسدة والإرجاع	99
تجربة (4-9): تفاعل تولنز (المرآة الفضيَّة)	99

تجربة (4-10): تفاعل فهلنغ.....	102
تجربة (4-11): تفاعل بندكت	104
تجربة (4-12): اختبار بارفويد	105
تجربة (4-13): تفاعل كوله	107
تجربة (4-14): أكسدة السكَّريَّات الأحاديَّة باليود.....	109
تجربة (4-15): أكسدة السكَّريَّات الأحاديَّة بماء البروم.....	110
4-4-3- تفاعلات الترسيب	111
تجربة (4-16): تشكُّل الأوزازونات	111
4-5- مُلخَّص تفاعلات الكشف عن السكَّريَّات الأحاديَّة	114
4-6- الكشف عن السكَّريَّات الثنائيَّة	115
تجربة (4-17): التمييز بين السكَّريَّات الثنائيَّة المرجِعة والسكَّريَّات المرجِعة	118
تجربة (4-18):اختبار كبريتات الكوبالت المميِّز للسكروز	118
4-7- مُلخَّص تفاعلات الكشف عن السكَّريَّات الثنائيَّة	119
4-8- الكشف عن السكَّريَّات المتعدِّدة	119
تجربة (4-19): التفاعل مع كاشف لوغال	123
تجربة (4-20): الحلمهة الحمضيَّة للنشاء	125
4-9- مُلخَّص تفاعلات الكشف عن السكَّريَّات المتعدِّدة	126
4-10- الكشف عن مجهول مادَّة سكَّريَّة	126
4-11- الكشف الكمي للسكَّريَّات	130
تجربة (4-21): طريقة تقريبيَّة سريعة لتحليل السكَّر في البول	130

تجربة (4-22): التحليل الكمّي للسكَّر بطريقة ماكين وشورل	130
4-12- الأهميَّة الطبيَّة لمعايرة السكَّر في الدم	136
تجربة (4-23): مُعايرة السكَّر في الدم بطريقة كينغ وأستور	136
تجربة (4-24): مُعايرة السكَّر في مصل الدم بطريقة أورتو–توليدين ..	140
الفصل الخامس: الشحميَّات (الليبيدات)	145
5-1- مُقدَّمة	147
5-2- تصنيف الشحميَّات	147
5-3- التجارب الخاصَّة بالكشف الكيفي عن الدهون	151
تجربة (5-1): اختبار انحلاليَّة الشحميَّات	151
تجربة (5-2): تجربة الاستحلاب	151
5-4- الكشف عن الحموض الدسمة	152
تجربة (5-3): اختبار التصبُّن	152
تجربة (5-4): اختبار الحموضة	154
5-5- الكشف عن الحموض الدسمة غير المشبَعة	155
5-6- الكشف عن الغليسرول	156
تجربة (5-5): اختبار الأكرولين	156
تجربة (5-6): الكشف عن الكوليسترول	157
تجربة (5-7): اختبار ليبرمان بورشارد	158
تجربة (5-8): اختبار زاك	158

5-7- تحديد بعض القرائن الكيميائيَّة للدسم	158
تجربة (5-9): تحديد قرينة الحموضة	159
تجربة (5-10): تحديد قرينة اليود أو الرقم اليودي	162
تجربة (5-11): تحديد قرينة التصُّبن والأسترة	164
تجربة (5-12): تحديد قرينة الأكسدة	166
5-8- التحليل الكمّي للشحوم	168
تجربة (5-13): مُعايرة الشحوم في مصل الدم بطريقة سلفوفوسفوفانيلين	168
تجربة (5-14): مُعايرة كوليسترول مصل الدم بطريقة ليبرمان – بورشارد	170
5-9- أهميَّة تحديد نسبة الليبيدات العامَّة والكوليسترول العام	171
الفصل السادس: الحموض الأمينيَّة والبروتينات	173
6-1- مُقدَّمة	175
6-2- الحموض الأمينيَّة	176
6-2-1- تصنيف الحموض الأمينيَّة	176
6-2-2- خصائص الحموض الأمينيَّة	184
6-2-3- طرائق الكشف عن الحموض الأمينيَّة	185
تجربة (6-1): تفاعل النينهديرين	185
تجربة (6-2): تفاعل البيوريت	188
تجربة (6-3): تفاعل ميلون	138
تجربة (6-4): تفاعل الكزانتوبروتين	193
تجربة (6-5): تفاعل ساكاغوشي	194
تجربة (6-6): تفاعل فوليا	196

تجربة (6-7): تفاعل هوبكنز –كول	197
تجربة (6-8): التفاعل مع هيدروكسي ميتيل فورفورال	199
تجربة (6-9): تفاعل نفتوكينون للكشف عن الحموض الأمينيَّة الحرَّة	200
تجربة (6-10): تفاعل باول	201
تجربة (6-11): الكشف عن السيرين والتريونين	203
تجربة (6-12): تشكيل المعقَّدات الداحليَّة للحموض الأمينيَّة	204
6-3- البروتينات	205
6-3-1- تصنيف البروتينات	206
6-3-2- الأشكال الفراغيَّة المنتظمة للسلاسل مُتعدِّدة الببتيد	207
6-3-3- مستويات البنية البروتينيَّة	208
6-3-4- طرائق البحث في تحديد البنية الكيميائيَّة للبروتينات	209
6-3-5- الكشف الكيفي عن البروتينات	210
تجربة (6-13): ترسيب البروتينات بأملاح المعادن القلويَّة والقلويَّة الترابيَّة	211
تجربة (6-14): ترسيب البروتينات بالمحِلات العضويَّة	212
تجربة (6-15): ترسيب البروتينات بالفينول والفورمالين	213
تجربة (6-16): ترسيب البروتينات تحت تأثير الحرارة	214
تجربة (6-17): ترسيب البروتينات بالحموض المعدنيَّة أو العضويَّة ...	215
تجربة (6-18): تحديد نقطة التعادل للبروتينات	217
تجربة (6-19): الكشف عن زمر السلفوهيدريل؛ التفاعل مع نترو بروسيد الصوديوم	219
تجربة (6-20): الكشف عن مُركَّبات الحليب	219

6-3-7- التحليل الكمّي للبروتينات	
تجربة (6-21): التحليل الكمّي للبروتين بطريقة البيوريت	222
تجربة (6-22): التحليل الكمّي للبروتين بطريقة كيلدال	224
الفصل السابع: الفيتامينات	229
7-1- مُقدَّمة	231
7-2- الكشف الكيفي عن الفيتامينات المحلَّة في الدسم	233
7-2-1- الفيتامين A أو الريتينول	233
تجربة (7-1): الكشف عن الفيتامين A ؛ التفاعل مع حمض الكبريت	234
تجربة (7-2): الكشف عن الفيتامين A ؛ التفاعل مع كلوريد الحديد	235
تجربة (7-3): الكشف عن الفيتامين A؛ التفاعل مع مُركَّب 1-2 ثنائي كلور هيدرين الغليسرين	235
تجربة (7-4): الكشف عن الفيتامين A؛ التفاعل مع كبريتات الحديدي	236
تجربة(7-5): الكشف عن الفيتامين A؛ التفاعل مع ثلاثي كلوريد الأنتيموان	237
7-2-2- الفيتامين D	239
تجربة (7-6): الكشف عن الفيتامين D؛ التفاعل مع الأنيلين	240
تجربة(7-7): الكشف عن الفيتامين D؛ التفاعل مع ثلاثي كلوريد الأنتيموان	240
تجربة (7-8): الكشف عن الفيتامين D؛ التفاعل مع البروم	240
تجربة (7-9): الكشف عن الفيتامين D؛ التفاعل مع مُركَّب 1-2 ثنائي كلور هيدرين الغليسرين	241

7-2-3- الفيتامين E	241
تجربة (7-10): الكشف عن الفيتامين E؛ التفاعل مع كلوريد الحديد	242
تجربة (7-11): الكشف عن الفيتامين E؛ التفاعل مع حمض الآزوت	243
7-2-4- الفيتامين K	244
تجربة (7-12): الكشف عن الفيتامين K؛ التفاعل مع السيستئين	245
تجربة (7-13): الكشف عن الفيتامين K؛ التفاعل مع إستر ثنائي إيتيل حمض المالونيك	245
تجربة (7-14): الكشف عن الفيتامين K؛ التفاعل مع الأنيلين	245
7-3- التحليل الكمّي للفيتامينات المنحلّة في الدسم	246
تجربة (7-15): التحليل الكمّي للفيتامين A	246
تجربة (7-16): التحليل الكمّي للفيتامين D	250
تجربة (7-17): التحليل الكمّي للفيتامين E	252
تجربة (7-18): التحليل الكمّي للفيتامين K	254
7-4- الكشف الكيفي عن الفيتامينات المنحلّة في الماء	256
7-4-1- الفيتامين B	256
7-4-1-1- التيامين أو الفيتامين B_1	257
تجربة (7-19): الكشف الكيفي عن الفيتامين B_1 عن طريق أكسدته	258
تجربة (7-20): الكشف الكيفي عن الفيتامين B_1؛ التفاعل مع البيزموت	260
تجربة (7-21): الكشف عن الفيتامين B_1؛ التفاعل مع كاشف ديازو	260
7-4-1-2- الريبوفلافين (الفيتامين B_2)	261

تجربة (7-22): الكشف الكيفي عن الفيتامين B_2؛ التفاعل مع تيوكبريتات الصوديوم	264
تجربة (7-23): الكشف الكيفي عن الفيتامين B_2؛ التفاعل مع حمض كلور الماء والزنك المعدني	265
7-4-1-3- البيرودكسين أو الفيتامين B_6.....	265
تجربة (7-24): الكشف الكيفي عن الفيتامين B_6؛ التفاعل مع حمض كلوريد مع كلوريد الحديد	267
7-4-1-4- النياسين أو الفيتامين B_3 أو P.P	268
تجربة (7-25): الكشف الكيفي النياسين (الفيتامين B_3)	268
تجربة (7-26): الكشف الكيفي عن حمض النيكوتين؛ التفاعل مع خلات النحاس	269
تجربة (7-27): الكشف الكيفي عن حمض النيكوتين؛ التفاعل مع خلات الصوديوم اللامائيَّة	269
تجربة (7-28): تفريق حمض النيكوتين عن النيكوتين أميد	270
7-4-2- حمض الأسكوربيك أو الفيتامين C	270
7-4-2-1- الكشف الكيفي عن الفيتامين C	272
تجربة (7-29): الكشف عن الفيتامين C اعتماداً على خواصه الإرجاعيَّة	272
7-4-2-2- التحليل الكمّي للفيتامين C	276
تجربة (7-30): تقدير الفيتامين C بوساطة كاشف 2، 6- ثنائي كلوروفينول أندول	277

تجربة (7-31): التحديد الكمّي للفيتامين C في البول	281
تجربة (7-32): التحديد الكمّي للفيتامين C في المواد الغذائيَّة	282
الفصل الثامن: الهرمونات	285
8-1- مُقدَّمة	287
8-2- الكشف الكيفي عن الهرمونات	288
8-2-1- الأنسولين	289
تجربة (8-1): الكشف عن الأنسولين؛ التفاعل مع هيدروكسيد الصوديوم	290
8-2-2- التيروكسين	290
تجربة (8-2): الكشف عن التيروكسين بالحلمهة الحمضيَّة	291
8-2-3- الأدرينالين	291
تجربة (8-3): الكشف عن الأدرينالين؛ التفاعل مع كلوريد الحديد	292
تجربة (8-4): الكشف عن الأدرينالين؛ التفاعل مع نتريت الموليبدين	292
تجربة (8-5): الكشف عن الأدرينالين؛ تفاعل الديازو	293
8-2-4- الفولليكولين (الاسترون)	293
تجربة (8-6): الكشف عن الفولليكولين (الاسترون)؛ تفاعل الديازو	294
تجربة (8-7): الكشف عن الفولليكولين؛ التفاعل مع حمض الكبريت المركَّز	295
تجربة (8-8): التفاعل مع هيدروكسيد الصوديوم وتشكُّل فينولات الفولليكولين	295
8-2-5- الكورتيزون	295

تجربة (8-9): الكشف عن الكورتيزون؛ التفاعل مع محلول فينيل هيدرازين في حمض الكبريت	296
تجربة (8-10): الكشف عن الكورتيزون؛ التفاعل مع كاشف فهلنغ	296
8-3- التحليل الكمّي للهرمونات	297
تجربة (8-11): تقدير الأدرينالين	297
الفصل التاسع: الإنزيمات	301
9-1- مُقدَّمة عامَّة	303
9-2- تصنيف الإنزيمات	304
9-3- العوامل المؤثِّرة على سرعة التفاعل الإنزيمي	306
9-4- وحدة الفعاليَّة للإنزيم	309
9-5- مُنشِّطات الإنزيمات ومُثبِّطاتها	309
تجربة (9-1): تأثير إنزيم الأميلاز على النشاء (تحلُّل النشاء بالأميلاز)	311
تجربة (9-2): تأثير تغيُّرات (pH) الوسط على نشاط إنزيم الأميلاز	313
الفصل العاشر: بعض التطبيقات العمليَّة في التحليل الكروماتوغرافي	321
10-1- مُقدَّمة عامَّة	323
10-2- الفصل والتحليل الكروماتوغرافي	324
10-3- تصنيف طرائق الفصل الكروماتوغرافي	325
10-3-1- التصنيف بحسب الظواهر المستخدَمة في عمليَّة الفصل	325
10-3-2- التصنيف بحسب طبيعة الأطوار المستخدَمة	327
10-3-3- التصنيف بحسب نوعيَّة وحدة الفصل	330
تجربة (10-1): فصل مزيج من السكَّريَّات بطريقة الكروماتوغرافيا	314

الورقيَّة الصاعدة	
تجربة (10-2): فصل مزيج من الغلوكوز والغالاكتوز واللاكتوز بتقنيَّة كروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة	318
تجربة (10-3): فصل مزيج من الفركتوز والغلوكوز واللاكتوز والسكروز بتقنيَّة كروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة	319
تجربة (10-4): تحديد بعض أنواع الزيوت من خلال فصل مُركَّباتها بطريقة كروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة	320
تجربة (10-5): فصل بعض مزائج الفيتامينات المنحلَّة في الماء ...	321
تجربة (10-6): التحديد الكيفي لبعض أشكال الفيتامين A	321
تحضير الكواشف	322
المصطلحات العلميَّة	345
المراجع العلميَّة	346

المقدَّمة

نقدِّم لطلابنا الأعزاء في السنة الأولى- قسم الهندسة الطبيَّة- كتاب الكيمياء الحيويَّة (الجزء العملي) الذي يتضمَّن العديد من المواضيع التي تهمُّ طالب الهندسة الطبيَّة في مجال اختصاصه، ومجموعة لا بأس بها من التجارب العمليَّة التي تساعده على فهم الطرائق التجريبيَّة المتَّبعة في الكيمياء الحيويَّة؛ ونعتقد أنَّ هذا الكتاب يمكن أن يؤمِّن مُتطلَّباته في هذا الحقل؛ نظراً لارتباط عمله بمواضيع ومسائل ذات صلة بالكيمياء الحيويَّة.

يحتوي هذا الكتاب على مُقدَّمة وعشرة فصول ومُلحق خاص بكيفيَّة تحضير الكواشف والمحاليل؛ إضافةً إلى المصطلحات العلميَّة.

تضمَّن الفصل الأول قواعد العمل والسلامة في مخبر الكيمياء الحيويَّة وأهمَّ القواعد الواجب التقيُّد بها من قبل الطالب في مخبر الكيمياء الحيويَّة. أمَّا الفصل الثاني فقد تطرَّق إلى الأدوات والأجهزة المستخدَمة في مخبر الكيمياء الحيويَّة. أمَّا الفصل الثالث فقد تضمَّن طرائق التعبير عن التركيز وتحضير المحاليل الكيميائيَّة وإجراء بعض التجارب في مجال المعايرات الحجميَّة. أمَّا في الفصل الرابع فقد جرى التعرُّف إلى السكَّريَّات وأنواعها وأهميَّتها الحيويَّة، كما جرى التطرُّق إلى طرائق الكشف الكيفي والكمِّي عن السكريَّات بأنواعها المختلفة؛ وفي الفصل الخامس جرى البحث في الشحوم من حيث التعريف والتصنيف وطرائق الكشف عنها؛ أمَّا الفصل السادس فقد اهتمَّ بطرائق الكشف عن الحموض الأمينيَّة والبروتينات؛ بينما تناول الفصل السابع بحث الفيتامينات وطرائق الكشف عن الفيتامينات المنحلَّة في الدسم والفيتامينات المنحلَّة في الماء كيفيَّاً وكميَّاً. أمَّا في الفصل الثامن فقد جرى التطرُّق إلى الهرمونات وأنواعها وطرائق الكشف عنها؛ في حين تناول الفصل التاسع بحث الإنزيمات وأنواعها وإجراء بعض التجارب الخاصَّة بها. أمَّا

الفصل العاشر والأخير فقد تضمَّن بعض التطبيقات العمليَّة في مجال التحليل الكروماتوغرافي، حيث اشتمل على بعض التجارب العمليَّة في هذا الخصوص.

أخيراً نتمنَّى لطلابنا الأعزاء في قسم الهندسة الطبيَّة النجاح في دراستهم والتوفيق في عملهم وتحقيق آمالهم وطموحاتهم في مختلف نواحي الحياة؛ لما في ذلك الخير كلُّ الخير لهم ولوطننا الغالي سوريَّة.

ولله الفضل في كلِّ ما نسعى إليه

المؤلِّفون

Damascus University

الفصل الأول

مبادئ العمل والسلامة

في مخبر الكيمياء الحيويَّة

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

مبادئ العمل والسلامة في مخبر الكيمياء الحيويَّة

3-1- القواعد الواجب التقيُّد بها في مخبر الكيمياء الحيويَّة

عندما يقوم طالب الهندسة الطبيَّة بإجراء التجربة المطلوبة في مخبر الكيمياء الحيويَّة؛ فإنَّه يمكن أن يكون عرضةً للأذى من خلال تعامله مع مواد كيميائيَّة مُتعدِّدة ومُتنوِّعة قد يكون بعضها مؤذياً بالملامسة أو الاستنشاق؛ فهناك مثلاً الحموض القويَّة التي تُسبِّب حرق الجلد وثقب الملابس كحمض الكبريت، وهناك بعض المواد التي تصبغ الأيدي والملابس كمحلول فوق منغنات البوتاسيوم واليود؛ كما أنَّ هناك مواد قابلة للاشتعال بسهولة كالبنزن والإيتر؛ إضافةً إلى استعمال الطالب أدوات زجاجيَّة سهلة الكسر قد يُسبِّب كسرها أذىً للطالب؛ خصوصاً إذا كانت مملوءة بمواد كيميائيَّة.

لذلك فإنَّه قبل البدء بإنجاز التجارب العمليَّة المقرَّرة في الكيمياء الحيويَّة لا بدَّ لطالب الهندسة الطبيَّة الذي سيقوم بهذه التجارب الإحاطة الشاملة بالمبادئ العامَّة الأساسيَّة التي تتعلَّق بالأدوات والأجهزة المستخدَمة من قبله، إضافةً إلى معرفته الجيِّدة بالمواد الكيميائيَّة التي يجري التعامل معها. كذلك يُشترَط في العمل المخبري الموثوق أخذ فكرة شاملة عن مجال العمل وطبيعته، والاحتياطات والتدابير الصحيَّة المتَّخذة في أثناء العمل، بهدف تجنُّب مُختلِف أنواع الحوادث والإصابات التي يمكن أن تحصل في المخبر خلال إجراء التجارب؛ لذلك يجب التقيُّد بتطبيق قواعد الأمان والسلامة في المخبر بصورة صحيحة ودقيقة ليتمكَّن الطالب من تحقيق النجاح في أثناء العمل في مخبر الكيمياء الحيويَّة.

ندرج فيما يلي أهمَّ القواعد العامَّة الواجب التقيُّد بها من قبل الطالب حفاظاً على سلامته وحرصاً على إجراء التجارب الكيميائيَّة بالشكل الصحيح والآمن:

1- على كلّ طالب حضور الجلسة العمليَّة المقرَّرة في الموعد المحدَّد دون أيّ تأخُّر، والعمل في المكان المخصَّص له فقط؛ كما يجب عدم السماح له بالانتقال إلى أيّ مكان آخر دون أخذ موافقة الأستاذ المشرف على الجلسة.

2- على كلّ طالب في أثناء العمل ارتداء القميص الأبيض (المريول) الخاص بالمخبر، وإحضار صابونة ومنشفة واسفنجة لمسح الطاولة وتنظيف المكان الذي يجري فيه التجارب المقرَّرة.

3- المحافظة على مكان العمل نظيفاً ومُرتَّباً بصورة دائمة؛ وذلك بترتيب الأدوات الكيميائيَّة والمواد المختلفة، وتنظيف مكان العمل بصورة جيِّدة بعد الانتهاء من إجراء التجارب المطلوبة من الطلاب.

4- يجب أن يُنفَّذ العمل المطلوب من قبل الطلاب في المخبر بصورة هادئة ومنظَّمة، وأن يبتعد الطالب عن العجلة والفوضى وعدم الترتيب؛ حيث يؤدِّي ذلك إلى نتائج خاطئة في العمل وأحياناً إلى بعض الحوادث ذات الآثار الضارَّة.

5- تمَّ تخصيص جلسة عمليَّة واحدة ووقت مُحدَّد لكلّ فئة من الطلاب؛ فعلى الطلاب الالتزام بموعد وتوقيت الجلسة المخصَّصة لهم، ولا يُسمَح لأيّ طالب دخول المخبر إلا في الموعد المخصَّص لفئته الأصليَّة، كما تُمنَع الزيارات الخاصَّة في مخبر الكيمياء نهائيًّا؛ كذلك يُمنَع الطلاب في الجلسة من التحدُّث مع بعضهم بأحاديث جانبيَّة.

6- يُحظَّر على الطالب العمل بمفرده في المخبر دون وجود الأستاذ المشرف على الجلسة أو المخبري؛ كما لا يُسمَح له بالعمل خارج أوقات الجلسة العمليَّة المخصَّصة له دون موافقة المشرف على المخبر.

7- على الطالب ألاَّ يبدأ القيام بإجراء أيَّة تجربة إذا لم يكن مُستوعِباً الغاية الأساسيَّة من التجربة، وسبب القيام بكلّ خطوة فيها؛ وهذا يتطلَّب دراسة التجربة وتحضيرها بصورة جيِّدة (وليس قراءتها فقط)، قبل دخول المخبر؛ ولهذا يجب تحديد موعد إجراء التجارب

العمليَّة من قبل المشرفين على المخبر مُسبقاً؛ علماً أنَّ التحضير الجيِّد المسبق للتجربة المقرَّرة والمطلوبة من قبل الطالب يؤدِّي حتماً إلى تحسين أدائه في المخبر، ويزيد الفائدة من إجراء التجربة من حيث المعرفة والنتائج العمليَّة المتوخَّاة من ذلك.

8- يجب توزيع زجاجات الكواشف على كلِّ طاولة من طاولات المخبر على شكل مجموعات مُتكاملة؛ ويُستثنى من ذلك بعض المواد الخاصَّة التي تستدعي قلَّة كميَّتها ضبط استعمالها؛ حيث تُوضَع عادةً في غرفة التحضير من أجل مراقبة حُسن أخذ العيِّنات. يؤمِّن هذا التوزيع هدوءاً في أثناء العمل المخبري، ويوفِّر الكثير من وقت الطالب بتحديد حركته في المخبر؛ إضافةً إلى الاقتصاد في كميَّة المواد المستعملة.

9- عند إضافة كاشف مُعيَّن يجب التأكُّد من اسم الكاشف بقراءة الورقة الملصقَة على الزجاجة الموجود فيها الكاشف.

10- يُمنَع التدخين في مخبر الكيمياء منعاً باتَّاً تحت طائلة إخراج الطالب من المخبر، واعتباره غائباً عن الجلسة وإعطائه علامة الصفر عن هذه الجلسة.

11- ضرورة توخِّي الحذر الشديد في أثناء العمل؛ خصوصاً عند استعمال الغاز والتيار الكهربائي؛ فلا يجوز إشعال الغاز والأدوات الكهربائيَّة إلا عند الضرورة والحاجة إلى استعمالها فقط.

12- يُمنَع رمي الأوراق وأوراق الترشيح والرواسب الصلبة في مجاري المياه.

13- يُسمَح بصبِّ الماء والمحاليل الشفَّافة اللاعضوية فقط في المجاري، ويُحظَّر رمي أيِّ سائل عضوي في مجاري المياه، وكذلك المحاليل المركَّزة للحموض والأسس والمواد ذات الرائحة الشديدة، والمواد القابلة للاشتعال، والمواد السامَّة؛ حيث يجري جمع هذه المواد في حاويات خاصَّة بها.

14- التأكيد على ضرورة استعمال المواد الكيميائية بكميَّات قليلة.

15- يجب التعامل بدقَّة وحذر مع الأدوات الزجاجيَّة ومع الأجهزة؛ وكذلك الاستعانة بالأستاذ المشرف أو بالمخبريين عند اكتشاف أيِّ خلل في الأدوات والمعدَّات المستخدَمة في المخبر.

16- على الطالب صبُّ الحمض على الماء وليس العكس؛ فإذا صبَّ الماء على الحمض يكون بذلك قد عرَّض نفسه لخطر تناثرها وإلحاق الأذى به. كما يُحظَّر عليه تذوُّق أيٍّ من المواد أو المحاليل الكيميائيَّة لأنَّ أغلبها سامٌّ.

17- عند تسخين السوائل في الأنابيب والحوجلات وغيرها من الأوعية، يجب ألا تُوجَّه الأقسام المفتوحة من هذه الأدوات نحو الطالب أو زملائه، تجنُّباً لحدوث تطايرات مؤذية؛ مع التأكُّد من خلوِّ هذه الزجاجيَّات من أيِّ كسر.

18- بعد الانتهاء من العمل المخبري يجب التأكُّد من إغلاق صنبور الماء وإطفاء الغاز والتيار الكهربائي، وترتيب الأجهزة والأدوات في مكانها.

19- على الطلاب بعد الانتهاء من إجراء التجارب المطلوبة إعادة الأدوات التي استلموها من المخبريين العاملين في المخبر في بداية الجلسة.

20- يجب غسل الأيدي بالماء والصابون جيِّداً بعد الانتهاء من إجراء التجارب.

21- يُمنَع على الطلاب إجراء أيَّة تجربة في المخبر غير مُقرَّرة من قبل الأستاذ المشرف، تحت طائلة إخراج الطالب الذي يقوم بذلك من المخبر.

3-2- كيفيَّة التعامل مع المواد القابلة للاشتعال

على الطالب التقيُّد بالأمور الآتية:

1- يُمنَع منعاً باتَّاً تسخين بعض المواد على النار مباشرةً أو على شبكة أو بجانب لهب مفتوح أو في أوعية مفتوحة. نذكر من هذه المواد الأغوال والإيتر الإيتيلي، الإيتر البترولي، البنزن، كبريت الكربون، البنزين، الأسيتون وغيرها من المواد القابلة للاحتراق؛ كما يجب التأكيد على ضرورة استخدام أجهزة تسخين كهربائيَّة.

2- إنَّ مثل هذه المواد تُسخَّن أو تُقطَّر على حمَّام مائي أو هوائي باستخدام موقد كهربائي مُغطًّى الحلزون؛ كما يجري تسخين الإيتر على حمَّام مائي مُسخَّن مُسبقاً وبعيداً عن مكان وجود الإيتر. يُمنَع وضع الموقد مباشرةً تحت الوعاء الحاوي على الإيتر، كما يُمنَع تقريب الإيتر من اللهب مباشرةً.

3- يُمنَع حفظ أيَّة مواد قابلة للاشتعال أو التطاير في أيِّ مكان ساخن.

4- يُمنَع رمي الإيتر أو أيَّة مادَّة قابلة للاشتعال أو التطاير في سلَّة المهملات أو مجاري المياه. للتخلُّص من مثل هذه المواد يجري جمعها في زجاجات خاصَّة تُحفَظ تحت ساحبة الغازات في زجاجات سميكة الجدران.

3-3- الإسعافات الواجب تقديمها عند التعرُّض للحوادث المخبريَّة

تُوجَد المواد الطبيَّة والأربطة في غرفة التحضير، ويقوم المخبريُّون أو الأستاذ المشرف على جلسة عملي الكيمياء الحيويَّة بتقديم الإسعافات الأوليَّة للطالب المتضرِّر بسرعة، علماً أنَّه ينبغي على كلِّ طالب في المخبر أن يعرف كيف يُقدِّم المساعدة الأوليَّة لزميله المتضرِّر من خلال تعرُّفه إلى التعليمات الآتية:

1- الجروح بالزجاج: تحصل الجروح عادةً في الأيدي، وغالباً ما يُسبِّبها إدخال الأنابيب الزجاجيَّة أو مقاييس الحرارة thermometers في سدادات الفلين أو السدادات المطاطيَّة، أو إخراجها منها؛ وذلك عند عدم استعمال مادَّة سهلة الانزلاق، كالماء أو الغليسرين أو الغازولين، ولا بدَّ هنا من تشذيب الأنبوب الزجاجي على النار؛ ثمَّ تدويره وتشحيمه. يجب عند الإصابة غسل السطح المتضرِّر بالماء وتعقيمه بمحلول اليود الغولي (3%)، أو بغيره من المعقِّمات المعروفة ثمَّ تضميده. إذا احتوى الجرح على قطع من مكسور الزجاج، فتجب إزالتها من قبل الطبيب حصراً.

2- الإسعافات الأوليَّة عند الحروق: عند تعرُّض جزء من الجسم (اليد عادةً)

للاحتراق بالحرارة، فمن الضروري غسل مكان الحرق بسرعة بالماء، ثمَّ بالغول الإيتيلي أو بمحلول مُمدَّد من فوق منغنات البوتاسيوم ($KMnO_4$). أمَّا في حالة الحروق الكبيرة، فيجب أن يُدهَن مكان الاحتراق (بعد الغسل بالغول)، بمرهم خاص أو بالغليسرين، ويُنصَح بعدم دهن المنطقة المحروقة مباشرةً قبل الغسل بالماء والغول الإيتيلي كي لا يتضرَّر الجلد المحروق؛ كما يجب ربط المنطقة المحروقة برباط غير مُحكَم.

3- الحروق الناشئة عن الحموض والأسس المركَّزة: تجري معالجة الحروق الناشئة عن الحموض المركَّزة بغسل مكان الاحتراق مباشرةً بكميَّة وافرة من الماء، ثمَّ بمحلول ثنائي كربونات الصوديوم $NaHCO_3$ ذي التركيز (1%)؛ ثمَّ يؤخَذ الطالب المصاب بعد ذلك إلى طبيب العيون ليتابع معالجته والقيام بالإجراءات الطبيَّة الضروريَّة المناسبة، خصوصاً إذا كان الحادث خطيراً؛ علماً أنه يجب أن يكون مخبر الكيمياء مُجهَّزاً بقطن مُعقَّم وأربطة وشاش. أمَّا إذا أُصيبت العين بتطايرات حمض ما، فيجب غسلها على الفور بصورة هادئة وباستمرار بالماء، ثمَّ بمحلول $NaHCO_3$، وبعد ذلك يجب نقل المصاب إلى المشفى لتلقِّي العناية الطبيَّة اللازمة بأقصى سرعة.

يُسبِّب وقوع القلويَّات المركَّزة (الكثيفة) على قرنيَّة العين ضرراً بالغاً؛ ولهذا يجب في هذه الحالة غسل العين مباشرةً بكميَّة وافرة من الماء النظيف، وبعد ذلك بمحلول من حمض البوريك ذي التركيز (10%)، وتُقطَر في العين قطرة من زيت الخروع أو زيت الزيتون النقي؛ ثمَّ يُنقَل المصاب إلى الطبيب المختصِّ بأقصى سرعة ممكنة.

عند سقوط المواد الكيميائيَّة الكاوية أو المخرِّشة على الجلد؛ فإنَّه ليس من المفيد غسل الجلد بالماء، وإنَّما لا بدَّ من إزالة هذه المواد بغسل الجلد بسرعة بكميَّة وافرة من الغول الإيتيلي أو البنزن؛ كما يجب تجنُّب تشكُّل مناطق ذات تراكيز عالية من المواد الضارَّة بالجلد.

4- إطفاء الحرائق الصغيرة والألبسة المحترقة:

1- عند نشوب الحريق يجب المسارعة إلى إطفائه بوساطة الأجهزة الموجودة في المخبر بعد قطع التيار الكهربائي عن المخبر من القاطع الرئيسي، ويُعمَد إلى إبعاد جميع المواد القابلة للاشتعال والأواني الحاوية على السوائل القابلة للاشتعال عن النار. تُغطَّى بؤرة الاشتعال بهدوء -ولكن بالسرعة الممكنة- بالرمل الناعم الذي يُفترَض وجوده في المخبر لهذا الغرض؛ مع العلم أنَّ الرمل الناعم هو الوسيلة الأكثر بساطةً وفعاليةً في إطفاء الحريق.

2- تُستخدَم الأغطية المضادَّة للحريق من أجل حصر بؤرة الاشتعال؛ ولهذا يجب أن يحتوي كلُّ مخبر كيميائي على عدد مُعيَّن من هذه الأغطية؛ كما يجب على كلِّ طالب أن يعرف مكان وجودها من أجل الاستفادة منها عند الحاجة.

3- يُمنَع صبُّ الماء على الإيتر أو البنزن أو البنزين الملتهب، ويُستخدَم في جميع هذه الحالات الرمل أو جهاز الإطفاء الرغوي أو الغازي لإطفاء الحريق.

4- يجري حصر بؤرة الاشتعال عندما تكون كبيرة بوساطة أجهزة الإطفاء، ثمَّ يُصار إلى إعلام مؤسَّسة الإطفاء حول هذا الأمر بالسرعة القصوى ودونما أيِّ تأخير.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل الثاني

الأدوات والأجهزة المستخدَمة

في مخبر الكيمياء الحيويَّة

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الأدوات والأجهزة المستخدَمة في مخبر الكيمياء الحيويَّة

2-1- مُقدَّمة

هناك العديد من الأدوات والأجهزة المخبريَّة التي تُستخدَم في مخبر الكيمياء الحيويَّة من أجل إجراء التجارب العمليَّة؛ لذلك يجب على الطالب أن يُلمَّ بهذه الأدوات والأجهزة. نذكر من هذه الأدوات الاسطوانة المدرَّجة، الماصَّة، بالون المعايرة، الميزان التحليلي، أقماع الفصل، المثفِّلة، مصباح الغاز، أنابيب الاختبار، حوامل أنابيب الاختبار، ملاقط خشبيَّة لأنابيب الاختبار، الدوارق المخروطيَّة، السحاحة، البيشر، زجاج الساعة، الفرشاة لتنظيف الأواني، الحمَّام المائي، القطَّارة، مقياس الحرارة، السخَّانة الكهربائيَّة، الخلاط المغناطيسي.... إلخ.

2-2- وصف الأدوات والأجهزة المخبريَّة

نعرض فيما يلي وصفاً لبعض الأدوات والأجهزة التي يمكن أن نستخدمها عادةً في مخبر الكيمياء الحيويَّة؛ وهي الآتية:

1- الكأس الزجاجيَّة أو البيشر Beaker: الكأس الزجاجيَّة أو البيشر من الألمانيَّة Becherglas أو " البيكر " من الإنجليزية Beaker وهو وعاء يُصنَع غالباً من الزجاج ويُستخدَم في المخابر الكيميائيَّة لتحريك وخلط ومزج السوائل، وفي الترسيب وتحضير المحاليل وإجراء التفاعلات في المحاليل الكؤوس الزجاجيَّة المستخدَمة في المختبرات لها شكل أسطواني ذات قعر مُسطَّح، ولها قياسات مختلفة من بعض الميلي لترات إلى العديد من الليترات. يتمُّ صنع الكأس الزجاجي المخبري من زجاج البوروسيليكات الذي يمتاز بأنَّه متين ومقاوم للحرارة وشفَّاف.

2- أنابيب الاختبار Test-tube: تُستخدَم أنابيب الاختبار في إجراء اختبارات التفاعلات البسيطة والسريعة نسبيًّا؛ ومن بين الأنابيب المستخدَمة نذكر:

أ- الأنابيب الأسطوانيَّة: تُستخدَم لتسخين كميَّات صغيرة من السائل.

ب- أنابيب الاختبار المخروطيَّة: تُستخدَم لتثفيل الرواسب بطريقة الطرد المركزي في المثفِّلات.

3- الماصَّة Pipette: هي أنبوب زجاجي ضيِّق ينتهي بفتحة مسحوبة، وله انتفاخ في وسطه ويكون مُتفاوتاً في الطول ونصف القطر؛ وهناك ثلاثة أنواع للماصَّات هي:

أ- الماصَّة المدرَّجة (أو ماصَّة القياس): هي أسطوانة زجاجيَّة رقيقة مُدرَّجة بانتظام وبتدريجات دقيقة من **(0.1mL - 0.01mL)**. يمكن بوساطتها قياس أيِّ حجم بدقَّة كافية. يُوجَد ماصَّات ذات السعات الآتية: **(1,2,5,10,25,50mL)** إضافةً إلى الماصَّات الميكرويَّة ذات السعة **(0.1mL)**.

ب- ماصَّة الحجم المحدَّد: هي أنبوبة زجاجيَّة يتوسَّطها انتفاخ، ويكون جزء الأنبوبة السفلي للماصَّة حاداً (مُؤنَّفاً بدقَّة)؛ وتُوجَد علامة أو إشارة تحديد الحجم فوق الانتفاخ ببضعة سنتيمترات. يمكن بهذا النوع من الماصَّات قياس حجوم مُحدَّدة بدقَّة عالية نسبيًّا؛ ويمكن أن تأخذ أمثال هذه الماصَّات السعات الآتية:

(0.5,2,5,10,20,50,100, 200mL)

جـ- الماصَّة الآمنة: هي ماصَّة تكون من أحد النوعين السابقين، ومُزوَّدة بدورق للشفط. إنَّ الغاية من هذا النوع من الماصَّات هي استعمالها لمصِّ أو رشف المواد الكاوية والسامَّة أو المواد التي تُطلِق أو تنشر أبخرة ضارَّة.

4- السحاحة Burette: إنَّ المهمَّة الأساسيَّة للسحاحة هي القياس الدقيق لحجم السائل والمعايرة عند أعمال التحليل الكمّي، ولها عدَّة أنواع من حيث السعة؛ حيث يمكن أن تكون سعاتها **(10,25,50,100mL)**؛ إلا أنَّ أكثرها شيوعاً في الاستخدام

هي السحاحة ذات السعة **(25mL)**، كما تُوجَد سحاحات دقيقة (ذات سعات صغيرة نسبيًّا وتدريجات من مرتبة الميكروليتر)؛ وسعاتها يمكن أن تكون كالآتي: **1mL** و **2mL** و **5mL**.

5- الأرلينة أو الحوجلة: هي كأس زجاجيَّة ذات عنق ضيِّق، تكمن أهمُّ استخداماتها في عمليَّات المعايرة المختلفة وفي عمليَّة رجِّ المحاليل بهدف تأمين التفاعل التام أو المزج التام المتجانس. تُوجَد الأرلينات بأحجام مُختلفة؛ هي الآتية:

(25,50,200,500, 1000mL)

6- الأسطوانة المدرَّجة Cylinder: هي أسطوانة مُدرَّجة بالميلي ليترات أو مُضاعفاتها تبعاً لسعته، وتكون سميكة الجدران ومصنوعة من الزجاج أو من البلاستيك، تُستخدَم في قياس الأحجام المطلوبة لإجراء المعايرة والتفاعلات الكيميائيَّة.

7- الدورق المخروطي أو بالون المعايرة Flask: يُستخدَم هذا النوع من الدوارق من أجل قياس حجم مُحدَّد من السائل المطلوب. تُوجَد على عنقه علامة تدلُّ على مقدار الحجم؛ ويكون بأحجام مُختلفة أيضاً وله قاعدة عريضة من أجل سهولة وضعه على الطاولة بصورة مُستقرَّة.

8- القطَّارة Dropping funnel: يتكوَّن أحد طرفيها من رأس مُدبَّب مسحوب من أنبوب زجاجي موصول إلى مِمص مطَّاطي شافط؛ وتُستخدَم في أخذ أو حقن أو تحديد كميَّة أو حجم صغير من سائل على شكل قطرات.

9- أقماع الترشيح Filtration funnels: تُستخدَم أقماع الترشيح من أجل الترشيح بوساطة أوراق الترشيح، ولصبِّ السوائل من إناء إلى آخر.

10- أقماع الفصل Separatinon funnels: تُستخدَم أقماع الفصل في رجِّ السوائل غير المتمازجة؛ أي من أجل عمليَّة فصلها عن بعضها.

11- زجاج الساعة: هي على شكل زجاجة ساعة دائريَّة بشكل مُجسَّم تتوافر بعدَّة قياسات وتُستخدَم بصورة أساسيَّة في عمليَّات الوزن وتغطية أوعية التسخين، وإجراء التجارب عند استخدام قطرات من المواد المتفاعلة، كما تُستخدَم لحفظ أوراق الاختبار.

12- قضيب زجاجي glass rod: يُستخدَم لخلط (مزج) المحاليل ونقل الرواسب.

13- المِحقن Wash-bottle: يُستخدَم لغسل الرواسب في أوراق الترشيح وشطف الأوعية وتنظيفها.

14- حامل ثلاثي القوائم Triangle: يُستخدَم مع شبكة معدنيَّة لتسهيل تسخين الأوعية بلهب الموقد (المصباح) الغازي.

15- حامل أنابيب الاختبار.

16- حامل لتسخين أنابيب الاختبار.

17- المثفِّلة Centrifugal machine: تُستخدَم للتثفيل بطريقة الطرد المركزي.

18- المواقد Burners: تُستخدَم المواقد للتسخين، ولها أنواع مُختلفة والتي تسمح بتأمين الحرارة في مخبر الكيمياء، نذكر منها:

مصباح بنزن، مصباح تيكل، مواقد الغاز الطبيعي، مواقد النفخ ...الخ.

فيما يلي نعرض أشكال بعض هذه الأدوات:


وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University





مصباح بنزن بسيط

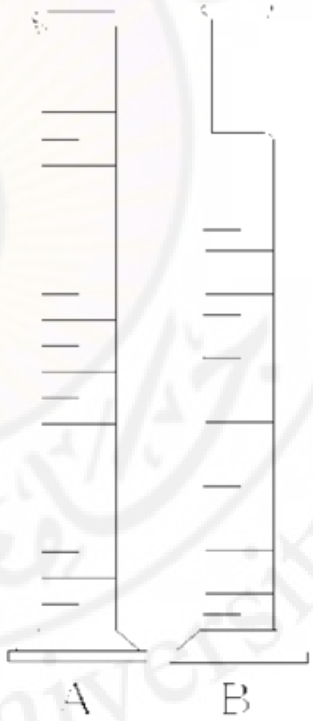


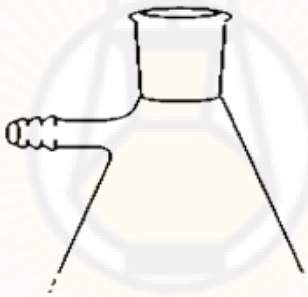
مجموعة من البياشر

Damascus University



دورق حجمي (500mL)


A
B





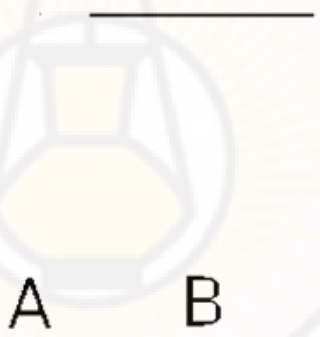

A
B


A
B

قمع



قمع زجاجي ذو قعر مسامي



خلاط مغناطيسي

مِلوَق أو سباتيولا

مِلوَق أو سباتيولا مع مِلعقة

مُثقَّلة

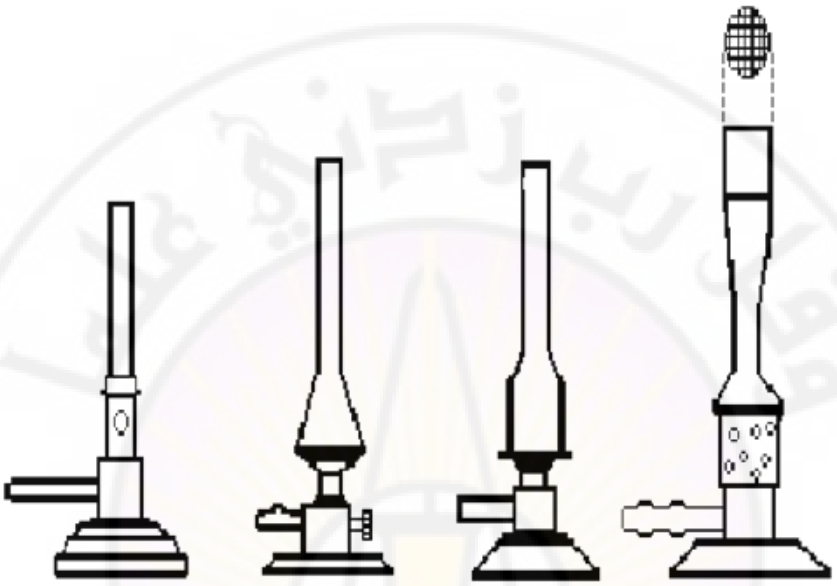
ميزان تحليلي



حمَّام مائي



نوع آخر من الحمَّامات المائيَّة



burners: a) Bunsen, b) Teclo, c) Heinz, d) Meker

بعض أنواع المواقد

Damascus University

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل الثالث

بعض المعلومات عن المحاليل الكيميائيَّة وكيفيَّة تحضيرها، وطرائق التعبير عن تركيز المحاليل، والمعايرات الحجميَّة

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

بعض المعلومات عن المحاليل الكيميائيَّة وكيفيَّة تحضيرها وطرائق التعبير عن تركيز المحاليل والمعايرات الحجميَّة

3-1-تعريف المحلول Defination of solution

المحلول هو مزيج مُتجانس homogenic لمادتين أو أكثر؛ مُختلف ومُتعدِّد المكوِّنات؛ وتتصف كلُّ أجزائه العنصريَّة بصفات كيميائيَّة وفيزيائيَّة واحدة؛ واستناداً إلى ذلك يمكن أن نميِّز عدَّة أنواع من المحاليل، مثل المحاليل الغازيَّة والمحاليل السائلة والمحاليل الصلبة. يتكوَّن المحلول من المادة المحلَّة أو المحِلُّ (المذيب) solvent، ومن المادة المنحلَّة (المذابة) solute؛ علماً أنَّ تحديد أيَّهما المادة المحلَّة والمادة المنحلَّة هو مسألة اصطلاحيَّة؛ ولكن اصطُلِح عادةً أن يكون المحِل هو المادَّة التي تكون بكميَّات أكبر؛ بينما المادة المنحلَّة فتكون بكميَّات أقلَّ. يكون سلوك المواد المكوِّنة للمحاليل مُغايراً لسلوكها وهي في حالتها النقيَّة.

3-2- تركيز المحلول Concentration of solution

يجري تحديد تركيب المحلول من خلال إعطاء تركيز مُكوِّناته. يمكننا التعبير عن تركيز المحلول بعدد غرامات المادَّة المنحلَّة في كميَّة وزنيَّة مُحدَّدة من المحلول (وهذا ما نسمِّيه التركيز الوزني) أو في حجم مُعيَّن من هذا المحلول (وهذا ما نسمِّيه التركيز الحجمي)؛ ويُعبَّر عنه بواحدات مُختلفة؛ مثل: الغرامات، النسبة المئويَّة، المولات وغيرها من الواحدات.

1- وزن المادَّة المنحلَّة في ليتر واحد من المحلول:

يُعبَّر عن التركيز بوحدة g/l، وتُساوي كميَّة المادَّة المنحلَّة؛ مُقدَّرةً بالغرامات في ليتر واحد

من المحلول. إنَّ هذا النوع من التركيز لا يُستخدَم عادةً في الكيمياء التحليليَّة، إلا أنه يُعَدُّ الوحدةَ القياسيَّةَ في الكثير من التطبيقات؛ خصوصاً في مجال الصناعة.

2- التركيز المئوي الوزني Weight Percentage (W%):

يُعرَّف التركيز المئوي الوزني بأنَّه كميَّة المادَّة المنحلَّة (solute)، مُقدَّرةً بالغرامات الموجودة في مئة غرام من المحلول (solution)، أي إنه يُعبِّر عن النسبة المئويَّة للمادَّة في المحلول وزناً؛ ويمكن حسابه من العلاقة الآتية:

$$W\% = \frac{W_i}{W} \times 100$$

حيث إنَّ:

W %: التركيز المئوي الوزني.

Wi: وزن المادة المنحلَّة مقدَّراً بالغرام.

W: وزن المحلول مقدَّراً بالغرام.

فمثلاً إذا كان تركيز محلول مائي من ملح كلور الصوديوم NaCl (7%)، فإنَّ هذا يعني أنَّ كلَّ 100 غرام من هذا المحلول يحتوي على 7 غرامات من ملح كلور الصوديوم النقي و 93 غراماً من الماء.

3- التركيز المئوي الحجمي Volume Percentage (V%) :

يُعرَّف التركيز المئوي الحجمي بأنَّه حجم المادَّة المنحلَّة؛ مُقدَّراً بالميلي ليتر (ml) الموجودة في مئة ميلي ليتر (100 ml) من المحلول، أو بالليتر (L) في مئة ليتر من المحلول (100)؛ ويمكن حسابه من العلاقة الآتية:

$$V\% = \frac{V_i}{V} \times 100$$

حيث إنَّ:

V%: التركيز الحجمي المئوي.

Vi: حجم المادَّة المنحلَّة (ميلي ليتر أو ليتر) .

V: حجم المحلول ككل (ميلي ليتر أو ليتر) .

فإذا كان التركيز المئوي الحجمي لمحلول غاز ثنائي أوكسيد الكربون 0.5%، فهذا يعني أنَّ كلَّ 100 ليتر من هذا المحلول تحتوي على 0.5 ليتر من CO_2، و 99.5 ليتر من الماء.

4- التركيز الجزيئي الحجمي (المولِيَّة أو المولارية) Molarity :

يُعرَّف التركيز الجزيئي الحجمي بأنَّه عدد الجزيئات الغراميَّة (المولات) من المادَّة المنحلَّة الموجودة في ليتر واحد من المحلول و يُرمَز له بالرمز C_M.

ويُعبَّر عن هذا التركيز رياضيَّاً بالعلاقة الآتية:

$$C_M = \frac{n_i}{V}$$

حيث إنَّ:

C_M: التركيز الجزيئي الحجمي؛ وواحدته هي مول/ ليتر.

ni: عدد المولات من المادة المنحلَّة.

V: حجم المحلول، وواحدته هي الليتر.

فمثلاً إذا كان التركيز الجزيئي الحجمي لمحلول مائي من حمض الكبريت 3M، فإنَّ هذا المحلول يحتوي على ثلاثة مولات (294g) من حمض الكبريت والباقي يكون ماءً.

يمكن حساب عدد مولات المادَّة المنحلَّة من العلاقة الآتية:

$$n_i = \frac{Wi}{M_i}$$

حيث إنَّ:

Wi: وزن المادَّة المنحلَّة، مُقدَّراً بالغرام.

Mi: الوزن الجزيئي للمادة المنحلَّة، مقدَّراً بالغرام.

و إذا استبدلنا حجم المحلول بقيمته من العلاقة:

$$V = \frac{W}{d}$$

حيث إنَّ:

W: وزن المحلول، مقدَّراً بالغرام.

d: كثافة المحلول، مقدَّراً بـ g /ℓ.

v: حجم المحلول باللتر.

تصبح العلاقة المعبِّرة عن التركيز الجزيئي الحجمي على النحو الآتي:

$$C_M = \frac{W_i\, d}{M_i W}$$

5- التركيز الجزيئي الوزني (المولاليَّة) Molality :

يُعرَّف التركيز الجزيئي الوزني بأنَّه عدد الجزيئات الغراميَّة (المولات) من المادَّة المنحلَّة في 1000 غرام من المادَّة المحلِّة النقيَّة (1kg)؛ ويُرمَز له بالرمز Cm ويُعبَّر عن ذلك بالعلاقة الرياضية الآتية:

$$C_m = \frac{n_i}{S} \times 1000$$

حيث إنَّ:

ni: عدد مولات المادَّة المنحلَّة.

S: وزن المادَّة المحلِّة (solvent)، مقدَّراً بالغرام.

وباستبدال عدد المولات من العلاقة السابقة بقيمته، يمكن التعبير عن التركيز المولالي بالعلاقة الآتية:

$$C_m = \frac{W_i}{M_i\, S} \times 1000$$

6- العيار أو النظاميَّة Normality وحساب المكافئات الغراميَّة:

1- تعريف العيار (النظاميَّة)

يُعرَّف العيار (أو النظاميَّة) أو التركيز النظامي بأنَّه عدد المكافئات الغراميَّة من المادَّة المنحلَّة في ليتر واحد من المحلول ويُعبَّر عنه رياضيَّاً بالعلاقة الآتية:

$$C_{eq} = \frac{n_{eq}}{V}$$

حيث إنَّ:

Ceq: العيار أو التركيز النظامي، وواحدته مكافئ غرامي/ليتر.

neq: عدد المكافئات الغراميَّة للمادَّة المنحلَّة.

V: حجم المحلول بالليتر.

فإذا كان عيار محلول مائي من هيدروكسيد الصوديوم (2N)؛ فإنَّ هذا المحلول يحتوي على مُكافئين غراميَّين من هيدروكسيد الصوديوم، والباقي يكون ماءً.

يُحسَب عدد المكافئات الغراميَّة للمادَّة المنحلَّة (neq) من العلاقة الآتية:

$$n_{eq} = \frac{W_i}{M_e}$$

حيث إنَّ:

Wi: وزن المادة المنحلَّة، مقدَّراً بالغرام.

Meq: المكافئ الغرامي لهذه المادَّة.

ملاحظة: هناك علاقة بين النظاميَّة والتركيز الجزيئي الحجمي؛ فهما مُتساويان عدديَّاً إذا كانت المادَّة حمضاً أحاديَّ الوظيفة، مثل HCl، أي يُعطي شاردةً واحدةً من الهيدروجين H^+ أو أساساً أحاديَّ الوظيفة، مثل NaOH؛ أي يُعطي جذراً واجداً من OH^- أو ملحاً؛ كلُّ من شقيه أحاديُّ التكافؤ، مثل كلور الصوديوم NaCl. أمَّا إذا كان الحمض يحتوي على شاردتين من الهيدروجين، والأساس على جذرين من الأساس مثلاً؛ فعندها يكون العيار ضعفي التركيز الجزيئي الحجمي؛ وبصورة عامَّة يمكن كتابة العلاقة ما بين العيار والتركيز الجزيئي الحجمي وفق الآتي:

$$N = n\,M$$

حيث إنَّ n هو عدد صحيح يساوي عدد شوارد الهيدروجين H^+ التي تُعطيها جزيئة واحدة من الحمض، أو عدد جذور الهيدروكسيل OH^- التي تعطيها جزيئة واحدة من الأساس.

2- المكافئات الغراميَّة (أو الأوزان المكافئة) Gram- equivalents

لا بدَّ في البداية من التأكيد على أنَّ المكافئ الغرامي لمادَّة ما لا يكون ثابتاً؛ بل تتغيَّر قيمته تبعاً لدخول المادَّة في التفاعلات الكيميائيَّة. سوف نقوم بتعريف وحساب المكافئات الغراميَّة لكلٍّ من العناصر والحموض والأسس والأملاح.

* المكافئ الغرامي لعنصر:

يُعرَّف المكافئ الغرامي لعنصر بأنَّه الوزن من هذا العنصر (مُقدَّراً بالغرام)، الذي يحلُّ محلَّ أو يتَّحد مع 1.008 غرام من الهيدروجين أو 8 غرامات من الأوكسجين؛ ويُساوي كتلته الذريَّة مقسومةً على تكافئه الكيميائي في المركَّب.

أمثلة:

المكافئ الغرامي للصوديوم Na في مُركَّباته يُساوي:

$$M_{eq} = \frac{23}{1} = 23g$$

والمكافئ الغرامي للبوتاسيوم K في مُركَّباته يُساوي:

$$M_{eq} = \frac{39}{1} = 39g$$

والمكافئ الغرامي للفضَّة Ag في مُركَّباتها يُساوي:

$$M_{eq} = \frac{108}{1} = 108g$$

والمكافئ الغرامي للكالسيوم Ca في مُركَّباته يساوي:

$$M_{eq} = \frac{40}{2} = 20$$

والمكافئ الغرامي للزنك Zn في مُركّباته يُساوي:

$$M_{eq} = \frac{65}{2} = 32.5g$$

والمكافئ الغرامي للألمنيوم Al في مُركّباته يساوي:

$$M_{eq} = \frac{27}{3} = 9g$$

*** المكافئ الغرامي للحمض:**

المكافئ الغرامي لحمض يُساوي كتلته الجزيئيّة مقسومةً على عدد شوارد الهيدروجين المتفاعلة في جزيئة واحدة من هذا الحمض.

أمثلة:

المكافئ الغرامي لحمض كلور الماء HCl يُساوي:

$$M_{eq} = \frac{36.5}{1} = 36.5g$$

والمكافئ الغرامي لحمض الكبريت H_2SO_4 يُساوي:

$$M_{eq} = \frac{98}{2} = 49g$$

والمكافئ الغرامي لحمض أورتو الفوسفور H_3PO_4 يُساوي:

$$M_{eq} = \frac{98}{3} = 32.7g$$

*** المكافئ الغرامي للأساس:**

المكافئ الغرامي لأساس يُساوي كتلته الجزيئيَّة مقسومةً على عدد شوارد الهيدروكسيد المتفاعلة في جزيء واحد من هذا الأساس.

أمثلة:

والمكافئ الغرامي لهيدروكسيد الصوديوم NaOH يُساوي:

$$\mathbf{M_{eq} = \frac{40}{1} = 40g}$$

المكافئ الغرامي لهيدروكسيد البوتاسيوم KOH يُساوي:

$$\mathbf{M_{eq} = \frac{56}{1} = 56g}$$

والمكافئ الغرامي لهيدروكسيد الكالسيوم $Ca(OH)_2$ يُساوي:

$$\mathbf{M_{eq} = \frac{74}{2} = 37g}$$

والمكافئ الغرامي لهيدروكسيد الزنك $Zn(OH)_2$ يُساوي:

$$\mathbf{M_{eq} = \frac{99}{2} = 49.5g}$$

والمكافئ الغرامي لهيدروكسيد الألمنيوم $Al(OH)_3$ يُساوي:

$$\mathbf{M_{eq} = \frac{78}{3} = 26g}$$

*** المكافئ الغرامي للملح:** يمكن أن يكون الملح إمَّا حامضيَّاً أو ملحاً قاعديَّاً (أساسيَّاً). فالملح الحامضي هو الملح الناتج من تفاعل حمض قوي مع أساس ضعيف.

مثال: ملح كلور الأمونيوم NH_4Cl هو ملح حامضي لأنَّه ناتج من تفاعل حمض كلور الماء HCl مع هيدروكسيد الأمونيوم NH_4OH.

أمَّا الملح القاعدي فهو الملح الناشئ عن تفاعل أساس قوي مع حمض ضعيف.

مثال: ملح كربونات الصوديوم Na_2CO_3 هو ملحٌ قاعديٌّ لأنَّه ناتجٌ من تفاعل هيدروكسيد الصوديوم $NaOH$ مع حمض الكربون H_2CO_3.

كما يمكن أن يكون الملح ملحاً ترسيبيَّاً، مثل نترات الفضة $AgNO_3$ وغيرها.

بناءً على ما سبق يجري حساب المكافئات الغراميَّة للأملاح تبعاً لطبيعة الملح وتفاعلاته.

*** المكافئ الغرامي للملح الحامضي:**

يُعرَّف المكافئ الغرامي للملح الحامضي بأنَّه وزن الملح الذي يتفاعل مع مُكافئ غرامي واحد من أساس؛ أي وزن الملح الذي يتفاعل مع مول واحد من أساس أحادي الوظيفة الأساسية؛ أو نصف مول من أساس ثنائي الوظيفة الأساسية... إلخ. ففي تفاعل كلوريد الأمونيوم NH_4Cl مع هيدروكسيد الصوديوم $NaOH$ الذي يجري وفقاً للمعادلة الآتية:

$$NH_4Cl + NaOH \rightarrow NH_4OH + NaCl$$

يكون المكافئ الغرامي لكلور الأمونيوم مُساوياً:

$$M_{eq} = \frac{58.5}{1} = 58.5g$$

*** المكافئ الغرامي للملح القاعدي:**

يُعرَّف المكافئ الغرامي لملح قاعدي بأنَّه وزن الملح الذي يتفاعل مع مُكافئ غرامي واحد من الحمض، أي وزن الملح الذي يتفاعل مع مول واحد من حمض أحادي الوظيفة الحمضيَّة أو نصف مول من حمض ثنائي الوظيفة الحمضيَّة، الخ. ففي تفاعل كربونات الصوديوم Na_2CO_3 مع حمض كلور الماء HCl مثلاً، الذي يجري وفق المعادلة الآتية:

$$Na_2CO_3 + 2HCl \rightarrow 2NaCl + H_2O + CO_2$$

يكون المكافئ الغرامي لملح كربونات الصوديوم وفق التفاعل السابق مُساوياً:

$$\mathbf{M_{eq} = \frac{106}{2} = 53.g}$$

*** المكافئ الغرامي لملح في تفاعلات الترسيب:**

المكافئ الغرامي لملح في تفاعلات الترسيب هو وزن الملح الذي يحتوي على ذرّة غراميّة من معدن أحادي التكافؤ أو نصف ذرّة غراميّة من معدن ثنائي التكافؤ؛ وبصورة عامّة فإنّ المكافئ الغرامي لملح في تفاعلات الترسيب يُساوي كتلته الجزيئيّة مقسومةً على حاصل جداء عدد ذرّات المعدن الموجودة في جزيئة واحدة من هذا الملح مضروباً بتكافؤ هذا المعدن. نعرض فيما يلي بعض الأمثلة على ذلك؛ وهي الآتية:

المكافئ الغرامي لكلور الصوديوم NaCl يُساوي:

$$\mathbf{M_{eq} = \frac{58.5}{1} = 58.5g}$$

والمكافئ الغرامي لنترات الفضة $AgNO_3$ يُساوي:

$$\mathbf{M_{eq} = \frac{170}{1} = 170.g}$$

والمكافئ الغرامي لكبريتات الحديدي المائيّة $FeSO_4.7H_2O$ يُساوي:

$$\mathbf{M_{eq} = \frac{278}{2} = 139.g}$$

أمَّا المكافئ الغرامي لكبريتات الألمنيوم $Al_2(SO_4)_3$ فيُساوي:

$$M_{eq} = \frac{342}{6} = 114g$$

*** المكافئ الغرامي للمواد المؤكسِدة والمرجِعة:**

تتغيَّر المكافئات الغراميَّة للمواد المؤكسِدة والمرجِعة بحسب دخول هذه المواد في التفاعلات الكيميائيَّة، وتعتمد على التغيُّر في رقم الأكسدة؛ أي على عدد الإلكترونات المأخوذة أو المعطاة الناتجة من تفاعل جزئية واحدة. فمثلاً إنَّ المكافئ الغرامي لفوق منغنات البوتاسيوم $KMnO_4$ عند تفاعلها في الوسط الحمضي والذي يجري وفق المعادلة الآتية:

$$MnO_4^- + 8\,H^+ + 5e^- \rightarrow Mn^{2+} + 4H_2O$$

يكون مُساوياً كتلتها الجزيئيَّة مقسومةً على 5؛ أي:

$$M_{eq} = \frac{158}{5} = 31.6g$$

حيث إنَّ جزيئة واحدة من فوق منغنات البوتاسيوم قد اكتسبت خمسة إلكترونات.

أمَّا المكافئ الغرامي لفوق منغنات البوتاسيوم في تفاعلها في الوسط القلوي الضعيف أو المعتدل الذي يجري وفق المعادلة الآتية:

$$MnO_4^- + 2H_2O + 3e^- \rightarrow MnO_2 + 4OH^-$$

فيكون مُساوياً كتلتها الجزيئيَّة مقسومةً على 3؛ أي:

$$M_{eq} = \frac{158}{3} = 52.7g$$

لأنَّ جزيئةً واحدةً من فوق منغنات البوتاسيوم قد اكتسبت ثلاثة إلكترونات.

أمَّا المكافئ الغرامي لفوق منغنات البوتاسيوم في تفاعلها في الوسط القلوي القوي الذي يجري تبعاً للمعادلة الآتية:

$$MnO_4^- + 2O\,H^- + 1e^- \rightarrow MnO_4^{2-} + H_2O$$

فيكون مُساوياً كتلتها الجزيئيَّة مقسومةً على 1؛ أي:

$$M_{eq} = \frac{158}{1} = 158g$$

لأنَّ جزيئةً واحدةً من فوق منغنات البوتاسيوم قد اكتسبت في هذا التفاعل إلكتروناً واحداً فقط. عند حساب المكافئ الغرامي لثنائي كرومات البوتاسيوم $K_2Cr_2O_7$ عند تفاعلها في وسط حمضي بحسب التفاعل الآتي:

$$Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ + 6e^- \rightarrow 2Cr^{3+} + 7H_2O$$

نلاحظ أنَّ رقم الأكسدة للكروم في ثنائي كرومات البوتاسيوم هو (+6)، وبعد التفاعل أصبح رقم الأكسدة للكروم (+3) من أجل ذرَّة واحدة. ونظراً لأنَّ ثنائي كرومات البوتاسيوم يحتوي على ذرتين من الكروم، فإنَّ عدد الإلكترونات المكتسَبة من قبل جزيئة واحدة من ثنائي كرومات البوتاسيوم بحسب التفاعل السابق هو ستة إلكترونات؛ ولهذا فإنَّ المكافئ الغرامي لثنائي كرومات البوتاسيوم بحسب التفاعل السابق يُساوي كتلته الجزيئيَّة مقسومةً على 6؛ أي:

$$M_{eq}\ \frac{294}{6} = 49g$$

أما المكافئ الغرامي لكبريتات الحديدي المائيَّة $FeSO_4.7H_2O$، فيجري حسابه بالطريقة الآتية:

إنَّ كبريتات الحديدي المائيَّة تتفكَّك في المحلول المائي إلى شوارد الحديدي Fe^{2+}، والتي يمكن أن تتأكسد بتخليها عن إلكترون واحد؛ مُتحوِّلةً إلى الحديد ثلاثي التكافؤ Fe^{3+}، فيكون المكافئ الغرامي لها مُساوياً كتلتها الجزيئيَّة مقسومةً على 6؛ أي:

$$M_{eq}\ \frac{278}{1} = 278g$$

7- الكسر المولي Mol fraction (xi) :

يُعرَّف الكسر المولي (xi) بأنَّه نسبة عدد مولات مُكوِّن ما في محلول إلى المجموع الكلي لعدد مولات المواد المكوِّنة للمحلول، ويُعطَى بالعلاقة الآتية:

$$x_i = \frac{n_i}{\sum n}$$

xi: الكسر المولي للمكوِّن i.

ni: عدد مولات المكوِّن i.

$\sum n$: المجموع الكلي لعدد مولات المواد المكوِّنة للمحلول.

مع العلم بأنَّ مجموع الكسور المولية في المحلول يُساوي الواحد، أي:

$$X1+X2+X3+\ldots. = \frac{\sum n_i}{} = 1$$

فإذا كان المحلول مُؤلَّفاً من مُكوِّنين مثلاً، هما A و B، وكان عدد مولات المكوِّن A هو nA، وعدد مولات المكوِّن B هو nB، يكون الكسر المولي لكلٍّ منهما هو:

$$x_A = \frac{n_A}{n_A + n_B}$$

$$x_B = \frac{n_B}{n_A + n_B}$$

وبذلك يكون:

$$xA + xB = 1$$

3-3- المعايرة الحجميَّة

تُعرَّف المعايرة الحجميَّة بأنَّها العمليَّة الكيميائيَّة التي يجري بوساطتها تحديد تركيز أو عيار مادَّة ما مجهولة العيار اعتماداً على تفاعلها مع مادَّة أخرى معلومة العيار؛ ويتمُّ الاستدلال على نهاية التفاعل بإضافة مُشعِر مُلوَّن يتغيَّر لونه عند انتهاء التفاعل والوصول إلى نقطة التكافؤ، أو من خلال تغيُّر لون إحدى المادَّتين المتفاعلتين. إضافةً إلى ذلك فإنَّه يمكن استخدام طرائق أخرى غير لونيَّة من أجل تحديد انتهاء التفاعل، كقياس الناقليَّة الكهربائيَّة مثلاً.

يعتمد مبدأ المعايرة الحجميَّة على أنَّ المواد تتفاعل مع بعضها بنسبة مُكافئاتها الغراميَّة، إذ إنَّ مُكافئاً غراميَّاً واحداً من حمض كلور HCl مثلاً يتفاعل مع مُكافئ غرامي واحد من هيدروكسيد الصوديوم NaOH؛ أي أنَّ 36.5 غراماً من حمض كلور الماء يتفاعل مع 40 غراماً من هيدروكسيد الصوديوم؛ كذلك الأمر فإنَّ مُكافئاً غراميَّاً واحداً من حمض الكبريت H_2SO_4 يتفاعل مع مُكافئ غرامي واحد من هيدروكسيد البوتاسيوم KOH؛ أي أنَّ 49 غراماً من حمض الكبريت تتفاعل مع 56 غراماً من هيدروكسيد البوتاسيوم؛ وهكذا. بناءً على ذلك فإنَّ حجماً مقداره V1 من حمض كلور الماء (أو حمض الكبريت) عياره N1 نظامي، يحتوي على N1V1 مُكافئاً غراميَّاً؛ وحجماً مقداره V2 من هيدروكسيد الصوديوم (أو هيدروكسيد البوتاسيوم) عياره N2 نظامي، يحتوي على N2V2 مُكافئاً غراميَّاً؛ وعند إجراء عمليَّة المعايرة يجب أن يكون عدد المكافئات الغراميَّة للحمض مُساوياً عددَ المكافئات الغراميَّة للأساس؛ وبذلك يمكننا كتابة العلاقة الآتية:

$$N1V1 = N2V2$$

هذا هو القانون الأساسي الذي يُطبَّق في الحسابات في عمليَّات المعايرة؛ ويمكن تعميم العلاقة السابقة عند استخدام عدَّة حموض ذات عيارات مُختلفة لمعايرة عدَّة أسس عياراتها

مُختلفة أيضاً؛ فيكون مجموع المكافئات الغراميَّة للحموض مُساوياً مجموع المكافئات الغراميَّة للأسس؛ أي يُمكننا كتابة العلاقة الآتية:

$$N1V1 + N2V2 + N3V3 + ... = \acute{N}1\acute{V}1+\acute{N}2\acute{V}2+\acute{N}3\acute{V}3+ ....$$

يمكن تطبيق قانون المعايرة على تفاعلات الأكسدة والإرجاع أيضاً، فمُكافئ غرامي واحد من مادَّة مُؤكسِدة يتفاعل مع مُكافئ غرامي واحد من مادَّة مُرجِعة؛ فمثلاً من أجل معايرة محلول حمضي مجهول العيار لا بدَّ من اتباع الخطوات الآتية:

1- تُملأ السحاحة بمحلول من أساس معلوم العيار.

2- يُؤخَذ حجم مُحدَّد (V1) من الحمض المطلوب معرفة عياره، ويُوضَع في بيشر، ثمَّ يُضاف إليه عدَّة قطرات من مُشعِر مُناسب.

3- يُنقَّط محلول الأساس من السحاحة فوق محلول الحمض قطرةً، قطرةً حتى الوصول إلى نقطة التعادل، التي يُستدَلُّ عليها من تغيُّر لون المشعِر. يُسجَّل حجم محلول الأساس المستهلَك للمعايرة؛ وليكن V2، ثمَّ يُحسَب عيار محلول الحمض المطلوب بتطبيق القانون الأساسي في المعايرة.

ملاحظة هامَّة: يجب التوقُّف عن إضافة محلول الأساس من السحاحة عند اللحظة التي يتغيَّر فيها لون المشعِر؛ إذ إنَّ استمرار الإضافة بعد تغيُّر اللون بهدف إظهار اللون بصورة واضحة يُسبِّب خطأً في الحساب؛ لأنَّ أيَّة كميَّة تُضاف بعد تغيُّر اللون هي كميَّة زائدة تُؤدِّي حتماً إلى نتائجَ غير دقيقة.

3-4- المشعِرات (الدلائل) Indicators:

تتضمَّن المعايرات الحمضيَّة-الأساسيَّة تفاعل حمض مع أساس، ويجري استخدام مُشعِر (دليل) لتحديد نقطة التكافؤ الخاصَّة بالتفاعل. تُدعَى هذه النقطة نقطةَ نهاية التفاعل أو نقطة نهاية المعايرة. يُعرَّف المشعِر أو الدليل بأنَّه المادَّة التي تُضاف إلى المحاليل المراد مُعايرتها. يُحدِّد المشعِر بداية ونهاية التفاعل، الحاصِل في هذه المعايرة؛ ويتألَّف من حمض

عضوي ضعيف أو أساس عضوي ضعيف يتغيَّر لونه بحسب ما يكون في الوسط الحمضي أو الوسط القلوي؛ أي بحسب pH الوسط. كما يتغيَّر اللون بحسب ما يكون الدليل في الحالة المتشرِّدة أو غير المتشرِّدة؛ وذلك تبعاً لـ pH الوسط.

لنأخذ على سبيل المثال مُشعِر الفينول فتالئين الذي هو حمض عضوي ضعيف يتشرَّد في المحاليل. تكون جزيئاته عديمة اللون؛ أمَّا شواردد فتكون ذات لون أحمر:

$$HA \rightleftharpoons H^+ + A^-$$

إنَّ إضافة حمض إلى محلول يحتوي على الفينول فتالئين يجعل التوازن السابق ينزاح إلى جهة الفينول فتالئين الجزيئيَّة غير المتشرِّدة؛ وهذا يجعل الفينول فتالئين عديم اللون في المحلول الحمضي. أمَّا عند إضافة محلول قلوي إلى هذا المحلول؛ فإنَّ ذلك يؤدِّي إلى إزاحة التوازن إلى جهة الشوارد وتتلوَّن الشوارد فيه باللون الأحمر.

لنذكر مثالاً آخر هو مُشعِر برتقالي الميتيل الذي هو أساس ضعيف يتشرَّد وفق المعادلة الآتية:

$$XOH \rightleftharpoons X^+ + OH^-$$

إنَّ جزيئات هذا المشعِر ذات لون أصفر، أمَّا شواردد فهي ذات لون أحمر.

إنَّ إضافة أساس إلى المحلول الذي يحتوي على برتقالي الميتيل يؤدِّي إلى انزياح التوازن نحو جزيئاته ويتلوَّن المحلول باللون الأصفر، أمَّا إضافة حمض إلى هذا المحلول فيؤدِّي إلى انزياح التوازن نحو جهة الشوارد وتلوُّنه باللون الأحمر.

وبصورة عامَّة تتشرَّد المشعِرات التي تُستخدَم في المعايرات كما يأتي:

$$HI_n \rightleftharpoons H^+ + I_n^-$$

أمَّا ثابت التشرُّد لهذا المشعِر فيُعطَى من العلاقة الآتية:

$$K_a = \frac{[H^-][I_n^-]}{[HI_n]}$$

يُبيِّن الجدول الآتي بعض المشعِرات المستخدَمة ومجال تغيُّر لونها:

الجدول (3-1): ألوان بعض المشعِرات (الدلائل)

اسم المشعِر	حدود الألوان	مجال تغيُّر اللون بحسب الـ pH	
		الوسط الحمضي	الوسط الأساسي
أزرق التيمول	2.8- 1.2	أحمر	أصفر
الهليانتين	4.4-3.1	أحمر	أصفر
أزرق البروموتيمول	4.6-3	أصفر	أزرق بنفسجي
برتقالي الميتيل	4.4-3.1	أحمر	أصفر برتقالي
عبَّاد الشمس	8.0-5.0	أحمر	أزرق
أحمر الميتيل	6.3-4.2	أحمر	أصفر
الفينول فتالئين	10-8.2	عديم اللون	أحمر
أزرق بروم تيمول	7.6-6	أصفر	أزرق

تعتمد نقطة النهاية التي نلاحظها في المعايرة على المشعِر المستخدَم، وحتى يكون تعيين نقطة النهاية في المعايرة دقيقاً، علينا اختيار المشعِر الذي يكون pK له يُساوي أو يقارب الـ pH في نقطة النهاية.

ولما كان المشعِر حمضاً ضعيفاً أو أساساً ضعيفاً؛ لذلك ينبغي الإقلال من كميَّات المشعِر المضافة إلى المحلول كي لا يُسهِم بتغيُّر ملموس في pH المحلول وتبقى كميَّة المادَّة التي تجري المعايرة بها واللازمة لإحداث تغيُّر اللون في حدودها الدنيا. فتغُّير اللون يكون أكثر

وضوحاً كلَّما كان التركيز أقلَّ، لأنَّ كميَّة الحمض تكون أقلَّ؛ ومع ذلك ينبغي إضافة ما يكفي من المشعِر لإعطاء المحلول لوناً سهل التمييز؛ حيث يُحضَّر عادةً محلول تركيزه بضعة أعشار من المئة (وزن/ حجم) من المشعر ويكتفَى بإضافة نقطتين إلى ثلاث نقاط إلى المحلول الذي تجري معايرته.

3-5- المحاليل الموقية Buffers:

يُعرَّف المحلول الموقي بأنَّه حمض ضعيف مع أحد أملاحه أو أساس ضعيف مع أحد أملاحه. ويتجلَّى دور في الحفاظ على قيمة ثابتة لدرجة الحموضة (pH)؛ أي إنَّه يحدُّ ويقي من تغيُّرات (pH). تُقسَّم المحاليل الموقية إلى نوعين؛ محاليل موقية حمضيَّة ومحاليل موقية قلويَّة. يُعرَّف المحلول الموقي الحمضي بأنَّه المحلول المكوَّن من حمض ضعيف مع أحد أملاحه؛ أما المحلول الموقي القلوي فهو المحلول المكوَّن من أساس ضعيف مع أحد أملاحه. يعمل المحلول الموقي على الحدِّ من قيمة التغيُّر الذي يمكن أن يطرأ على درجة حموضة المحلول أو درجة قلويته، وذلك نتيجةً لإضافة كميات صغيرة من حمض قوي أو أساس قوي إليه، ولهذا السبب يُطلق على المحلول الموقي اسم المحلول المنظِّم أيضاً.

يُعَدُّ محلول حمض الخلّ مع خلات الصوديوم مثالاً نموذجيًّاً للمحلول الموقي الحمضي، إذ إنَّ محلول ملح خلات الصوديوم الشاردي يُقدِّم شاردة الخلات السالبة (CH_3COO^-)، التي تُعَدُّ الأساس المرافق لحمض الخلّ؛ ولذلك تعمل على تعديل أيَّة إضافات قليلة من حمض قوي إلى المحلول، وذلك من خلال قيامها بدور أساس برونشتد فيه؛ أي إنَّ:

$$CH_3COO^- + H_3O^+ \leftrightarrows CH_3COOH + H_2O$$

أمَّا جُزيئات حمض الخلّ غير المتشرِّدة، فإنَّها ستعمل على تعديل أيَّة إضافات قليلة من أساس قوي إليه:

$$CH_3COOH + OH^- \leftrightarrows CH_3COO^- + H_2O$$

لذلك فإنَّ إضافة حمض قوي أو أساس قوي إلى جملة موقية حمضيَّة لن تُغيِّر من قيمة (pH) للمحلول الموقي، إلا بمقدار بسيط نسبياً، ويستمرُّ فعل هذه الوقاية ما دام عدد مولات (H_3O^+) أو (OH^-) المضافة أقلَّ من عدد مولات الخلات أو حمض الخلّ في المحلول. أمَّا إذا استُنزِف أحد هذين المكوِّنين فإنَّ أيَّة إضافة لاحقة من الحمض أو الأساس، سوف تُحدِث تغيُّراً كبيراً في قيمة (pH) المحلول.

كما يُعَدُّ محلول النشادر (NH_3)، مع ملح كلور الأمونيوم (NH_4Cl) مثالاً نموذجيَّاً أيضاً للمحلول الموقي القلوي؛ فهو يُقاوم إلى حدٍّ ما تغيُّر قيمة (pH) للمحلول عند إضافة كميَّات قليلة من حمض قوي أو أساس قوي. فجُزيئات الأساس غير المتشرِّدة تعمل على تعديل أية كميَّة مُضافة من الحمض القوي:

$$NH_3 + H_3O+ \rightarrow NH_4^+ + H_2O$$

كذلك يعمل حمضها المرافق (NH_4^+)، الذي يُقدِّمه الملح (NH_4Cl) المنحلُّ، على تعديل أيَّة كميَّة مُضافة من الأساس القوي:

$$NH_4^+ + OH^- \rightarrow NH_3 + H_2O$$

تجدر الإشارة هنا إلى أنَّه يمكن أن يتكوَّن المحلول الموقي أحياناً من أحد أملاح الحمض الضعيف (بدلاً من الحمض الضعيف نفسه)، مع ملح آخر له. نذكر في هذا المجال المثالين الآتيين؛ وهما: (Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4)

3-6- الحلمهة Hydrolysis: تُعرَّف تفاعلات الحلمهة بأنَّها تلك التفاعلات التي تجري بين الماء وشوارد ملح مُنحَلّ فيه، يتشكَّل بنتيجتها الحمض أو الأساس الضعيف الموافق. فإذا تفاعلت مقادير مُتكافئة من حمض ضعيف، مثل حمض الخلّ (CH_3COOH) ومن أساس قوي مثل هيدروكسيد الصوديوم ($NaOH$)؛ فإنَّ المحلول الملحي المتشكِّل لا يكون مُعتدلاً، بل يكون ذا قلويَّة خفيفة، إذ إنَّ الشاردة السالبة

للملح (الصاعدة أو الأنيون) التي هي شاردة الخلات تُعَدُّ أساساً قويّاً نسبيًّا؛ لأنَّها الأساس المرافق لحمض الخلّ الضعيف، فتتفاعل مع الماء إلى حدٍّ مُعيَّن (تتحلمه)؛ مُشكِّلة شوارد الهيدروكسيد (OH^-) التي يصبح تركيزها أعلى قليلاً من تركيز شوارد (H_3O^+)، ويصبح المحلول بذلك ضعيف القلويّة:

$$CH_3COO^- + H_2O \leftrightarrows CH_3COOH + OH^-$$

فإذا مثَّلنا الشاردة السالبة للملح (الصاعدة) بصورة عامَّة بالرمز (A^-)، فإنَّ معادلة حلمهتها تأخذ الشكل العام الآتي:

$$A^- + H_2O \leftrightarrows HA + OH^-$$

ويُدعَى ثابت التوازن لهذا التفاعل ثابت الحلمهة (Kh):

$$K_h = \frac{[HA][OH^-]}{[A^-]}$$

كذلك فإنَّ ملح كلور الأمونيوم (NH_4Cl)، المتشكِّل من أساس ضعيف هو النشادر مع حمض قوي هو حمض كلور الماء، يُعطي محلولاً ذا حموضة ضعيفة؛ حيث إنَّ الشاردة الموجبة للملح (الهابطة أو الكاتيون)؛ التي هي الشاردة (NH_4^+) والتي تُعدُّ الحمضَ المرافق للأساس الضعيف (NH_3)، هي التي تتفاعل مع الماء، أي إنَّها هي التي تتحلمة:

$$NH_4^+ + H_2O \leftrightarrows NH_3 + H_3O^+$$

إذا مثَّلنا الشاردة الموجبة للملح (الهابطة) بصورة عامة بالرمز (BH^+)، والأساس بالرمز (B)؛ فإنَّ معادلة الحلمهة السابقة تأخذ عندئذ الشكل العام الآتي:

$$BH^+ + H_2O \leftrightarrows B + H_3O^+$$

بصورة مُشابهة لما سبق نستطيع حساب ثابت الحلمهة لهذا التفاعل (Kh).

3-7- تحضير بعض المحاليل الكيميائيَّة:

1- تحضير محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.1N):

يحتوي المحلول العياري من هيدروكسيد الصوديوم على مُكافئ غرامي واحد من هيدروكسيد الصوديوم النقي؛ أي (40g) منه في ليتر من المحلول؛ أمَّا محلول هيدروكسيد الصوديوم ذو العيار (0.1N) فيحتوي على (0.1) مُكافئ غرامي؛ أي (4g) منه في المحلول. يوجَد هيدروكسيد الصوديوم على شكل بلورات غير نقيَّة تحتوي على قليل من الماء في تركيبها؛ ويجري تحضير محلول (0.1N) منه كما يلي:

يؤخَذ 5g من الصود الصلب ويوضَع في دورق معايرة سعة ليتر، ويُضاف بعد ذلك الماء المقطَّر إليها تدريجياً مع الرجِّ المستمرِّ حتى ذوبان المادَّة الصلبة حتى يصبح حجم المحلول ليتراً واحداً. إنَّ المحلول الناتج من هيدروكسيد الصوديوم يزيد عياره عن 0.1N؛ لذلك تجري معايرته لجعله مُساوياً 0.1N. لأجل ذلك نقوم بما يلي:

تُملأ السحاحة بمحلول هيدروكسيد الصوديوم المحضَّر، ثمَّ يؤخَذ بعد ذلك بواسطة ماصَّة ($10Cm^3$) من محلول حمض كلور الماء ذي العيار (0.1N) وتوضَع هذه الكميَّة في دورق حجمي ويُضاف إليها قليلٌ من الماء المقطَّر وقطرتان من دليل برتقالي الميتيل فيتلوَّن المحلول الحمضي باللون الوردي. يُنقَّط محلول هيدروكسيد الصوديوم من السحاحة نقطةً، نقطةً مع التحريك المستمرِّ حتى يتحوَّل اللون الوردي إلى اللون الأصفر فيكون التعادل قد تمَّ. لنفرض أن حجم هيدروكسيد الصوديوم المستعمَل في المعايرة السابقة يساوي ($9.8Cm^3$) أي أنَّ ($10Cm^3$) من محلول حمض كلور الماء (0.1N) عياري قد عُدِّلت بوساطة ($9.8Cm^3$) من محلول الصود ومنه ($1000Cm^3$) من محلول الحمضُ تعدَّل بـ:

$$X=1000\times9.8/10 = 980cm^3\ (NaOH)$$

للحصول على محلول 0.1N عياري من NaOH السابق يؤخذ ($980Cm^3$) من NaOH، ويوضَع في دورق معايرة سعة ليتر ثمَّ يُكمل الحجم بوساطة الماء المقطَّر إلى ليتر؛ وعندها يكون المحلول الناتج هو محلول عياره (0.1N) من هيدروكسيد الصوديوم.

2- تحضير محلول من حمض كلور الماء عياره 0.1N:

يحتوي الليتر من المحلول العياري لحمض كلور الماء على 36.5g (أي مكافئ غرامي واحد) من الحمض النقي. إذا كان حمض كلور الماء التجاري المستعمَل يحتوي على (35.5%) من الحمض النقي الذي تبلغ كثافته ($1.19g/Cm^3$)، فإنَّ الحجم اللازم من حمض كلور الماء التجاري الذي يحتوي على 36.5g من الحمض النقي يساوي:

$$V= 36.5/1.19\times0.355=86.4\ Cm^3$$

لتحضير محلول عياره (0.1N) من حمض كلور الماء السابق يؤخذ ($10Cm^3$) من حمض كلور الماء التجاري بوساطة ماصَّة، توضع هذه الكميَّة في دورق حجمي سعة ليتر، يُضاف إليها الماء حتى يصبح الحجم ليتراً واحداً. إنَّ المحلول الناتج هو محلول عياره أكبر من (0.1N) بقليل؛ ولجعل عياره مُساوياً (0.1N) تماماً؛ فإنَّنا نقوم بما يلي:

تُملأ السحاحة بمحلول الحمض المحضَّر سابقاً، ثمَّ يُؤخذ بوساطة الماصَّة ($10Cm^3$) من محلول كربونات الصوديوم ذات العيار (0.1N)، توضع في دورق حجمي ويُضاف إلى الدورق قليلٌ من الماء المقطَّر وقطرتان من دليل برتقالي الميتيل فيتلوَّن المحلول باللون الأصفر. يُنقَّط محلول الحمض من السحاحة فوق كربونات الصوديوم نقطةً، نقطةً مع التحريك المستمرّ حتى يتحوَّل اللون الأصفر إلى اللون الوردي؛ وهذا دليلٌ على نقطة نهاية المعايرة. لنفرض أنَّ حجم الحمض المستهلَك لمعايرة ($10Cm^3$) من الكربونات يساوي ($9.5Cm^3$)، أي أنَّ ($10Cm^3$) من محلول الكربونات 0.1N تُعدَّل بوساطة Xcm^3 من محلول الحمض ومنه:

$$X=1000\times9.50/10=950cm^3$$

من محلول كلور الماء ذي العيار الذي يفوق العيار 0.1N .

3- تحضير محلول اليود (0.05M):

زِن (5.6g) من بلورات اليود و(20g) من يوديد البوتاسيوم. اسحق اليود في الهاون مع إضافة كميَّات بسيطة من يوديد البوتاسيوم الموزون والماء حتى تمام ذوبان جميع الأجسام الصلبة الموجودة في الهاون [إنَّ I_2 محدود الذوبان في الماء لكنَّه يُشكِّل KI_3 المعقَّد I_3^- الذوَّاب في الماء لدى وجود زيادة من KI] إلى حوالى ($500Cm^3$) وامزج. ابحث عن وجود اليود غير الذائب في المحلول. يُفضَّل ترك محلول اليود طوال الليل، قبل إجراء المعايرة؛ وذلك للتأكُّد من ذوبان كامل اليود، أو أن يُضاف قبل التمديد زيادة من KI حتى ذوبان كامل اليود.

4- تحضير مُشعِر برتقالي الميتيل:

يوجَد هذا المشعِر على شكل حمض حر أو على شكل ملح صوديوم ويجري تحضيره بحلّ (0.5g) من الحمض في ليتر من المحلول، ثم ترشيح المحلول إذا تشكَّل راسب. كما يمكن تحضيره بطريقة أخرى؛ وذلك بحلّ (0.5g) من ملح الحمض في ليتر من الماء ثمَّ إضافة ($15.2Cm^3$) من حمض كلور الماء ذي العيار (0.1N)؛ ثمَّ ترشيح المحلول إذا اقتضى ذلك.

5- تحضير الفينول فتالئين:

حُلَّ (5g) من الفينول فتالئين في ($500Cm^3$) من الإيتانول، ثمَّ أضِف ($500Cm^3$) من الماء؛ مع التحريك المستمرّ ويمكن الترشيح إذا تشكَّل راسب.

•- مسائل غير محلولة:

1- كم غراماً من كلوريد الصوديوم النقي ومن الماء يوجد في 350 غراماً من المحلول المائي له الذي تركيزه المئوي الوزني يساوي (30%)؟

2- احسب التركيز المئوي الوزني لمحلول تمَّ الحصول عليه من حلّ 20 غراماً من السكر في 140 غراماً من الماء؟

3- جرى حلُّ 5 غرامات من كلوريد الألمنيوم في 250 غراماً من الماء. المطلوب حساب التركيز الجزيئي الحجمي والتركيز النظامي (العيار) لهذا المحلول.

4- كم غراماً يجب أن نحلَّ من حمض الكبريت في 3 ليترات من الماء كي نحصل على محلول عياره 2.5 نظامي؟

5- يتألَّف محلول من مولين من حمض الكبريت وثلاثة مولات من الماء. المطلوب حساب الكسور المولية لمكوِّنات هذا المحلول.

6- احسب المكافئات الغرامية لكلٍّ من المركَّبات الآتية: حمض الفوسفور، حمض الآزوت، هيدروكسيد الكالسيوم، نترات البوتاسيوم، كربونات الصوديوم. حمض الكبريت، كلوريد الحديد، كلوريد الحديدي.

7- احسب رقم الأكسدة للكبريت في كلٍّ من المركَّبات الآتية:

$$NaHSO_4,\ H_2S_2O_7,\ (NH_4)HSO_4,\ (NH_4)_2S_2O_8$$

3-8- مُعايرات التعديل بين الحموض والأسس:

عندما تتفاعل الحموض مع الأسس، فإنَّها تعطي أملاحاً. يُعرَّف الحمض بحسب برونستد بأنَّه المادَّة القادرة على منح بروتونات؛ أمَّا الأساس فيُعرَّف على أنَّه المادَّة القادرة على استقبال بروتونات. يمكننا التعبير عن هذه النظريَّة وفق الآتي:

$$\underset{\text{حمض}}{HA} \leftrightarrow \underset{\text{بروتون}}{H^+} + \underset{\text{أساس}}{A^-}$$

$$NH_4^+ \leftrightarrow H^+ + NH_3$$

$$\underset{\text{حمض}}{HCl} \leftrightarrow \underset{\text{بروتون}}{H^+} + \underset{\text{أساس}}{Cl^-}$$

أما بحسب نظريَّة لويس؛ فإنَّ الحمض هو المادَّة القادرة على ضمِّ زوج من الإلكترونات، بينما الأساس هو المادَّة القادرة على منح هذا الزوج من الإلكترونات؛ فبحسب نظريَّة لويس فإنَّ ثنائي أوكسيد الكربون CO_2 لا يحتوي في تركيبته على الهيدروجين، لكنَّه قابل لضمِّ الإلكترونات؛ لذلك فإنَّ له صفاتٍ حمضيَّة، بينما غاز النشادر (NH_3) هو مُركَّب يعطي الإلكترونات عند تفاعله؛ لذلك فإنَّ له صفاتٍ قلويَّة. تستند هذه الحسابات على العلاقة البسيطة الآتية؛ وهي القانون الأساسي في المعايرة الذي أوردناه سابقاً؛ أي:

$$N1V1 = N2V2$$

حيث إنَّ:

N1V1: هو حجم ونظاميَّة المحلول الأول

N2V2: هو حجم ونظاميَّة المحلول الثاني اللازم لمعايرة المحلول الأول.

سنقوم بإجراء تجربتين؛ هما مُعايرة حمض قوي مع أساس قوي، ومُعايرة حمض ضعيف مع أساس قوي.

تجربة (3-1): مُعايرة حمض قوي مع أساس قوي

سنقوم في هذه التجربة بمعايرة حمض الكبريت H_2SO_4 (وهو حمض قوي) مجهول العيار (التركيز) مع هيدروكسيد الصوديوم NaOH (وهو أساس قوي) معلوم العيار (التركيز).

أ- المبدأ النظري للتجربة:

يتفاعل حمض الكبريت H_2SO_4 مع هيدروكسيد الصوديوم NaOH وفق معادلة التفاعل الإجماليَّة الآتية:

$$H_2SO_4 + 2NaOH \rightarrow Na_2SO_4 + 2H_2O$$

إنَّ حمض الكبريت هو حمض قوي ثنائي الوظيفة الحمضيَّة يتشرَّد بصورة تامَّة على مرحلتين وفق المعادلتين الآتيتين:

$$H_2SO_4 + H_2O \leftrightarrow H_3O^+ + HSO_4^-$$

$$H_SO_4^- + H_2O \leftrightarrow H_3O+ + SO_4^{2-}$$

إنَّ مجموع هاتين المعادلتين يعطي المعادلة الأولى السابقة

ب- المواد اللازمة:

حمض الكبريت، هيدروكسيد الصوديوم، مُشعِر برتقالي الميتيل.

ج- الأدوات اللازمة:

سحاحة مُدرَّجة، ماصَّة سعة ($10cm^3$) أو ($25cm^3$)، دورق مخروطي، بيشر.

د- الإجراء التجريبي:

1- تُملأ السحاحة بمحلول من هيدروكسيد الصوديوم ذي العيار (0.1N).

2- تُؤخَذ كميَّة مُحدَّدة من حمض الكبريت مجهول العيار (التركيز)؛ ولتكن ($10cm^3$)، وتُوضَع في دورق المعايرة، ثمَّ تُضاف إليها قطرتان من مُشعِر (دليل) برتقالي الميتيل، فيتلوَّن المحلول باللون الأحمر.

3- يُنقَّط من السحاحة محلول هيدروكسيد الصوديوم ذو العيار (0.1N) إلى محلول حمض الكبريت نقطةً، نقطةً مع التحريك المستمرّ حتى يتحوَّل لون المحلول إلى اللون الأصفر؛ وهذا يدلُّ على انتهاء المعايرة. يُدوَّن حجم هيدروكسيد الصوديوم الذي استُهلِك في المعايرة (V1).

هـ- طريقة الحساب:

يُحسَب عيار محلول حمض الكبريت من تطبيق القانون العام للمعايرة ؛ أي:

$$N1V1 = N2V2$$

حيث إنَّ:

V1: حجم محلول هيدروكسيد الصوديوم المستهلَك في المعايرة؛ ويُقرَأ من السحاحة.

N1: عيار محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.1N) المستهلَك في المعايرة.

N2: عيار محلول حمض الكبريت المستخدَم في المعايرة.

V2: حجم محلول حمض الكبريت المستخدَم في المعايرة

يُحسَب تركيز محلول حمض الكبريت؛ مُقدَّراً بالغرام في الليتر (g/L) من العلاقة الآتية:

$$P = N2M_E$$

حيث إنَّ:

P: تركيز محلول حمض الكبريت مُقدَّراً بالغرام في الليتر (g/L).

N2: عيار محلول حمض الكبريت الذي تمَّ حسابه في التجربة.

ME: المكافئ الغرامي لهيدروكسيد الصوديوم (g).

تجربة (3-2): مُعايرة حمض ضعيف مع أساس قوي

يقوم الطلاب بإجراء مُعايرة حمض الحمَّاض؛ وهو حمض ضعيف مجهول العيار مع هيدروكسيد الصوديوم؛ وهو أساس قوي معلوم العيار.

أ- المبدأ النظري للتجربة:

يتفاعل حمض الحمَّاض ($H_2C_2O_4.2H_2O$) الذي هو حمض ضعيف مع هيدروكسيد الصوديوم وفق معادلتيْ التفاعل الآتية:

$$H_2C_2O_4 + NaOH \rightarrow NaHC_2O_4 + H_2O$$
$$NaHC_2O_4 + NaOH \rightarrow Na_2C_2O_4 + H_2O$$

وتكون المعادلة الإجماليَّة كالآتي:

$$H_2C_2O_4 + 2NaOH \rightarrow Na_2C_2O_4 + 2H_2O$$

ب- الأدوات اللازمة:

سحاحة مُدرَّجة، ماصَّة سعة ($10cm^3$) أو أكثر، دورق مخروطي، بيشر.

جـ- المواد اللازمة: محلول حمض الحمَّاض مجهول العيار، محلول هيدروكسيد الصوديوم ذو العيار (0.1N)، مُشعِر الفينول فتالئين.

د- الإجراء التجريبي:

1- تُملأ السحاحة بمحلول هيدروكسيد الصوديوم (0.1N).

2- يؤخذ ($10cm^3$) من محلول حمض الخمّاض، ويُوضَع في دورق مُعايرة، ثمَّ تُضاف إليه قطرتان من مُشعِر (دليل) الفينول فتالئين، فيبقى كما هو عديم اللون.

3- يُنقَّط من السحاحة محلول هيدروكسيد الصوديوم مع التحريك المستمرّ وبصورة هادئة، حتى ظهور اللون الأحمر الوردي؛ دلالةً على انتهاء المعايرة. يُدوَّن حجم هيدروكسيد الصوديوم اللازم للمعايرة (V1).

هـ- طريقة الحساب:

يُحسَب عيار حمض الخمّاض من القانون العام للمُعايرة:

$$N1V1 = N2V2$$

حيث إنَّ:

N1: عيار محلول هيدروكسيد الصوديوم المستهلَك في المعايرة (0.1N).

V1: حجم محلول هيدروكسيد الصوديوم المستهلَك في المعايرة (يُقرأ هذا الحجم من السحاحة).

N2: عيار محلول حمض الخمّاض مجهول العيار.

V2: حجم محلول حمض الخمّاض المستعمَل في المعايرة.

يُحسَب تركيز حمض الخمّاض؛ مُقدَّراً بـ (g/L) من العلاقة الآتية:

$$P = N2M_E$$

حيث إنَّ:

P: تركيز حمض الخمّاض (g/L).

N2: عيار محلول حمض الخمّاض الذي تمَّ حسابه في التجربة.

M_E: المكافئ الغرامي لحمض الحمَّاض (g).

3-9- مُعايرات تفاعلات الأكسدة والإرجاع:

سنجري تجربة واحدة فقط في هذا المجال؛ وهي ما تُسمَّى المعايرة اليوديَّة.

تجربة (3-3): مُعايرة محلول اليود بمحلول تيو كبريتات الصوديوم

أ- المبدأالنظري:

يتفاعل اليود الحرُّ مع تيو كبريتات الصوديوم وفق التفاعل الآتي:

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

لمعرفة نهاية المعايرة، تجري مُعايرة اليود بتيو كبريتات الصوديوم حتى يصبح لونه أصفر؛ عندها يُضاف مطبوخ النشاء المحضَّر حديثاً؛ فيتلوَّن المحلول باللون الأزرق. نتابع المعايرة حتى زوال اللون الأزرق؛ وهذا يدلُّ على انتهاء المعايرة.

ب- أدوات التجربة:

سحاحة مُدرَّجة، ماصَّة سعة ($10cm^3$)، دورق مخروطي، كأس زجاجي (بيشر).

جـ- المواد الكيميائيَّة اللازمة:

محلول تيوكبريتات الصوديوم (0.1N)، محلول اليود، مطبوخ النشاء.

د- الإجراء التجريبي:

1- تُملأ السحاحة بمحلول تيوكبريتات الصوديوم (0.1N).

2- تُؤخَذ باستخدام ماصَّة كميَّة من محلول اليود البني؛ ولتكنْ ($10cm^3$)، وتُوضَع في دورق مخروطي؛ ثمَّ يُنقَّط محلول تيوكبريتات الصوديوم من السحاحة نقطةً، نقطةً مع التحريك حتى يصبح لون محلول اليود أصفر فاتحاً.

3- يُضاف إلى الدورق قطرات من النشاء فيتلوَّن المحلول باللون الأزرق، ثمَّ يُتابَع تنقيط محلول تيوكبريتات الصوديوم حتى زوال اللون؛ الشيء الذي يدلُّ على انتهاء المعايرة.

هـ- النتائج وطريقة الحساب:

تُقرَأ كميَّة تيوكبريتات الصوديوم المستهلَكة من السحاحة، ويُحسَب عيار اليود بتطبيق القانون الأساسي للمعايرة؛ أي:

$$N1V1 = N2V2$$

ومنه:

$$N2 = N1\ V1/V2$$

حيث إنَّ:

N1: عيار (نظاميَّة) محلول تيوكبريتات الصوديوم.

V1: حجم محلول تيوكبريتات الصوديوم المستهلَك في المعايرة.

N2: عيار (نظاميَّة) اليود.

V2: حجم محلول اليود المستخدَم في المعايرة.

يُعطَى عدد غرامات اليود (P) في الليتر (تركيز اليود) من العلاقة الآتية:

$$P = N2 \times ME$$

$\mathbf{M_E}$: المكافئ الغرامي لليود؛ ويُحسَب بتقسيم الكتلة الجزيئيَّة لليود على عدد الإلكترونات المكتسَبة من قبل جزيئة واحدة منه.

N2: عيار أو نظاميَّة اليود المحسوبة تجريبيًّاً.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل الرابع

السكريَّات

Saccharides

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

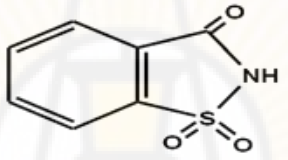
السكريات
Saccharides

4-1- مُقدَّمة

تُعَدُّ السكريَّات ومُشتقَّاتها إحدى أهمِّ المركَّبات العضويَّة وأكثرها انتشاراً في الطبيعة؛ فهي تُشكِّل (80%) من الباقي الجاف للنباتات و (20%) من الباقي الجاف للأجسام الحيَّة الأخرى. تُشارك هذه المركَّبات في جميع عمليَّات النشاط الحيوي للأحياء كافةً عبر سلاسل مُعقَّدة من تحوُّلاتها الكيميائيَّة (استقلاب السكريَّات). تُوجَد السكريَّات في الطبيعة مُنفردةً أو مُتَّحدةً مع البروتينات في الجسم الحي؛ مُشكِّلةً غليكوبروتينات أو مع الليبيدات مُشكِّلةً غليكوليبيدات.

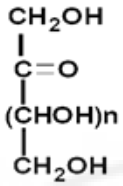
عُرِفَت هذه المركَّبات من قبل العالم الألماني كارول شميت عام 1844 بالكربوهيدرات (مائيَّات الكربون) Carbohydrates؛ لأنَّ المعطيات الأولى عن بنيتها دلَّت كما لو أنَّها ناتجة عن اتحاد الكربون مع كلٍّ من الهيدروجين والأوكسجين بنسبة وجودهما في الماء؛ فالغلوكوز ذو الصيغة $C_6H_{12}O_6$ يبدو كأنَّه $(6C+6H_2O)$، والنشاء $(C_6H_{10}O_5)_n$ يبدو كأنه $(6C+5H_2O)$؛ حيث تكون الصيغة العامَّة للسكريَّات $C_n(H_2O)_m$؛ ولكن مع زيادة المعرفة وتوسيع البحوث والتعرُّف إلى أفراد كثيرة منها تبيَّن أنَّ هذه التسمية غير دقيقة؛ حيث وجد أنَّ هناك بعض السكريَّات تحتوي على نسب من الهيدروجين والأوكسجين لا تتَّفق مع نسبة وجودهما في الماء، كما أنَّ بعض السكريَّات (المركَّبة غير المتجانسة) قد تحتوي أحياناً على عناصر إضافيَّة كالآزوت والكبريت؛ لذلك اقترحت اللجنة الدوليَّة للتسمية استبدال اسم الكربوهيدرات بالغلوسيدات (Glucides)؛ وهي كلمة ذات أصل يوناني مُشتقَّة من الكلمة اليونانيَّة (Glucose)

التي تعني الحلو؛ إلا أنَّ هذه التسمية لم تنتشر على نطاق واسع وإنَّما بقيت تسمية السكريَّات التي ظهرت عام 1944 (وهي مُشتقَّة من الكلمة اللاتينيَّة Saccharum) هي التسمية السائدة. إنَّ السكريَّات النقيَّة هي مُركَّبات مُتبلورة بيضاء اللون، تتفحَّم عند تعرُّضها للحرارة، لا تذوب في الغول أو الإيتر و لكنها تذوب في الماء البارد، لها طعم حلو خصوصاً السكريَّات الأحاديَّة أو الثنائيَّة (عدا السكريَّات المتعدِّدة)، و لكن هذا الطعم الحلو والذي يُعدُّ الميزة الأكثر أهميَّةً في السكريَّات ومُنتجاتها لا يميِّز السكريَّات فقط، بل يتعدَّاه إلى عدد من المركَّبات الأخرى اللاسكريَّة؛ من حيث البنية الكيميائيَّة وذات الطعم الحلو، كالسكرين مثلاً الذي يستخدمه مرضى السكري بدلاً من سكر الطعام.

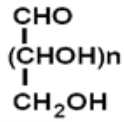


السكريَّات مُركَّبات واسعة الانتشار تتشكَّل نتيجة عمليَّة التركيب الضوئي، ويُعَدُّ النشاء المادة الادخاريَّة الرئيسيَّة في النبات و السليلوز المركَّب البنيوي لجدران الخلايا النباتيَّة.

تنتمي السكريَّات من الناحية الكيميائيَّة إلى مجموعة المركَّبات التي تدخل في تركيبها زمرٌ ألدهيدية أو زمرٌ كيتونية، إضافةً إلى عدد من الجذور الهيدروكسيليَّة (وظائف غوليَّة). تُقسَم السكريات بحسب احتوائها على زمر ألدهيديَّة أو كيتونيَّة إلى ألدوزات، مثل (الريبوز و الغلوكوز..) وإلى كيتوزات، مثل (ثنائي هيدروكسي الأستون والفركتوز ...). تُشكِّل الوظيفة الألدهيديَّة (-CHO) الموقع الطرفي للجزيئة وتأخذ الرقم (1)؛ بينما تُشكِّل الزمرة الكيتونيَّة $>C=O$ الموقع رقم 2.



كيتوزات Ketoses



ألدوزات Aldoses

4-2- تصنيف السكريَّات Classification of Saccharidse

تُقسَم السكريَّات بحسب بنيتها الكيميائيَّة إلى ثلاثة أقسام رئيسيَّة؛ هي:

1- السكريَّات الأحاديَّة Monosaccharides

2- السكريَّات قليلة التعدُّد Oligo saccharides

3- السكريَّات المتعدِّدة Polysaccharides

أولاً- السكريَّات الأحاديَّة Monosaccharides:

تُسمَّى أيضاً السكريَّات البسيطة وتتكوَّن من وحدة واحدة من ألدهيد أو كيتون مُتعدِّد الهيدروكسيل، ولا تخضع للحلمهة؛ أي إنَّها لا تتحوَّل إلى وحدات أصغر بتأثير الشروط الطبيعيَّة.

يعرض الجدول (4-1) أهمَّ السكريَّات البسيطة:

الجدول (4-1): أهمَّ السكريَّات البسيطة

ثريوزات	سكريات ثلاثية الكربون	Trioses	$C_3H_6O_3$
تتروزات	سكريات رباعية الكربون	Tetroses	$C_4H_8O_4$
بنتوزات	سكريات خماسية الكربون	Pentoses	$C_5H_{10}O_5$
هكسوزات	سكريات سداسية الكربون	Hexoses	$C_6H_{12}O_6$
هبتوزات	سكريات سداسية الكربون	Heptoses	$C_7H_{14}O_7$

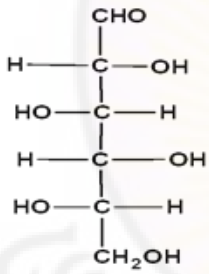
كما يبيِّن الجدول (4-2) أهمَّ الهكسوزات والبنتوزات التي ستكون موضوع دراستنا في التجارب القادمة من هذا الفصل.

الجدول (4-2): أهمّ الهكسوزات و البنتوزات

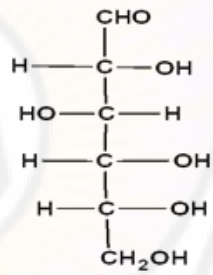
الهكسوزات		البنتوزات	
الغلوكوز أو سكر العنب	Glucose	الريبوز	Ribose
الفركتوز أو سكر الفواكه	Fructose	الأرابينوز	Arabinose
المانوز	Manose	الكسيلوز	Xylose
الغلاكتوز	Galactose		

تُقسَم السكريات الأحاديَّة بحسب التوضُّع الفراغي لكلٍّ من الهيدروكسيل والهيدروجين حول ذرة الكربون غير المتناظرة قبل الأخيرة، و التي تأخذ الرقم /5/ للغلوكوز مثلاً إلى قسمين هما: المجموعة D والمجموعة L؛ وهي أشكال مُتناظرة تُدعَى المتماكبات D و L، ويكون المتماكب D خيالاً للمتماكب L في المرآة.

مثال:

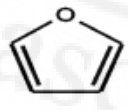


L- غلوكوز (L-Glucose)

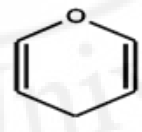


D- غلوكوز(D-Glucose)

تُشكِّل السكريَّات في المحاليل بنيات حلقيَّة خماسيَّة أو سداسيَّة. تُسمَّى الخماسيَّة منها (الفورانوزات)؛ نسبةً إلى الفوران؛ كما تُدعَى السداسيَّة (البيرانوزات)؛ نسبةً إلى البيران.

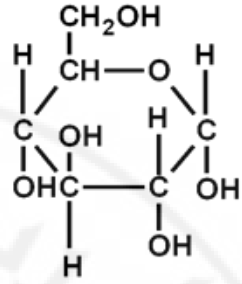


الـ فوران *Furan*



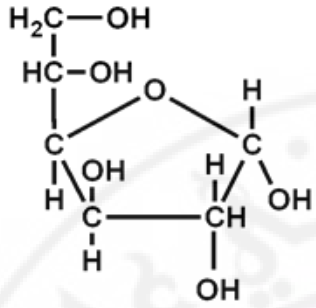
الـ بيران Pyran

فالمحلول المائي للغلوكوز الذي صيغته هي الآتية:



α-D-غلوكوبيرانوز

A-D-Glucopyranose



α-D-غلوكوفورانوز

α-D-Glucofuranose

يحتوي على 99% من الشكل البيرانوزي.

ثانياً– السكريَّات قليلة التعدُّد Oligosaccharides

تضمُّ هذه السكريَّات ما بين جزيئتين إلى عشر جزيئات من الوحدات السكريَّة البسيطة.

من أهمِّ هذه السكريات نذكر:

أ– السكريَّات الثنائية Disaccharides؛ مثل:

السكروز (Sucrose):

المالتوز: (Maltose)

اللاكتوز(Lactose): و يُدعى سكر الحليب.

ب– السكريَّات الثلاثيَّة (ثلاثيات السكاريد) Trisaccharides

نذكر منها كمثال الرافينوز $C_{18}H_{32}O_{16}$

أ– السكريَّات الثنائيَّة $C_{12}H_{22}O_{11}$:

تتشكَّل السكريَّات الثنائيَّة باتحاد جُزيئتين من سكَّرين أحاديين مُتماثلين أو مُختلفين، وتترابط الحلقات فيها بروابط جسريَّة أوكسيجينيَّة؛ ويكون الارتباط بين زمرة الهيدروكسيل

الأنوميريَّة للسكَّر الأحادي الأول وزمرة هيدروكسيليَّة للسكَّر الأحادي الثاني ويتشكَّل رابط أوزيدي؛ ونميِّز هنا حالتين:

أ- ارتباط زمرة هيدروكسل أنوميريَّة من الأول مع زمرة هيدروكسيل أنوميريَّة من الثاني فينشأ رابط أوزيد-أوزيد؛ علماً أنَّ المركَّب الناتج غير مُرجِع ولا يتمتَّع بخاصيَّة الدوران التبديلي، كما أنَّه لا يُشكِّل الأوزازون.

ب- ارتباط زمرة هيدروكسيل أنوميريَّة من أحدهما مع زمرة هيدروكسيل عاديَّة من الآخر، فينشأ رابط أوزيد-أوز؛ والمركَّب الناتج يكون مُرجِعاً ويتمتَّع بخاصيَّة الدوران التبديلي ويُشكِّل الأوزازون.

نذكر فيما يلي أهمَّ السكَّريَّات الثنائيَّة:

1- السكروز أو سكَّر القصب Sucrose؛ و يُدعَى سكر الطعام.

2- المالتوز Maltose؛ و يُدعى سكر الشعير.

3- اللاكتوز Lactose؛ ويُدعَى سكَّر الحليب

ثالثاً- السكريَّات قليلة التعدُّد Oligosaccharides :

تضمُّ السكريَّات قليلة التعدُّد ما بين ثلاث جزيئات إلى عشر جزيئات من الوحدات السكريَّة البسيطة. من أهمِّ هذه السكريات يمكن أن نذكر السكريَّات الثلاثيَّة (ثلاثيَّات السكاريد Trisaccharides)؛ مثل الرافينوز $C_{18}H_{32}O_{16}$ الذي ينتشر في النباتات ويوجَد في عصير الشوندر السكري بعد بلورة السكروز؛ كما يوجَد في عصارة بعض أشجار الصنوبريَّات وفي بذور القرنيَّات كالفول والبازلاء والفاصولياء. جرى توضيح بنيته بعد عزله وحلمأته بحمض مُمدَّد؛ حيث أعطت جُزيئة واحدة من الرافينوز جُزيئةً واحدة من D- غلوكوز وجُزيئةً واحدة من D- فركتوز وجُزيئةً واحدة من D- غالاكتوز

رابعاً– السكريَّات المتعدِّدة Polysaccharides :

يُعَدُّ النشاء والغليكوجين (النشاء الحيواني) والسليلوز أهمَّ هذه المركَّبات؛ وهي تتألَّف من أعداد كبيرة من غلوكوز و تختلف بخاصيَّاتها الفيزيائيَّة و الكيميائيَّة بصورة واضحة عن خاصيَّات السكريَّات الأحاديَّة والثنائيَّة وقليلة التعدُّد. يمكن لهذه المركَّبات أن تكون خطيَّة أو مُتفرِّعة السلاسل، غير حلولة في الماء أو تشكِّل محاليل غرويَّة.

4-3- الكشف عن السكريَّات البسيطة (الأحاديَّة)

4-3-1- التفاعل بين الحموض المعدنيَّة المركَّزة والسكَّريَّات

للكشف عن السكريَّات لا بدَّ من إجراء تفاعلات الحلمهة التي تتمُّ وفق الآتي:

1- تُحلمِه الحموض المعدنيَّة (المركَّزة أو الممدَّدة) الروابط الغليكوزيديَّة؛ مُعطيةً السكريَّات الأحاديَّة المكوِّنة لها؛ أي:

$$(C_6H_{10}O_5)_n + n\,H_2O \rightarrow n\,C_6H_{12}O_6$$

2- ينتزع الحمض المعدني المركَّز ثلاث جزيئات ماء من جزيئة السكر الأحادي (بلمهة)؛ حيث يتشكَّل الفورفورال (Furfural) إذا كان السكَّر الأحادي سكَّراً خماسيَّاً (Pentose)، و يتشكَّل نتيجة ذلك مُركَّب هو 5- هيدروكسي ميتيل فورفورال 5 -Hydroxymethylfurfural إذا كان السكر الأحادي هكسوزاً (سكر سداسي). إنَّ كلا المركَّبين الناتجين كناية عن ألدهيد عطري يتميَّز بتفاعلات التكاثف التي تكون نواتجها مُلوَّنة غالباً؛ كما سنجد في التجارب اللاحقة.

تجربة (4- 1): تأثير الحموض المركَّزة على السكريَّات

تتفكَّك جزيئات السكريَّات بالحموض المعدنيَّة المركَّزة؛ مُعطيةً مزيجاً من نواتج مختلفة؛ مثل الفورفورال أو مُشتقَّاته وحمض الليفولينيك وحمض النمل، ومواد مُقطرَنة بلون دخاني غامق أو أسود قليلة الانحلال في الماء؛ وتنفصل في شروط التجربة على الحدِّ الفاصل بين

الطبقتين. تتفكّك الكيتوزات بالحموض المعدنية بصورة أسرع من الألدوزات؛ ولذلك يمكن استخدام هذا الاختبار للتمييز بين الغلوكوز (ألدوز) والفركتوز (كيتوز).

أ- المواد اللازمة:

محاليل سكريَّة (غلوكوز 1%، فركتوز1%، سكروز 1%)، حمض الكبريت المركَّز، حمض كلور الماء المركَّز.

ب- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار، حامل أنابيب، مِلقط أنابيب، قطَّارة مواد، ماصَّة.

جـ- الإجراء التجريبي:

1- تجربة الحلقة السمراء

ضع 2 مل من محلول الغلوكوز (1%) في أنبوب اختبار واسكب بحذر شديد على جوانبه بعد وضعه بشكل مائل قطرات من حمض الكبريت المركَّز تعادل حجم المحلول السكري تقريباً؛ مُراعياً عدم خلط المادتين السائلتين مع بعضهما. أعِد الأنبوب بهدوء إلى الوضع العمودي ولاحظ تشكُّل طبقتين: الطبقة الأولى في الأسفل؛ وهي حمض الكبريت المركَّز تعلوها طبقة ثانية هي المحلول السكري. تتشكَّل حلقة سمراء على الطبقة الفاصلة بين طبقتيْ المحلولين؛ و إذا لم تتشكَّل قمْ بتحريك الأنبوب قليلاً مع تدفئته بين راحتيْ اليدين دون مزج محتوياته حتى تشكُّل الحلقة السمراء في كلِّ مرَّة. دوِّن ملاحظاتك في دفتر العملي الخاص بك.

2- التفاعل المباشِر بين المحلول السكري و الحمض المركَّز

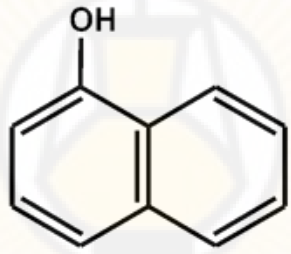
سخِّن قليلاً من محلول الغلوكوز مع 2 مل من حمض كلور الماء المركَّز في أنبوب اختبار حتى درجة الغليان؛ ثمَّ برِّد الأنبوب وأضف إليه ماءً حتى ثلثي ارتفاع الأنبوب. أعِد إجراء

التجربة باستخدام الفركتوز بدلاً من الغلوكوز، ولاحظ أنَّ سرعة تفكُّك الفركتوز بالحمض المعدني أكبر من سرعة تفكُّك الغلوكوز. دوِّن ملاحظاتك.

4-3-2- التفاعلات العامَّة للكشف عن السكريات الأحاديَّة

تكمن الغاية الأساسيَّة من التحليل الكيفي للسكريَّات في دراسة خواصها وخواص مُشتقَّاتها. هناك طرائق مُتعدِّدة لكشف بنية السكريَّات وتحديدها ؛ وذلك بفضل تعدُّد الزمر الوظيفيَّة فيها (الزمر الهيدروكسيليَّة والزمر الألدهيديَّة أو الكيتونيَّة). نورد فيما يلي أهمَّ التجارب العامَّة للكشف عن السكريَّات الأحاديَّة بصورة عامَّة؛ ويشمل ذلك السكريَّات المركَّبة بعد حلمهتها إلى سكريَّات أحاديَّة (بسيطة).

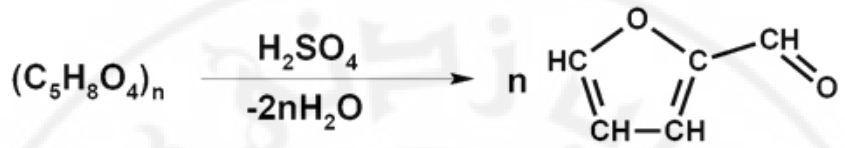
تجربة (4- 2): تفاعل موليش Molisch's Reaction



α -Naphtol

يُعَدُّ هذا التفاعل اختباراً عامَّاً و حسَّاساً في الكشف عن جميع السكريَّات؛ حيث يتشكَّل من تأثير حمض الكبريت على المحلول السكري الفورفورال أو مُشتقَّاته؛ وهي ألدهيدات عطريَّة تتكاثف مع مُركَّب α- نفتول مُعطيةً نواتج ذات لون بنفسجي، ويتشكَّل بصورة أسرع عند الكيتوزات منه عند الألدوزات. تتلوَّن طبقة حمض الكبريت باللون الأخضر غالباً؛ و ذلك نتيجة انحلال α- نفتول في حمض الكبريت. يحصل هذا التفاعل مع السكريَّات الأحاديَّة البسيطة؛ وكذلك مع السكريَّات المركَّبة (قليلة التعدُّد والمتعدِّدة)؛ حيث يجري تفكيك الروابط الغليكوزيديَّة في السكريَّات المركَّبة بوساطة حمض

الكبريت المركَّز ليعطي السكريَّات البسيطة التي تتحوَّل بدورها بوجود حمض الكبريت المركَّز إلى الفورفورال أو مُشتقَّاته نتيجةً لحذف الماء منها (أي البلمهة)؛ كما في المثال الآتي:



فورفورال

أ- المواد اللازمة:

كاشف موليش، حمض الكبريت المركَّز، محاليل سكريَّة مختلفة (غلوكوز 1%، ريبوز 1%، سكروز 1%، نشاء 1%).

*** تحضير كاشف موليش:**

يُحضَّر كاشف موليش بحلّ 10 غرام من α- نفتول في 100 مل من الكلوروفورم أو الغول الإيتيلي.

ب- الأدوات اللازمة:

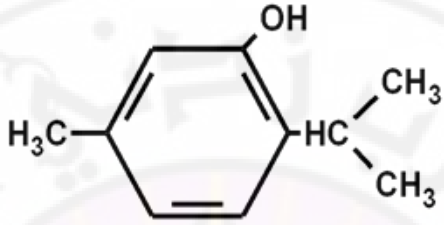
أنابيب اختبار، حامل أنابيب، مِلقط أنابيب، قطَّارة مواد، ماصَّة.

جـ- الإجراء التجريبي:

خذ 1 مل من محلول الغلوكوز (1%) في أنبوب اختبار و أضِف إليها ثلاث قطرات من كاشف موليش و امزج جيداً. قمْ بإمالة الأنبوب بزاوية 45^{o} تقريباً، ثمَّ أضِف إليه نحو 2 مل من حمض الكبريت المركَّز بحذر على جدار الأنبوب؛ بحيث ينساب الحمض إلى قعره، ثمَّ أرجِع الأنبوب إلى وضعه الشاقولي، ولاحظ تشكُّل حلقة حمراء بنفسجيَّة على السطح الفاصل بين طبقة حمض الكبريت و المحلول السكري؛ كما يمكن ظهور طبقة ورديَّة. امزج المحتويات ولاحظ تلوُّنها، كما أنَّك ستشعر بأنَّ المزيج دافئ. أعِد التجربة مع محاليل

سكريَّة أخرى، ثمَّ قمْ بإجراء التجربة الخالية بإضافة ماء فقط بدلاً من المحلول السكري. دوِّن ملاحظاتك في دفتر العملي مع المناقشة.

تجربة (4- 3): تفاعل التيمول Tymol Reaction



التيمول

يشبه هذا التفاعل تفاعل موليش؛ حيث يتشكَّل مُعقَّد ذو لون أحمر على السطح الفاصل بين الطبقتين نتيجة تفاعل التيمول مع الفورفورال أو مشتقاته.

أ- المواد اللازمة:

كاشف التيمول، حمض الكبريت المركَّز، محلول الفركتوز (1%)، محاليل سكريَّة أخرى بتركيز (1%).

*** تحضير كاشف التيمول:**

يُذاب 5 غرامات من التيمول في 100 ميلي ليتر من الإيتانول (95%).

ب- الأدوات اللازمة:

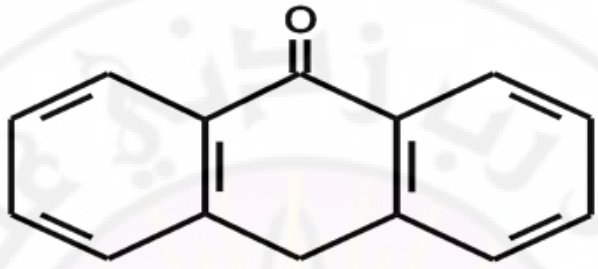
أنابيب اختبار، حمَّام مائي.

جـ- الإجراء التجريبي:

ضع في أنبوب اختبار 1 مل من محلول المادة السكريَّة (فركتوز1%) وأضِف إليه قطرتين من كاشف التيمول وحرِّك جيداً. أمِل الأنبوب بزاوية 45° واسكب على جدرانه حوالى 1 مل من حمض الكبريت الكثيف مع مراعاة عدم مزج محتويات الأنبوب. لاحظ تشكُّل حلقة حمراء اللون على السطح الفاصل بين المحلول وحمض الكبريت. سخِّن على حمَّام

مائي قبل إضافة الحمض إذا لزم الأمر. أعِد التجربة مع المحاليل السكريَّة الأخرى المحضَّرة، ودوِّن ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (4- 4): تفاعل الأنثرون Anthron Reaction



الأنثرون

يُعَدُّ تفاعل الأنثرون من الاختبارات العامَّة لجميع السكريَّات أيضاً؛ حيث يتفاعل مع الفورفورال أو مُشتقَّاته ليعطي مُعقَّداً بلون أخضر مُزرَقّ.

أ- المواد اللازمة:

كاشف الأنثرون، محاليل سكرية مختلفة بتركيز (1%).

ب- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار، حمَّام مائي.

*** تحضير كاشف الأنثرون:**

يُحَلُّ 0.02 غ من الأنثرون في 100 مل من حمض الكبريت ذي التركيز (70%).

جـ- الإجراء التجريبي:

ضع في أنبوب اختبار خمس قطرات من محلول سكري؛ وأضف إليها 2 مل من كاشف الأنثرون، سخِّن في حمام مائي مُدَّة 5- 10 دقائق ولاحظ تغيُّر اللون. أعِد التجربة مع المحاليل السكريَّة المحضَّرة. دوِّن ملاحظاتك في دفتر العملي.

4- 4- التفاعلات الخاصَّة للكشف عن السكريات الأحاديَّة

بعد أن قمنا بدراسة بعض الأمثلة وإجراء بعض التجارب الخاصَّة بالتفاعلات العامَّة للسكريَّات؛ التي تُحدِّد فيما إذا كانت المادة المفحوصة هي سكريَّة أم غير سكريَّة، سنقوم الآن بدراسة أهمِّ التفاعلات الخاصَّة للسكريات والتي يكشف كلٌّ منها أنواعاً مُحدَّدةً من السكريَّات دون غيرها؛ وهذا يساعدنا في التحليل النوعي لمحلول سكري مجهول؛ ولا بدَّ من التأكيد هنا على أنَّه ينبغي البدء بالكشف العام للسكريَّات؛ لأنَّ التفاعلات الخاصَّة قد تكون إيجابيَّة مع بعض المركَّبات غير السكريَّة أيضاً.

تُقسَم التفاعلات الخاصَّة إلى ثلاثة أقسام هي:

1- التفاعلات اللونيَّة.

2- التفاعلات الإرجاعيَّة.

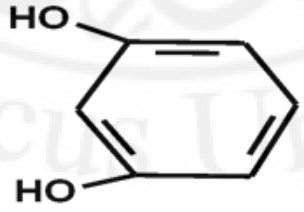
3- التفاعلات الترسيبيَّة.

4- 4-1- التفاعلات اللونيَّة

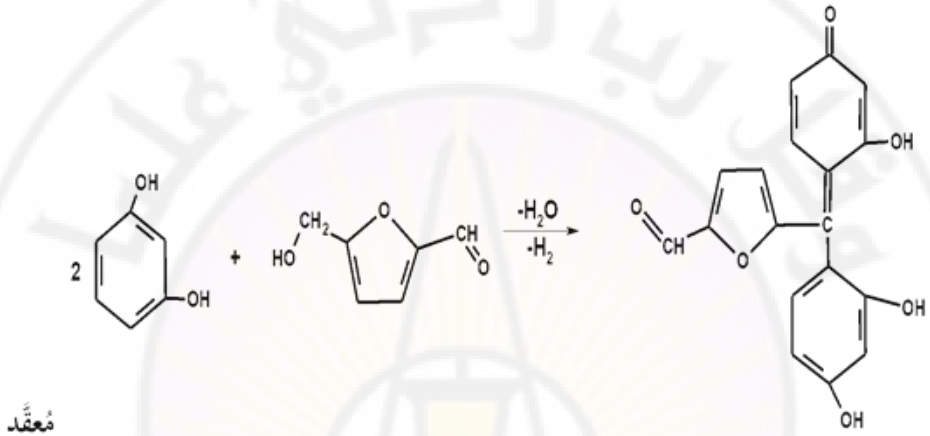
تشبه هذه التفاعلات إلى حدٍ ما التفاعلات العامَّة للكشف عن السكريات التي جرت دراستها سابقاً؛ وسنأتي إلى دراسة أهمِّها:

تجربة (4- 5): تفاعل سليفانوف Seliwanoff's Reaction

يُعَدُّ الريزورسين (أو الريزورسينول) واسمه العلمي هو ميتا ثنائي هيدروكسي فينول كاشفاً لهذا التفاعل. أمَّا صيغته فهي:



يُستخدَم هذا التفاعل للكشف عن الكيتوزات؛ وسنقوم بإجراء هذه التجربة للتمييز بين تأثيره على الكيتوزات (فركتوز) والألدوزات (غلوكوز) من حيث سرعة ظهور ناتج التكاثف؛ حيث إنَّ الريزورسين يتكاثف مع الهيدروكسي ميتيل فورفورال (الناتج من تأثير حمض كلور الماء على محلول الفركتوز أو الغلوكوز)؛ مُعطياً مُعقَّداً بلون أحمر غامق.



مُعقَّد

أحمر اللون 5- هيدروكسي ميتيل فورفورال ريزورسينول

لما كان تحوُّل الكيتوزات (فركتوز) في شروط التجربة إلى هيدروكسي ميتيل فورفورال أسرع بنحو 15- 20 مرَّة من تحوُّل الألدوزات (غلوكوز)؛ فإنَّنا نلاحظ سرعة ظهور اللون الأحمر في محاليل الكيتوزات (فركتوز)، ومع السكروز نتيجة الحلمهة في شروط التجربة إلى الفركتوز و الغلوكوز. أمَّا في حالة الألدوزات (الغلوكوز مثلاً)؛ فتعطي التجربة نتيجة إيجابيَّة؛ ولكن بعد التسخين الطويل؛ وبالتالي فإنَّ التمييز بين الكيتوزات والألدوزات في هذا التفاعل يعتمد بصورة أساسيَّة على عامل الزمن.

أ- المواد اللازمة:

كاشف سليفانوف مُحضَّر حديثاً، محاليل سكريَّة (فركتوز، غلوكوز، سكروز) ذات تركيز (2%).

ب- الأدوات اللازمة: أنابيب اختبار، حمَّام مائي، مصباح بنزن.

*** تحضير كاشف سليفانوف:**

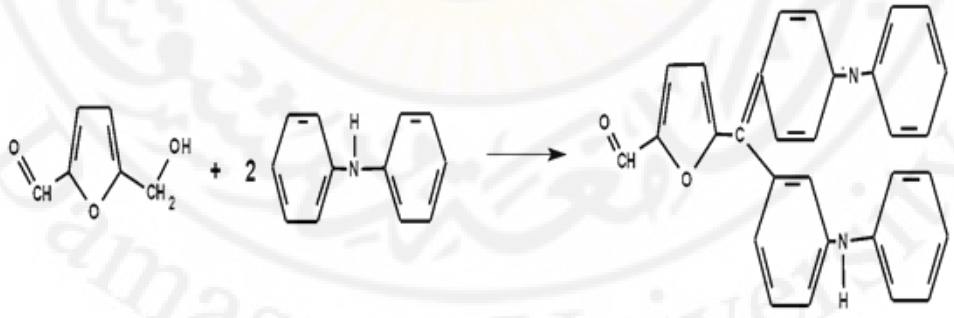
يُذاب 0.01 غ من الريزورسين في 20 مل حمض كلور الماء (20%) المحضَّر حديثاً.

جـ- الإجراء التجريبي:

خذ ثلاثة أنابيب اختبار وضع في كلٍّ منها 1 مل من أحد المحاليل السكريَّة المحضَّرة لهذه التجربة و المذكورة أعلاه، ثمَّ أضف إلى كلٍّ منها 1 مل من كاشف سليفانوف المحضَّر حديثاً. سخِّن في حمَّام مائي بدرجة الغليان لبضع دقائق. هل تتلوَّن محاليل الأنابيب الثلاثة باللون الأحمر ؟ ناقش ذلك. سخِّن بحذر على لهب مصباح بنزن حتى بدء الغليان، ولاحظ كيف تتعكَّر المحاليل التي كانت مُلوَّنة و ينفصل عنها راسب مُلوَّن؛ أمَّا المحاليل الأخرى فتصفرُّ أو تزهر قليلاً. علِّل ذلك ودوِّن ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (4- 6): تفاعل روثنفوزر Rothenfusser's Reaction

يُستخدَم هذا الكاشف أيضاً للكشف عن الكيتوزات السداسيَّة بصورة خاصَّة، ويعتمد على تفاعل التكاثف بين مُشتق الفورفورال (5- هيدروكسي ميتيل فورفورال) الناتج من معالجة الكيتوز بالحمض المركَّز؛ وبين ثنائي فنيل الأمين؛ مُشكِّلاً مُعقَّداً بلون أزرق في وسط حمضي، كما تُبيِّن معادلة التفاعل الآتية:



معقد أزرق اللون ثنائي فنيل الأمين 5- هيدروكسي ميتيل الفورفورال

أ- المواد اللازمة:

كاشف روثنفوزر، محلول فركتوز(1%)، محلول غلوكوز (1%).

* **تحضير كاشف روثنفوزر:**

يؤخَذ 20 مل من محلول (10%) ثنائي فينيل أمين في الإيتانول (95%) و يُضاف إليه 80 مل من حمض الخل الثلجي و 100 مل من حمض كلور الماء المركَّز.

ب- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار، حمَّام مائي.

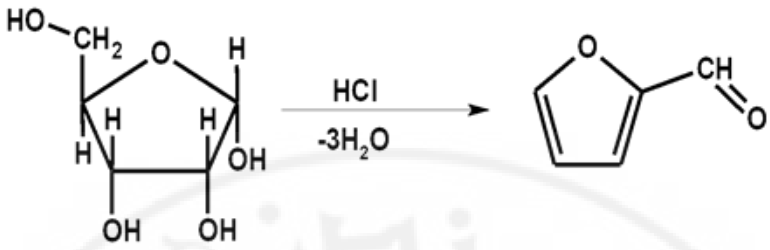
جـ- الإجراء التجريبي:

خذ أنبوبيْ اختبار و ضع في الأول 2 مل من محلول الفركتوز (1%)، و في الثاني 2 مل من محلول الغلوكوز (1%)، ثمَّ أضِف إلى كلٍّ منهما 2 مل من كاشف روثنفوزر. سخِّن في حمَّام مائي مدَّة عشر دقائق. لاحظ تشكُّل المعقَّد الأزرق في الأنبوب الأول.

دوِّن ملاحظاتك في دفتر العملي الخاص بالكيمياء الحيويَّة .

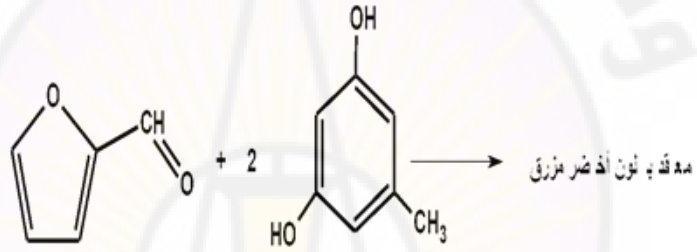
تجربة (4- 7): تفاعل بيال Bial's Reaction

يُستخدَم هذا التفاعل للكشف عن البنتوزات؛ حيث يتشكَّل الفورفورال عند غلي البنتوزات مع حمض كلور الماء المركَّز، و يتكاثف الفورفورال الناتج بدورد مع الأورسين بوجود شوارد الحديد مُعطياً مُعقَّداً بلون أزرق مُخضرّ، وتحتاج كلُّ جزيئة من السكر إلى جزيئتين من الأورسين، كما تُبيِّن المعادلات الآتية:



D- زوتنب)زوبيِر(

ف ورفة ورال



ف ورفة ورال

أور سـ بين

معقد بلون أخضر مزرق

أمَّا في حالة بعض الهسكوزات فيتكاثف هيدروكسي الفورفورال الناتج من تفاعل الهسكوز مع الحمض بالتسخين الطويل مع الأورسين وتظهر ألوان مُعقَّدة.

أ- المواد اللازمة:

كاشف بيال، محلول ريبوز (1%)، محلول الغلوكوز (1%)، محلول الفركتوز (1%)، محلول النشاء (1%) .

*** تحضير كاشف بيال:**

يُحَلُّ 1.5 غ أورسين في 500 مل من حمض كلور الماء المركَّز، ويُضاف إلى المحلول الناتج 10 نقاط من كلور الحديد (10%)؛ وذلك من أجل زيادة حساسية التفاعل. يُحضَّر

محلول كلور الحديد (10%) بإذابة 1 غ من كلور الحديد $FeCl_3$ النقي في 10 مل ماء من المقطَّر.

ب- الأدوات اللازمة: أنابيب اختبار، حمَّام مائي.

جـ- الإجراء التجريبي:

ضع في كلّ أنبوب 0.5 مل من محلول سكري، ثمَّ اسكب فوقها 3 مل من كاشف بيال . رُجَّ الأنابيب و سخِّنها في حمام مائي لمدة عشر دقائق. لاحظ تغيُّرات تشكُّل اللون في كلّ أنبوب والزمن اللازم لذلك. سجِّل وعلِّل النتائج الحاصلة.

تجربة (4- 8): اختبار خلات الأنيلين Aniline Acetate Test

يُستخدَم هذا التفاعل أيضاً للكشف عن البنتوزات؛ حيث يُعَدُّ من أكثر الاختبارات حساسيَّةً للكشف عن السكريات الخماسيَّة. يؤدِّي نزع الماء من البنتوزات في وسط حمضي إلى تشكُّل الفورفورال الذي يتكاثف بدوره مع الأمينات العطريَّة (خلات الأنيلين في هذه التجربة)؛ وهذا يؤدِّي بدوره إلى تشكُّل مُعقَّد ذي لون أحمر كرزي وفق المعادلة:

$$C_6H_5NH-CH=CH-CH=C(OH)\cdot CH=NC_6H_5$$

إنَّ هيدروكسي ميتيل فورفورال، الذي تعطيه الهكسوزات هو أقلُّ تطايراً من الفورفورال؛ ولذلك يُعَدُّ هذا التفاعل حسَّاساً للكشف عن البنتوزات.

أ- المواد اللازمة:

كاشف خلات الأنيلين، محلول ريبوز (2%)، محلول أرابينوز (2%)، محلول غلوكوز (2%)، حمض كلور الماء المركَّز.

*** تحضير كاشف خلات الأنيلين:**

يُضَاف 70 مل من حمض الخلّ الثلجي إلى 170 مل من الماء المقطَّر؛ ثمَّ يُضاف إلى المزيج 100 مل من الأنيلين ويُمزَج جيِّداً.

ب- الأدوات اللازمة: أنابيب اختبار، ورقة ترشيح، حمَّام مائي.

ج- الإجراء التجريبي:

ضع 1 مل من كلٍّ محلول سكري يُراد فحصه في أنبوب اختبار، وأضِف إلى كلٍّ أنبوب 1 مل من حمض كلور الماء المركَّز، أغلق فوهة كلِّ أنبوب بورقة ترشيح مُبلَّلة بعدة نقاط من كاشف الأنيلين (خلات الأنيلين)؛ ثمَّ سخِّن على حمَّام مائي بدرجة الغليان ولاحظ تلوُّن ورق الترشيح. سجِّل نتائجك في دفتر العملي مع التعليل.

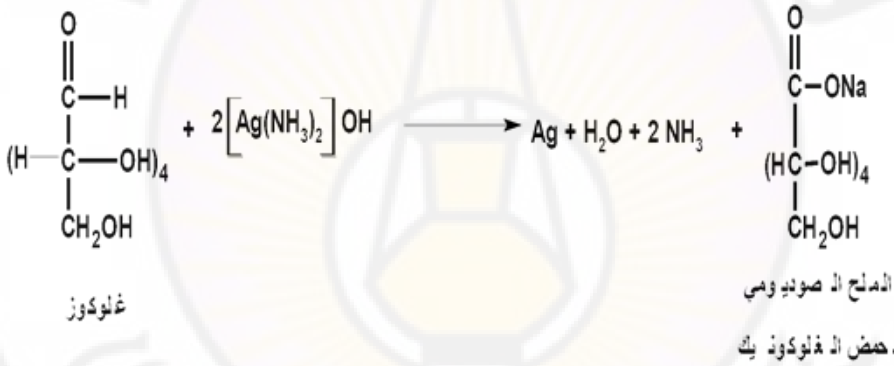
4-4-2- تفاعلات الأكسدة و الإرجاع Redox Reactions

السكريَّات الأحاديَّة كما ذكرنا سابقاً هي مُركَّبات ألدهيديَّة أو كيتونيَّة عديدة الهيدروكسيل، تُرجِع نترات الفضَّة (Ag^{+1}) إلى معدن الفضَّة الحر (Ag^{0})، وتُرجِع هيدروكسيد النحاس (Cu^{+2}) إلى أكسيد النحاسي (Cu^{+1})؛ كما تخضع بعض السكريَّات الثنائيَّة لتفاعلات الأكسدة و الإرجاع، إذا احتوت على زمرة ألدهيديَّة أو كيتونيَّة حرَّة؛ بينما لا يُرجِع السكروز هيدروكسيد النحاس و لا شوارد الفضة؛ ويعود ذلك إلى ارتباط الزمر الوظيفيَّة الألدهيديَّة والكيتونيَّة برابطة غليكوزيديَّة من النموذج (1←2)؛ ولهذا لا يملك السكروز صفة الإرجاع. وبصورة عامَّة يمكننا القول إنَّ السكريَّات الثنائيَّة تكون مُرجِعة أو غير مُرجِعة؛ أمَّا السكريَّات المتعدِّدة فتكون غير مُرجِعة.

تجربة (4- 9): تفاعل تولنز (المرآة الفضية) Tollen's Reaction

يُعَدُّ تفاعلا تولنز و فهلنغ من التفاعلات الشهيرة في الكيمياء العضويَّة والحيويَّة للكشف عن الألدهيدات؛ لأنَّ شوارد الفضَّة (Ag^{+}) هي من المؤكسِدات الضعيفة، وتستطيع أكسدة الزمرة الألدهيديَّة دون غيرها من الزمر الوظيفيَّة. تقوم مجموعة الكربونيل النشيطة، في حالة السكريَّات الأحاديَّة و السكريَّات الثنائيَّة المرجِعة، بإرجاع شاردة الفضَّة النشادريَّة المعقَّدة و تُحوِّلها إلى الفضة المعدنيَّة التي تترسَّب على شكل مرآة إذا أُجري التفاعل في وعاء نظيف جداً.

يُستخدَم هذا التفاعل للتفريق بين السكريَّات المرجِعة والسكريَّات غير المرجِعة؛ لأنَّه لا يعطي نتيجة إيجابيَّة مع السكريَّات الثنائيَّة غير المرجِعة والسكريَّات المتعدِّدة إلا في شروط خاصَّة (زيادة زمن التفاعل أو رفع درجة الحرارة). تفقد السكريَّات غير المرجِعة الخاصَّة الإرجاعيَّة بسبب ارتباط زمرها الألدهيديَّة والكيتونيَّة؛ بعكس السكريَّات الثنائيَّة المرجِعة التي يُسهِم في تشكيل الرابطة الغليكوزيديَّة هيدروكسيل غليكوزيدي واحد، ويبقى الآخر مُحتفِظاً بهيدروكسيله الغليكوزيدي حرًّا. يتأكسد السكر نتيجة هذا التفاعل إلى حمض ألدوني (حمض الغليكونيك في حالة الغلوكوز)؛ وبالنتيجة يتمُّ إرجاع الفضَّة وأكسدة السكر وفق المعادلة الآتية:



غلوكوز

الملح الـ صوديومي

لـ حمض الـ غلوكونيك

أ- المواد اللازمة:

كاشف تولنز (محاليل 1%) للسكريَّات الآتية: الغلوكوز، الفركتوز، الريبوز، المالتوز أو اللاكتوز، السكروز، محلول النشاء.

* تحضير كاشف تولنز:

يُحضَّر بحلّ 3 غ من نترات الفضة في 30 مل من الماء المقطَّر (المحلول A)، و بحَلّ 3 غ من الصود الكاوي NaOH في 30 مل من الماء المقطَّر (المحلول B). يُخلَط المحلولان (A

و B) فقط عندما نريد استعمال الكاشف؛ ثمَّ يُضاف هيدروكسيد الأمونيوم قطرةً بعد قطرة حتى الانحلال التام لأوكسيد الفضَّة.

ملاحظة هامَّة:

يجب عدم تسخين الكاشف؛ كما يجب تحضير الكميَّة اللازمة منه للعمل فقط.

ب- الأدوات اللازمة: أنابيب اختبار نظيفة وجافَّة، حمَّام مائي.

جـ- الإجراء التجريبي:

خذ ستة أنابيب نظيفة و ضع في كلٍ منها 1 مل من كاشف تولنز (ولا تنسَ إضافة هيدروكسيد الأمونيوم إليه) و 1 مل من أحد المحاليل السكرية المراد دراستها. امزج محتويات هذه الأنابيب جيداً، ثمَّ ضع الأنابيب في حمَّام مائي في درجة حرارة تقارب ($40^{o}C$). سجِّل الزمن اللازم لظهور المرآة الفضيَّة اللامعة في كلِّ أنبوب، مع ملاحظة الفرق في ذلك بين السكريَّات الأحاديَّة و الثنائيَّة المرجعة والثنائيَّة غير المرجعة؛ وعدم تشكُّل المرآة مع السكريَّات المتعدِّدة. يجب على الطالب تسجيل نتائج التجارب التي أجراها في دفتر العملي الخاص بذلك وفق الجدول (4-3) الآتي:

الجدول (4-3): ترتيب نتائج تفاعل تولنز على عدد من السكريَّات

المادة (مل)	رقم العيّنة						النتيجة	ملاحظات
	1	2	3	4	5	6		
غلوكوز	1						+	سريع
فركتوز		1					+	سريع
ريبوز			1				+	سريع
لاكتوز				1			+	سريع نسبيًا
سكروز					1		−	يُعطي (+) بالتسخين الأطول أو بدرجة حرارة أعلى من $70\ ^{o}C$
نشاء						1	−	يُعطي (+)بالتسخين لفترة أطول في درجة الغليان

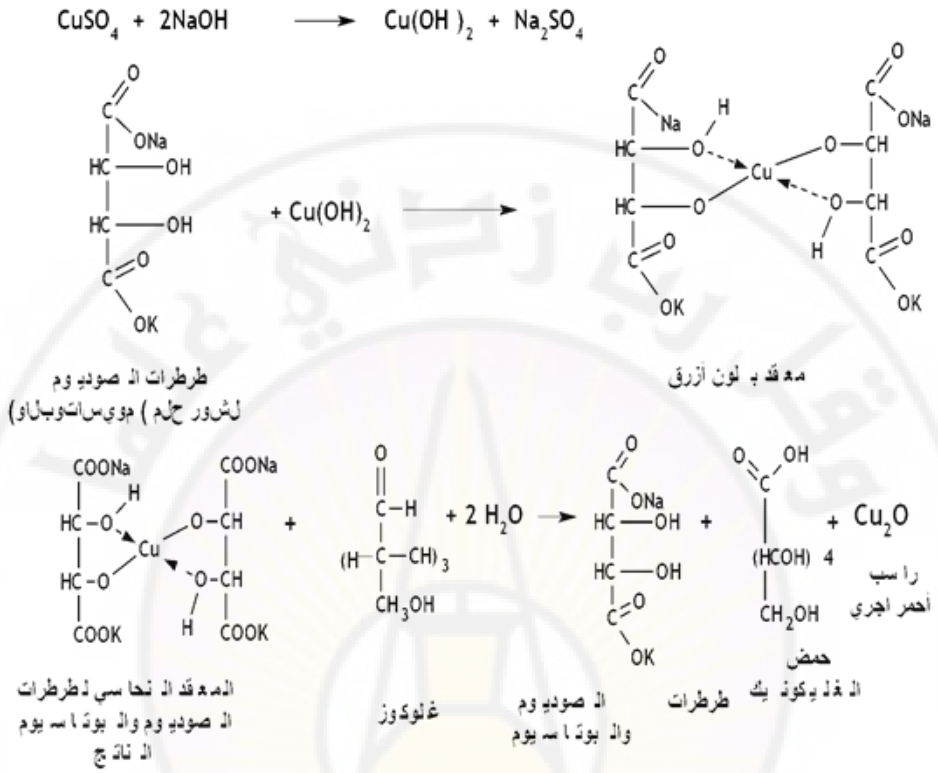
ترمز الإشارة (+) إلى أنَّ نتيجة التفاعل هي إيجابيَّة؛ أمَّا الإشارة (-) فترمز إلى أنَّ نتيجة التفاعل هي سلبيَّة.

ملاحظة:

على الطالب تجنَّب التسخين بشدَّة في هذا التفاعل بسبب تحلمه بعض السكريَّات الثنائيَّة غير المرجِعة (خصوصاً السكروز)؛ مُحرِّرةً السكريَّات الأحاديَّة التي تتفاعل مع كاشف تولنز مُشكِّلةً المرآة الفضية؛ وللتأكُّد من ذلك يمكن إجراء التجربة في حمَّام مائي بدرجة حرارة الغليان تقريبا (أعلى من الدرجة $80\ ^{\circ}C$). سجِّل الزمن اللازم لظهور المرآة الفضيَّة في الأنبوب الذي يحتوي على السكروز، والأنبوب الذي يحتوي على النشاء.

تجربة (4- 10): تفاعل فهلنغ Fehling's Reaction

يعتمد هذا التفاعل على إرجاع شاردة النحاس الثنائيَّة (Cu^{+2})؛ وهي مُؤكسِد ضعيف إلى شاردة النحاسي Cu^{+1} التي تترسَّب على شكل أوكسيد النحاسي Cu_2O ذي اللون الأحمر؛ بوساطة السكريَّات الأحاديَّة أو الثنائيَّة المرجِعة التي تتأكسد بدورها إلى حموض ألدونيَّة (يجري التفاعل في وسط قلوي ضعيف). يلعب ملح طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم (ملح روشل) دورَ المانع لترسيب أوكسيد النحاس CuO ذي اللون الأسود؛ وذلك بربط شوارد النحاس مُشكِّلاً مُعقَّداً بلون أزرق. تُوضِّح المعادلات الآتية مسار التفاعل:



أ- المواد اللازمة:

كاشف فهلنغ (A+B)، محاليل بتراكيز (2%) لكلٍّ من الغلوكوز و الفركتوز و اللاكتوز و السكروز و النشاء.

* تحضير كاشف فهلنغ (A+B):

يتكوَّن كاشف فهلنغ من محلولين هما المحلول A والمحلول B، يُمزجان مع بعضهما بنسب مُتساوية، يتمُّ حفظهما بصورة مُستقلَّة إلى حين الاستعمال.

* تحضير المحلول A:

يُذاب 3.46 غ من كبريتات النحاس المائيَّة ($CuSO_4.5H_2O$) في كميَّة من الماء المقطَّر، ثمَّ يُتمَّم الحجم إلى 50 مل.

*** تحضير المحلول B:**

يُحضَّر هذا المحلول بإذابة 7 غ من هيدروكسيد الصوديوم و 17.3 غ من طرطرات الصوديوم و البوتاسيوم (ملح روشل) في كميَّة من الماء المقطَّر، ثمَّ يُتمَّم إلى 50 مل.

ب- الأدوات اللازمة:

عدَّة أنابيب اختبار نظيفة وجافَّة، حمَّام مائي.

ج- الإجراء التجريبي:

ضع 2 مل من كلّ محلول سكري مُراد فحصه في أنبوب اختبار، وأضِف إلى كلّ أنبوب 2 مل من كاشف فهلنغ (1 مل من محلول A و 1 مل من محلول B)، ثمَّ سخِّن في الحمَّام المائي و راقب ظهور اللون الأحمر الآجري في بعض الأنابيب، وسجِّل الزمن اللازم لظهور هذا اللون في كلّ أنبوب. دوِّن نتائجك في دفتر العملي مع المناقشة والتعليل؛ مُبيِّناً السكريَّات غير المرجعة.

تجربة (4-11): تفاعل بندكت Benedict's Reaction

يُعَدُّ مبدأ هذا التفاعل كمبدأ تفاعل فهلنغ نفسه من حيث إرجاع شوارد النحاس Cu^{+2} إلى شوارد النحاسي Cu^{+1} بوساطة السكريَّات المرجعة؛ مُعطياً راسباً بلون أحمر من أوكسيد النحاسي. إنَّ الفرق بين التفاعلين هو إضافة ليمونات الصوديوم بدلاً من طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم لتشكيل المعقَّد؛ وذلك لمنع ترسُّب أوكسيد النحاس CuO ذي اللون الأسود أثناء الغليان.

أ- المواد اللازمة

كاشف بندكت، محاليل بتراكيز (2%) من الغلوكوز والفركتوز والريبوز واللاكتوز والسكروز.

*** تحضير كاشف بندكت:**

يُحَلُّ 86.5 غ من ليمونات الصوديوم (سيترات الصوديوم) و 50 غ من كربونات الصوديوم اللامائية في 350 مل من الماء المقطَّر. يُرشَّح في حال الضرورة لذلك، ثمَّ يُضاف إلى هذا المحلول محلولٌ مُكوَّن من 8.65 غ من كبريتات النحاس المنحلَّة في 50 مل من الماء المقطَّر، ويُتمَّم الحجم الكلي إلى 500 مل. يجب أن يكون المحلول الناتج رائقاً.

يُحفَظ الكاشف في مكان بارد.

ب- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار نظيفة، حمَّام مائي، أوراق ترشيح.

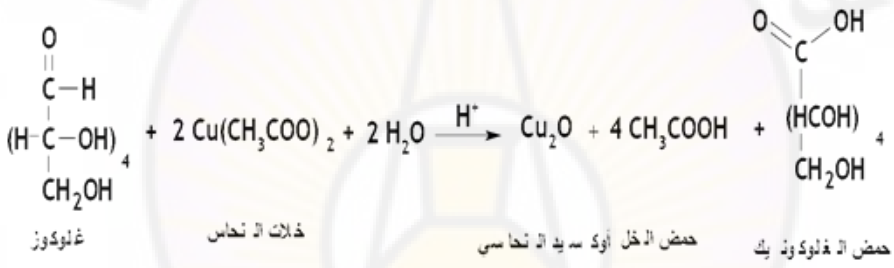
جـ- الإجراء التجريبي:

ضع 10 مل من كلٍّ محلول سكري مُراد دراسته في أنبوب اختبار. أضِف إلى كلِّ أنبوب 2 مل من كاشف بندكت. ضع الأنابيب في حمَّام مائي بدرجة الغليان لبضع دقائق ولاحظ في أيِّ الأنابيب يظهر الراسب الأحمر. سجِّل زمن ظهور الراسب الأحمر، ودوِّن ملاحظاتك في دفتر العملي الخاص بك.

تجربة (4- 12): اختبار بارفويد Barfoed's Test

يُعَدُّ اختبار بارفويد من الاختبارات الخاصَّة بالسكريَّات الأحاديَّة؛ فهو يُستخدَم للتمييز بين السكريَّات الأحاديَّة والسكريَّات الثنائيَّة. يعتمد هذا التفاعل على الخاصيَّة الإرجاعيَّة للسكريَّات الأحاديَّة في وسط حمضي ضعيف؛ حيث تكون أكثر فعاليَّةً في الإرجاع من السكريَّات الثنائيَّة المرجِعة. تعطي السكريَّات الأحاديَّة نتيجةً إيجابيَّة في خلال الدقائق الأولى من الغليان. يجب تجنُّب الغليان مُدَّةً طويلة؛ وذلك لمنع حلمهة السكريَّات الثنائيَّة وإعطاء نتيجة إيجابيَّة. يتكوَّن كاشف بارفويد من محلول خلات النحاس في حمض الخلّ، وتُرجِع السكريَّات الأحاديَّة بغليها مع هذا الكاشف شوارد النحاس Cu^{+2} إلى أوكسيد

النحاسي الأحمر Cu_2O في خلال الدقائق الأولى من الغليان؛ بينما تُرجعها السكريَّات الثنائيَّة المرجعة ببطء شديد مقارنةً مع السكريَّات الأحاديَّة. يُرجع التركيز العالي للسكريَّات الثنائيَّة المرجعة شوارد النحاس في مدَّة أقصر؛ لذلك يجب أن تكون السكريَّات المستعمَلة مُتساويةً في التركيز تقريباً؛ وذلك للتمييز بين المحاليل السكريَّة الأحاديَّة والمحاليل السكريَّة الثنائيَّة المرجعة بوساطة هذا الكاشف. يتأكسد السكر نتيجة هذا التفاعل إلى حمض ألدوني، و الذي يوافق حمض الغلوكونيك في حالة الغلوكوز وفق المعادلة الآتية:



أ- المواد اللازمة:

كاشف بارفويد، محاليل سكريَّة بتراكيز 1% (غلوكوز، فركتوز، ريبوز، لاكتوز، سكروز، نشاء).

*** تحضير كاشف بارفويد:**

يُحَلُّ 13.2 غ من بلورات خلات النحاس في 200 مل من الماء المقطَّر الساخن. يُرشَّح المحلول ويُضاف إليه 1.9 مل من حمض الخلّ المركَّز.

ب- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار نظيفة، حمَّام مائي.

ج- الإجراء التجريبي:

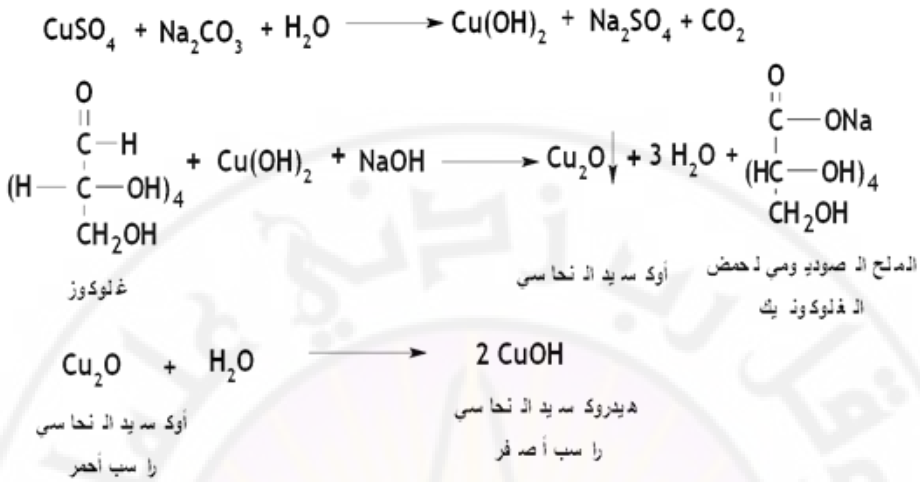
ضع 1 مل من كلٍّ محلول سكري يُراد اختباره في أنبوب اختبار. أضِف إلى كلٍّ أنبوب 5 مل من كاشف بارفويد. امزج محتويات الأنابيب جيداً وضعها في حمَّام مائي بدرجة الغليان لمدَّة خمس دقائق. سجِّل زمن ظهور الراسب في الأنابيب التي يترسَّب فيها Cu_2O، ثمَّ تابع التسخين لمدَّة خمس دقائق أخرى؛ ودوِّن نتائجك وملاحظاتك في دفتر العملي مع المناقشة والتعليل.

ملاحظة:

تقلُّ كميَّة الراسب Cu_2O عن الكميَّة المترسِّبة في الاختبارين السابقين (فهلنغ وبندكت)؛ ولذلك يُفضَّل ترك الأنابيب جانباً ليستقرَّ الراسب في أسفل الأنبوب أو على جدرانه.

تجربة (4- 13): تفاعل كوله Cole Reaction

يشبه هذا التفاعل تفاعل فهلنغ؛ حيث يتمُّ إرجاع هيدروكسيد النحاس بوساطة السكر المرجع مُعطياً راسب أوكسيد النحاسي الأحمر Cu_2O؛ الذي يُشكِّل مع الماء راسباً هو هيدروكسيد النحاسي الأصفر $CuOH$. يُستخدَم الغليسرول (الذي هو غول ثلاثي الهيدروكسيل) لمنع ترسُّب هيدروكسيد النحاس $Cu(OH)_2$ وبقائه بالشكل الشاردي على شكل مُعقَّدات؛ كما تُستعمَل كربونات الصوديوم بدلاً من هيدروكسيد الصوديوم وفق المعادلات الآتية:



أ- المواد اللازمة:

غليسرول، محلول كبريتات النحاس بتركيز (1%)، كربونات الصوديوم، محلول الغلوكوز (1%)، محلول السكروز بتركيز (1%).

ب- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار نظيفة، مصباح بنزن.

جـ- الإجراء التجريبي:

خذ أنبوبيْ اختبار وضع في الأول 3 مل من محلول الغلوكوز (1%) وفي الثاني 3 مل من محلول السكروز (1%)، وأضِف إلى كلٍ منهما بعض حُبيبات من كربونات الصوديوم اللامائيَّة (Na_2Co_3)؛ ثمَّ أضِف إلى كلِّ أنبوب ثلاث قطرات من الغليسرول؛ وقطرتين من محلول كبريتات النحاس (1%) وامزج جيِّداً. سخِّن محتوى الأنبوبين على لهب مصباح بنزن لمدَّة دقيقتين. هل يتشكَّل راسب في كلا الأنبوبين ولماذا ؟ ما لون الراسب المتشكِّل؟ دوِّن ملاحظاتك في دفتر العملي مع كتابة التعليل.

تجربة (4- 14): أكسدة السكريَّات الأحاديَّة باليود

أ- مُقدَّمة نظريَّة:

يجري هذا التفاعل وفق المعادلة الآتية:

$$I_2 + 2NaOH \leftrightarrow NaI + NaOI + H_2O$$

ينزاح التفاعل بشدَّة نحو اليمين في حالة وجود فائض من القلوي، ويزول لون محلول اليود ويظهر مؤكسِد قوي هو ملح حمض تحت اليودي. تتأكسد الألدهيدات بسهولة إلى الحمض الموافق؛ أمَّا الكيتونات فتكون أكسدتها أصعب.

إنَّ الاختلاف في السرعة بين تأكسد الألدوز وتأكسد الكيتوز في الوسط القلوي يكون أقلَّ وضوحاً؛ إلا أنَّها في شروط هذه التجربة يكون وضوحها كافياً. إذا أضفنا الحمض الذي يربط القلوي فإنَّ التفاعل ينزاح نحو اليسار؛ إلا أنَّ الوقت الذي يُتاح قبل إضافة الحمض يكون كافياً لكي يقوم جزء كبير من تحت اليوديت بأكسدة الغلوكوز إلى غلوكونيك؛ ولذلك نلاحظ عند تحميض المزيج عدم تحرُّر يود حر تقريباً، ويختفي ملح تحت اليودي. يتأكسد الفركتوز ببطء أكبر؛ ولهذا فإنَّنا عندما نقوم بتحميض المزيج نلاحظ أنَّ ملح تحت اليودي تقريباً لم ينقص؛ كما نلاحظ تحرُّراً لليود.

يمكن استخدام هذه التجربة في التقدير الكمّي للألدوزات في مزيج من السكريَّات.

إذا تركنا أنبوب الفركتوز مُدَّةً أطول يمكن ملاحظة استهلاك أكبر لتحت اليودي؛ يتجلَّى ذلك بنقصانها بعد التحميض.

ب- المواد والأدوات اللازمة:

محاليل مائيَّة لكلٍّ من الغلوكوز والفركتوز ذات تركيز (2%)، محلول اليود.

جـ- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار، ماصَّة لأخذ مقادير معلومة من المحاليل المطلوبة.

د- الإجراء التحريبي:

خذْ أنبوب اختبار وضع فيه 3 مل من محلول سكَّري، وأضِف إليه بوساطة ماصَّة 0.5 مل من محلول اليود؛ ثمَّ أضِف إلى المحلولين مُباشرةً كميَّة مُماثلة من محلول قلوي مُمدَّد وانتظر حتى اختفاء اللون. قِس الزمن من لحظة إضافة القلوي، واترك الأنابيب مُثبَّتة على حامل أمامك. أضِف بعد مرور 7-8 دقائق 0.5 مل من حمض الكبريت الممدَّد.

قارن التلوُّن الظاهر بين أنبوبيْ الغلوكوز والفركتوز، وسجِّل نتائجك في دفتر العملي.

تجربة (4- 15): أكسدة السكريَّات الأحاديَّة بماء البروم

أ- المبدأ النظري:

تتأكسد السكريَّات الأحاديَّة بالبروم في وسط حمضي ببطءٍ شديد؛ فتتحوَّل الألدوهكسوزات (الغلوكوز مثلاً) في البدء إلى حمض ألدوني (أحادي الكربوكسيل)؛ ثمَّ يستمرُّ التأكسد إلى حمض ألدوني سكري؛ وذلك بتحوُّل الزمرة الألدهيديَّة والزمرة الغوليَّة الطرفيَّة إلى زمرتيْ كربوكسيل. ففي حالة الغلوكوز مثلاً يتشكَّل حمض الغليكونيك بوجود كلوريد الحديد وفق المعادلة الآتية:

$$Br_2 + H_2O \rightleftharpoons HBr + HOBr$$

$$HOH_2C-(CHOH)_4-C(=O)-H + HOBr \longrightarrow HOH_2C-(CHOH)_4-COOH + HBr$$

ينبغي التأكيد هنا على أنَّ الكيتوهكسوزات (الفركتوز مثلاً) تكون أكثر ثباتاً من حيث تأثير المؤكسِدات، فلا يتأكسد الفركتوز في شروط التجربة مع البروم. (تؤدِّي الأكسدة القويَّة إلى حموض هيدروكسيليَّة لها عدد أقلَّ من ذرات الكربون).

ب- المواد اللازمة:

محلول غلوكوز (2%)، محلول فركتوز (2%)، ماء البروم مُشبَع حديث التحضير (3.55% وزناً)، كلوريد الحديد ($FeCl_3$) مُلوَّن بالبنفسجي بإضافة الفينول.

ج- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار نظيفة، حمَّام مائي.

د- الإجراء التجريبي:

خذْ أنبوبيْ اختبار وضعْ في الأول 1 مل غلوكوز و في الثاني 1 مل فركتوز، ثمَّ أضِف إلى كلٍّ منهما 6 مل من ماء البروم المشبَع والمحضَّر حديثاً وامزجْ جيِّداً. سخِّنْ على حمَّام مائي يغلي لمدَّة 15 دقيقة. في حال عدم اختفاء اللون اغلِ المزيج على لهب مصباح بنزن بلطف وبحذر شديد لمدَّة دقيقة حتى اختفاء اللون. برِّد بالماء حتى درجة حرارة الغرفة وأضِف عدَّة نقاط من محلول كلوريد الحديد الملوَّن. قارن بين نتائج الغلوكوز والفركتوز، ثمَّ دوِّن النتائج والملاحظات في دفتر العملي، مع تعليل نتائج التجربة التي حصلت عليها.

ملاحظة هامَّة جداً: يجب إجراء هذه التجربة تحت ساحبة الغازات حصراً.

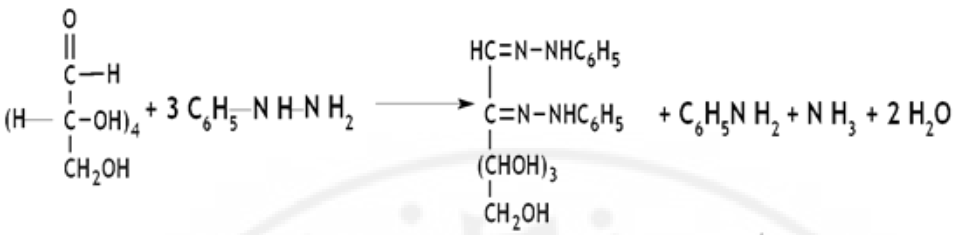
4-4-3- تفاعلات الترسيب

بعد أن تعرَّفنا إلى التفاعلات اللونيَّة والتفاعلات الإرجاعيَّة للسكريَّات سنعرض الآن أحد التفاعلات الترسيبيَّة المميِّزة لأنواع كثيرة من السكريَّات؛ و هو تشكُّل الأوزازونات.

تجربة (4- 16): تشكُّل الأوزازونات

أ- مُقدَّة نظريَّة:

تتشكَّل الأوزازونات نتيجةً لتفاعل الفينيل هيدرازين Phenylhydrazine (وهي مادة سامَّة) مع الزمر الألدهيديَّة والزمر الكيتونيَّة التي تدخل في تركيب السكريَّات؛ علماً أنَّ الأوزازونات هي مُركَّبات بلوريَّة ذات ألوان وأشكال مجهريَّة مميِّزة لكلِّ سكر؛ إذ بلورات الغلوكوزازون مثلاً تتشابه تحت المجهر مع بلورات الفركتوزازون؛ لكنَّها تختلف عن المالتوزازون أو عن اللاكتوزازون.



يجري هذا التفاعل على ثلاث مراحل؛ تتفاعل في كلّ مرحلة جزيئة واحدة من الفينيل هيدرازين، كما هو واضح من صيغة الأوزازون. يشمل التفاعل ذرة الكربون الحاملة لمجموعة الكربونيل والذرة المجاورة لها. تُقدَّر سرعة تشكُّل الأوزازونات الناتجة بصورة تقريبيَّة كما يلي: الفركتوز (دقيقتان)، الغلوكوز (4- 5 دقائق)، الغالاكتوز (15- 20 دقيقة)، اللاكتوز والمالتوز (لا يتشكَّل الراسب إلا بعد 10-15 دقيقة من تبريد المحلول ولا يعطي السكروز أيَّ شيء)؛ ويعود ذلك إلى غياب مجموعة الكربونيل الحرَّة القادرة على التكاثف.

ملاحظة:

نظراً لسميَّة الفينيل هيدرازين السائل، فإنه يُفضَّل استخدام ملح فينيل هيدرازين هيدروكلوريد.

ب- المواد ولأدوات اللازمة:

كاشف الأوزازون، محاليل سكرية بتراكيز 1% (فركتوز، غلوكوز، غالاكتوز، لاكتوز، سكروز)، أنابيب اختبار نظيفة، حمَّام مائي.

ج- الإجراء التجريبي:

خذ عدَّة أنابيب اختبار وضع في كلٍّ منها 5 مل من أحد المحاليل السكريَّة المراد فحصها. حمِّض كلاً منها بعشر قطرات من حمض الخلّ الثلجي المركَّز، ثمَّ أضِف إلى كلّ أنبوب 5

قطرات من فينيل هيدرازين. ضع الأنابيب في حمّام مائي لمدّة ثلاثين دقيقة، وسجّل الوقت اللازم لتشكُّل الأوزازون ذي اللون الأصفر. برّد الأنابيب تحت صنبور الماء، وسجّل الملاحظات والنتائج في دفتر العملي مع كتابة التعليل.



الشكل (4- 1) بلورات الأوزازونات كما تُرى تحت المجهر

ملاحظة:

يمكن فحص الأوزازونات الناتجة تحت المجهر؛ وبذلك نستطيع التعرُّف إلى شكل بلورات كلّ نوع منها بالمقارنة مع الشكل (4-1).

4- 5- مُلخَّص تفاعلات الكشف عن السكريَّات الأحاديَّة

تُجرَى التفاعلات المدوَّنة في الجدول (4- 4) على محاليل مُختلفة من السكريَّات الأحادية، وتُوضَع إشارة زائد (+) إذا كانت نتيجة الاختبار إيجابيَّة؛ أمَّا إذا كانت النتيجة

سلبيَّة فتوضَع إشارة سالب (-)؛ وتُسجَّل الملاحظات في الحقل الخاص بذلك. تُقارَن هذه النتائج مع نتائج التجارب السابقة؛ التي يجب أن تكون مُتطابقة معها.

ملاحظة: يُستفاد من النتائج المدوَّنة في الجدول (4-4) في تحليل مادة سكريَّة أحاديَّة غير معلومة (مجهولة)؛ وذلك بإجراء مُختلِف تجارب هذا الجدول، ويتَّضح من نتائج هذه التجارب بسهولة نوعيَّة السكر المجهول بمقارنتها بالنتائج المدوَّنة في الجدول.

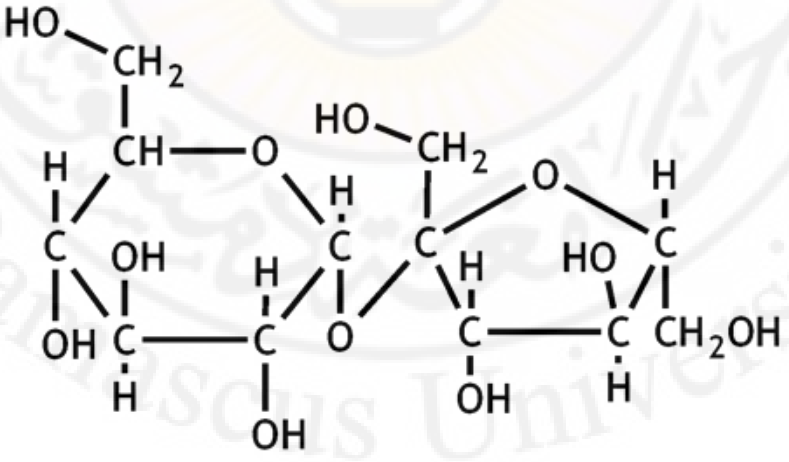
الجدول (4-4) مُلخَّص تفاعلات الكشف عن السكريَات الأحاديَة

التجارب	غلوكوز	فركتوز	مانوز	غالاكتوز	أرابينوز	ريبوز	ملاحظات
1- اختبار موليش							
2- اختبار سلفانوف							
3- اختبار روثنفوزر							
4- اختبار بيال							
5- اختبار التيمول							
6- اختبار فهلنغ							
7- اختبار كوله							
8- اختبار بندكت							
9- اختبار بارفويد							
10- اختبار تولنز							
11- تكوُّن الأوزازون							

4- 6- الكشف عن السكريَّات الثنائيَّة Disaccharides

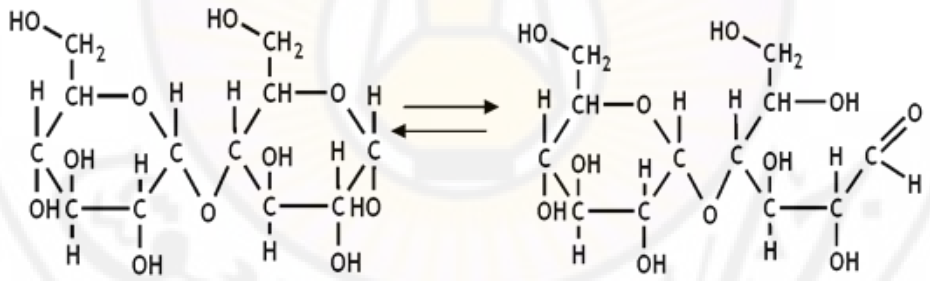
جرت الإشارة إلى هذه السكريَّات وبعض خواصها عند دراسة السكريَّات الأحاديَّة؛ وسندرسها الآن بصورة مُفصَّلة إلى حدٍّ ما.

يعود الفضل في القدرة الإرجاعيَّة (الاختزاليَّة) للسكريَّات إلى الزمرة الألدهيديَّة أو الزمرة الكيتونيَّة الموجودة في السكر الأحادي بشكلٍ حر. تتكوَّن السكريَّات الثنائيَّة من تكاثف سكرين أحاديين مُرتبطين ببعضهما عن طريق ذرة كربون غليكوزيديَّة في السكر الأول مع ذرة كربون غليكوزيديَّة أو هيدروكسيليَّة في السكر الثاني. تتعلَّق القدرة الإرجاعيَّة بعامل الزمن أثناء التفاعل؛ فالسكروز مثلاً هو كناية عن سكر ثنائي يتكوَّن من جزيئة α– D– غلوكوبيرانوز و جزيئة β- D– فركتوفورانوز مُرتبطتين ببعضهما عن طريق الجسر الأوكسجيني بالرابطة (1←2)؛ أي (غليكوزيد– غليكوزيد)؛ بحيث تفقد الجزيئتان القدرة الإرجاعيَّة خلال فترة زمنيَّة قصيرة، فهو لا يحتوي على مجموعة كربونيل أو على تجمُّع للذرات سهلة التحوُّل إلى كربونيل، فقد تمَّ فصل جزيئة ماء من الهيدروكسيلين الغليكوزيديين:



السكروز

يتضح من ذلك عدم وجود مجموعات وظيفيَّة فعَّالة في جزيء السكروز. أمَّا إذا أخضعنا السكروز لتفاعل أطول فيمكن أن تنشطر جزيئة السكروز إلى جزيئتين أحاديتين (بسيطتين) من الغلوكوز والفركتوز، وتعطي عندها نتيجة إيجابيَّة في تفاعلات الإرجاع (كاختبار فهلنغ مثلاً). يتحلَّل المالتوز مائيَّاً ليعطي جزيئتين من α-D- غلوكوز من الشكل البيرانوزي مُرتبطتين مع بعضهما برابطة (غليكوزيد-غلوكوز) من الشكل (1 ← 4)؛ حيث تفقد إحدى الذرتين قدرتها الإرجاعيَّة لارتباط ذرة الكربون الغليكوزيديَّة؛ بينما تحتفظ الذرة الثانية بالقدرة الإرجاعيَّة لوجود ذرة الكربون الغليكوزيدية فيها، أي إنه تُوجَد في جزيئة المالتوز زمرة ألدهيديَّة واحدة؛ حيث يتمُّ فصل جزيئة ماء من الهيدروكسيل الغليكوزيدي في جزيء الغلوكوز الأول على ذرة الكربون (1)، ومن الهيدروكسيل الغولي في جزيء الغلوكوز الثاني على ذرة الكربون (4). يؤدِّي وجود الهدروكسيل الغليكوزيدي إلى إمكانيَّة تفاعل المالتوز بالصيغة التي تُظهِر الصفة الإرجاعيَّة:



الشكل الحلقي للمالتوز

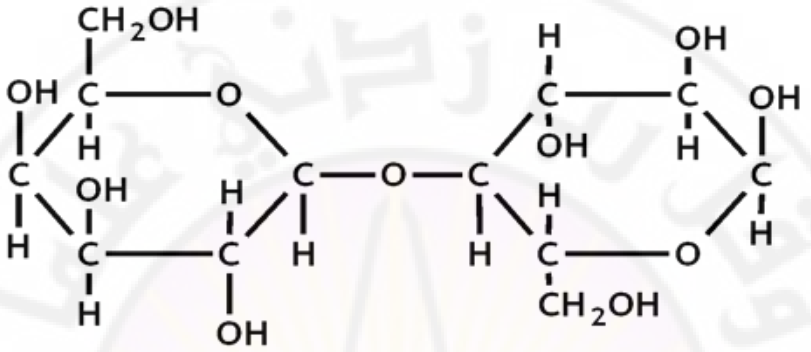
الشكل نصف المفتوح للسكر الثنائي

(الصيغة الألدهيديَّة للمالتوز)

تتألَّف جزيئة اللاكتوز (سكر الحليب) من جزيئة α-D- غلوكوبيرانوز مع جزيئة β-D- غالاكتوبيرانوز تربط بينهما رابطة (1 ← 4)، أي رابطة (غليكوزيد- غلوكوز)؛ وهذا بالضبط ما يُبقي عنده القدرة الإرجاعيَّة.

أمَّا في الترهالوز (Trehalose) فيكون الربط بين جزيئتي α-D- غلوكوبيرانوز بالرابطة غليكوزيد - غليكوزيد أي (1← 1)؛ وهذا يكون الترهالوز غير مُرجِع، ويتفكَّك

بالإماهة الحامضيَّة إلى جزيئتي α- D- غلوكوبيرانوز؛ فهو سكر غير مُرجع يشبه السكروز.



تجربة (4-17): التمييز بين السكريَّات الثنائيَّة المرجِعة والسكريَّات غير المرجِعة

قُمْ بإجراء اختبار الإرجاع (اختبار فهلنغ مثلاً) على محاليل المالتوز (1%)، اللاكتوز (1%)، السكروز (1%). يتشكَّل راسب أحمر من أوكسيد النحاسي Cu_2O في أنبوبيْ المالتوز واللاكتوز بعد التسخين لمدَّة 2-3 دقيقة. تكون النتيجة في الأنبوب الذي يحتوي على السكروز سلبيَّة. علِّل ذلك، وسجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي. يعطي السكروز نتيجة إيجابيَّة فيما لو أُجريت عمليَّة الحلمهة الحامضيَّة ثمَّ التعديل؛ حيث يتحوَّل السكروز إلى مُكوِّناته من السكريَّات الأحاديَّة (غلوكوز +فركتوز).

تجربة (4-18): اختبار كبريتات الكوبالت المميِّز للسكروز

يتفاعل السكروز مع شوارد الكوبالت في وسط قلوي، فينتج لون بنفسجي مُميَّز، يمكن الاعتماد عليه في تمييز السكروز عن بقيَّة السكريَّات الثنائيَّة الأخرى.

أ- المواد اللازمة: محلول كبريتات الكوبالت (2%)، محلول هيدروكسيد الصوديوم أو هيدروكسيد البوتاسيوم (5%)، محاليل سكريَّة 2% (سكروز، مالتوز، لاكتوز).

ب- الإجراء التجريبي:

خذْ ثلاثة أنابيب اختبار وضعْ في كلٍّ منها 1 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم الممدَّد (يُذاب 8 غ من هيدروكسيد الصوديوم الصلبة في 100 مل من الماء المقطَّر).

أضِف إلى كلِّ أنبوب 2 مل من أحد المحاليل السكريَّة المراد دراستها وامزج جيِّداً، ثمَّ أضِف إلى كلِّ أنبوب عدَّة قطرات من محلول كبريتات الكوبالت، ولاحظ ظهور اللون المميِّز في الأنبوب الذي يحتوي على السكروز. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

4-7- مُلخَّص تفاعلات الكشف عن السكريَّات الثنائيَّة

قمْ بإجراء التجارب الواردة في الجدول (4- 5) على كلٍّ من سكر المالتوز واللاكتوز والسكروز، و دوِّن نتائجك بكتابة إشارة (+) عندما يكون الاختبار إيجابيَّاً و بإشارة (-) عندما يكون الاختبار سلبيَّاً. سجِّل ملاحظاتك في الجدول نفسه.

الجدول (4-5): مُلخَّص تفاعلات الكشف عن السكريَّات الثنائية

التجارب	مالتوز	لاكتوز	سكروز	ملاحظات
1- اختبار موليش				
2- اختبار سلفانوف				
3- اختبار روثنفوزر				
4- اختبار بيال				
5- اختبار التيمول				
6- اختبار فهلنغ				
7- اختبار كوله				
8- اختبار بندكت				
9- اختبار بارفويد				
10- اختبار تولنز				

11- تكوّن الأوزازون				
12- اختبـــار كبريتـــات				
13- اختبار اليود				

4-8- الكشف عن السكريّات المتعدِّدة

لقد أشرنا إلى هذا النوع من السكريّات سابقاً، وسنقوم هنا بدراسة أهمّ السكريّات المتعـدِّدة المتجانسـة (Homopolysaccharides)؛ وهـي النشـاء، الديكسـترينات، الغليكوجين و السليلوز.

1- النشاء:

يتألّف النشـاء مـن الأميلـوز (Amylose) بنسـبة وسـطيّة تعـادل (20%) تقريباً، ومـن الأميلـوبكتين (Amylopectine) بنسـبة تعـادل (80-90%)؛ وهـو النـاتج الأخـير لعمليّة التركيب الضوئي عند النباتات. ينحلُّ الأميلوز في الماء ويُعطي لوناً أزرق مع اليود؛ أما الأميلوبكتين فلا ينحلُّ في الماء ويعطي مع اليود لوناً بنفسجيّاً.

إنَّ عـدم انحلاله في الماء هو السبب وراء لزوجة مطبوخ النشـاء. تعطي الحلمهـة الكاملة لكلٍّ من الأميلوز والأميلوبكتين α- D- غلوكوز؛ ولذلك تُكتَب الصيغة العامّة للنشـاء بالشكل: $(C_6H_{10}O_5)_n$. يكـون ارتبـاط جزيئـات الغلوكـوز في الأميلـوز مـن الشـكل (1 ← 4)؛ بحيـث تفقـد القـدرة الإرجاعيّـة. لاحـظ كيـف تتشـكّل الرابطـة (1←4) بـين جزيئات الغلوكوز في الأميلوز (الشكل 1- 2)، مُكوِّنةً سلسلة غير مُتفرِّعة تأخذ شكلاً حلزونياً، وحداتها الأساسيّة هي جزيئة المالتوز؛ لأنَّ الوحدة الأساسيّة هي (جزيئتان α-D - غلوكوبيرانوز). يكـون ربـط جزيئـات الغلوكـوز في الأميلوبكتين مـن النمـوذج (1 ← 4) غليكوزيد، كما تتفرَّع هذه السلسلة أيضاً بروابط فرعيّة من النموذج (1 ← 6) غليكوزيد

(الشكل 4-3)؛ وهذا لا يسمح بوجود فراغ كبير- كما هو الحال في الأميلوز- لتوضُّع جزيئات كثيرة من اليود، ويعطي بالحلمهة نتائج إيجابيَّة مع تفاعلات الإرجاع.

2- الديكسترينات (Dextrines):

تُنتِج الحلمهة غير التامَّة للنشاء سلسلةً من المركَّبات قبل الوصول إلى المرحلة النهائيَّة α- D- غلوكوز تكون وفق الآتي: النشاء المنحلُّ في الماء (الأميلوز) ـ الأريتروديكسترين ـ الاكرووديكسترين ـ المالتو ديكسترين ـ المالتوز ـ وأخيراً α- D- غلوكوز. تختلف هذه الديكسترينات عن بعضها البعض بخواصها الكيمائية، فيعطي الأميلوديكسترين مع اليود لوناً أزرق بنفسجيَّاً، و لا يتمتَّع بخواص إرجاعيَّة؛ بينما يعطي الأريتروديكسترين مع اليود لوناً أحمر وردياً، وتبدأ فيه ظهور خواص إرجاعيَّة ضعيفة. أما الأكروديكسترين فلا يتلوَّن مع اليود وله خواص إرجاعيَّة تساوي تقريباً الخواص الإرجاعيَّة للمالتوز، وخواصه الكيميائيَّة قريبة من خواص المالتوز.

3- الغليكوجين (Glycogen):

يُسمَّى هذا السكر النشاء الحيواني بسبب وجوده كمادَّة احتياطيَّة في عضويَّة الإنسان والحيوان، ويشبه من الناحية الكيميائيَّة الأميلوبكتين (المكوِّن الثاني للنشاء)؛ لكنَّه أكثر تفرُّعاً؛ وهو غير مُرجِع ولا يعطي نتائج إيجابيَّة مع كاشف فهلنغ وكاشف بندكت إلا بعد تفكُّكه. يُعطي مع اليود لوناً بنيَّاً مُحمرَّاً. تُشكِّل الروابط الفرعيَّة وحدة مُترابطة على شكلٍ منطوٍ (الشكل 4 – 4).

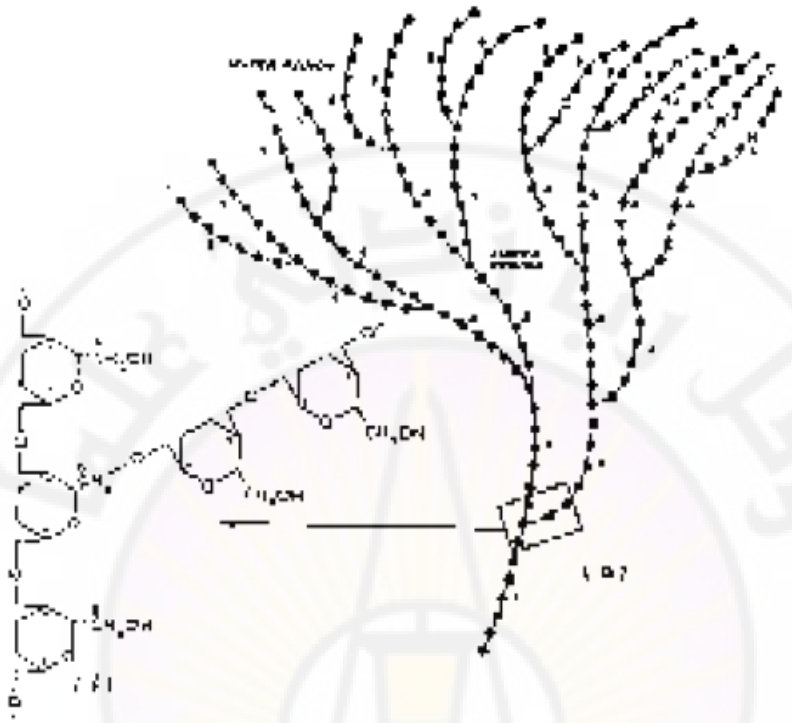


الشكل (4-2) سلسلة الأميلوز المتحلزنة غير المتفرّعة

(الوحدة الأساسيّة جزيئتان **α- D-** غلوكوز أي جزيئة مالتوز)



الشكل (4- 3) الروابط الفرعيّة في سلسلة الأميلوبكتين

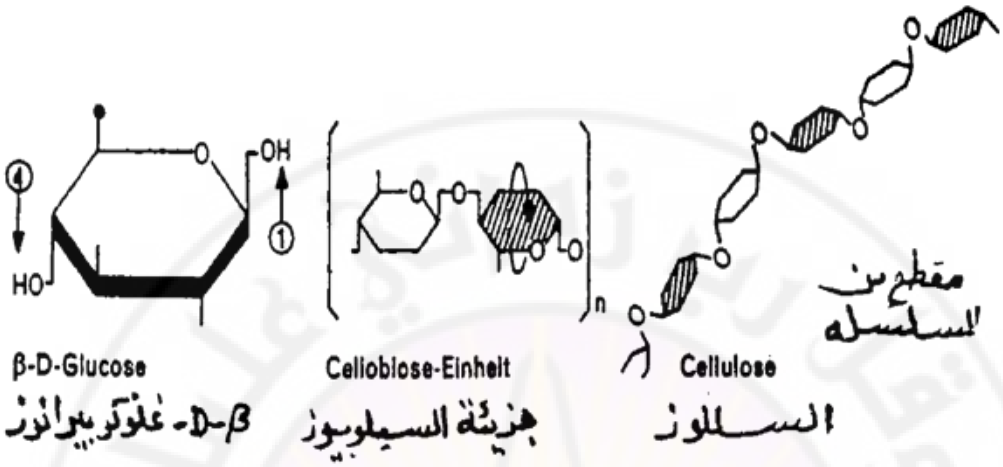


الشكل (4-4) سلسلة الغليكوجين

4- السليلوز:

يُشكِّل السليلوز المادَّة الأساسيَّة الهيكليَّة لمختلف النباتات، و يتألَّف من بقايا (3000- 10000) جزيئة β- D- غلوكوز. تأخذ هذه الجزيئات شكل سلاسل مستقيمة متوازية متينة ذات بنية ليفيَّة. لاينحلُّ السليلوز في الماء ولكن ينتفخ فيه. يُستعمَل ورق السليلوز كطور ثابت في الكروماتوغرافيا الورقيَّة.

يُوضِّح الشكل (4-5) شكل جزيئات β-D- غلوكوبيرانوز في سلسلة السليلوز.



الشكل (4- 5) سلسلة السليلوز المستقيمة

تجربة (4-19): التفاعل مع كاشف لوغال Lugal Reagent

تعطي السكريّات المتعدِّدة ذات الشكل الحلزوني مع اليود لوناً أزرق يتفاوت في شدَّته تبعاً لعدد السلاسل الفرعيَّة، و للفراغ الموجود في هذا الحلزون؛ و هي أكثر ثباتاً في الوسط المائي و تضعف بالتسخين أو في الوسط القلوي.

أ- المواد اللازمة:

محلول النشاء (1%)، محلول الغليكوجين (1%)، محلول الديكسترين (1%)، كاشف لوغال .

*** تحضير كاشف لوغال:**

يُسحَق 0.5 غ من اليود في 1 غ يود البوتاسيوم المنحلّ في قليل من الماء المقطَّر، ثمَّ نتابع إضافة الماء حتى يصبح الحجم الكلي 100 مل.

ب- الإجراء التجريبي:

1- ضعْ في ثلاثة أنابيب اختبار المحاليل الآتية: 3 مل من محلول النشاء (1%) في الأول و 3 مل من محلول الغليكوجين (1%) في الثاني و 3 مل من محلول الديكسترين (1%) في الثالث، ثمَّ أضِف إلى كلِّ أنبوب 3 مل من ماء المقطَّر، و لاحظ درجة الانحلال واللزوجة والنقاوة، سخِّن الأنابيب لمدَّة قصيرة و راقب ما يجري.

2- أضِف بعد ذلك إلى كلِّ أنبوب 10 مل من الماء المقطَّر، وعدَّة قطرات من كاشف لوغال ولاحظ فارق اللون في كلٍّ من الأنابيب الثلاثة. قارن الألوان مع اللون الناتج عن التجربة الخالية، التي تتكوَّن من 3 مل من الماء المقطَّر مع قطرتين من كاشف لوغال. سجِّل الألوان الناتجة في دفتر العملي، ثمَّ سخِّن بعد ذلك محتويات الأنابيب الثلاثة على حمَّام مائي؛ ولاحظ زوال اللون مع زيادة زمن التسخين.

بردِّ بعد ذلك؛ ولاحظ عودة الألوان كما كانت عليه.

3- اقسم محتوى أنبوب الاختبار الذي يحتوي على محلول النشاء إلى قسمين، ثمَّ أضِف إلى القسم الأول 3 مل من الغول الإيتيلي (95%)، وإلى الثاني 3 مل من هيدروكسيد الصوديوم (2N) ولاحظ تغيُّر الألوان. دوِّن ملاحظاتك في دفتر العملي مع المناقشة.

تجربة (4-20): الحلمهة الحمضيَّة للنشاء

تتفكَّك جزيئة الأميلوز نتيجة الحلمهة الحمضيَّة للنشاء إلى جزيئات أصغر: أميلوديكسترين ← أريتروديكسترين ← أكروديكسترين ← المالتوز (سكر ثنائي) ← D- غلوكوز. يتعلَّق هذا التفكُّك بمدَّة التسخين؛ و يعطي ألواناً مُتدرِّجة، من الأزرق الغامق إلى الأزرق الفاتح فعدم اللون بوجود اليود؛ أمَّا بوجود الكواشف المميِّزة للسكريَّات المرجعة كفهلنغ أو بندكت مثلاً، فنجد أنَّ ناتج الإرجاع (تشكُّل الراسب الأحمر بالتسخين) يزداد وضوحاً مع سير تجربة الحلمهة الحمضيَّة من النواتج غير المرجعة

إلى النواتج ذات القدرة الإرجاعية الضعيفة؛ حتى الوصول إلى السكر الأحادي المرجع α-D- غلوكوز.

أ- المواد اللازمة:

نشاء ذواب في الماء، حمض كلور الماء (2N)، كاشف لوغال، كاشف بندكت.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ 0.5 غ من نشاء ذوّاب في الماء في دورق؛ وأضِف إليه 5 مل من الماء المقطَّر؛ ورُجَّ الدورق قليلاً؛ ثمَّ أضِف 50 مل من الماء المقطَّر ساخن و 10 مل من حمض كلور الماء ذي التركيز (2N)، و امزج محتوى الدورق جيّداً. خذ عيِّنة مقدارها 3 مل من المزيج السابق وضَعْها في أنبوب اختبار (العيِّنة الأولى قبل التسخين)؛ ثمَّ سخِّن محتوى الدورق على اللهب بلطف مُدَّة 10 دقائق، وخذْ بعد كلّ دقيقتين عيِّنة بمقدار 3 مل وبرِّدها مباشرةً تحت صنبور الماء؛ و قمْ بإجراء اختبار اليود وبندكت.

1- اختبار اليود (كاشف لوغال):

امزجْ 10 قطرات من محلول لوغال في دورق مع 30 مل من الماء المقطَّر. ثمَّ وزِّع محتوى الدورق على ستة أنابيب اختبار مُرقَّمة. أضِف إلى كلّ أنبوب 1 مل من العيِّنات الست التي أخذتها أثناء الحلمهة تباعاً (ابدأ بالعيِّنة المأخوذة قبل التسخين وهكذا...). رُجَّ محتويات الأنابيب جيّداً و اقب اختلاف الألوان فيها. دوّن ملاحظاتك مع التعليل.

2- اختبار بندكت:

أجرِ اختبار بندكت على محتويات باقي الأنابيب الستَّة، وبيِّن درجة الإرجاع في العيِّنات لكاشف بندكت. دوّن ملاحظاتك في دفتر العملي مع التعليل؛ وقدِّم تقريراً إلى الأستاذ المشرف على الجلسة.

4-9- مُلخَّص تفاعلات الكشف عن السكريَّات المتعدِّدة

أجرِ التجارب الموجودة في الجدول (4- 6) على كلٍّ من النشاء و الغليكوجين والديكسترين، ودوِّن النتائج بوضع إشارة (+) للتفاعل الإيجابي وإشارة (–) للتفاعل السلبي في الجدول الآتي:

الجدول (4-6): مُلخَّص تفاعلات الكشف عن السكريَّات المتعدِّدة

التجربة	النشاء	الغليكوجين	الديكسترين	ملاحظات
1- اختبار موليش				
2- اختبار فهلنغ				
3- اختبار اليود (لوغال)				
4- الترسيب بالغول				
5- اختبار بندكت				

4-10- الكشف عن مجهول مادَّة سكريَّة

يتمُّ إجراء التجارب الآتية وفق ترتيبها في الجدول (4- 7) مع مراعاة حذف التجربة التي يُثبَت عدم جدواها من الاستنتاج الذي نحصل عليه من التجارب السابقة لها.

الجدول (4- 7): تفاعلات الكشف عن مجهول (مادة كربوهيدراتيَّة)

الاختبار	الملاحظة	الاستنتاج
1– اختبار موليش	حلقة بنفسجية	المادة كربوهيدراتية
2– اختبار اليود	لون أزرق	نشاء
	لون بنفسجي	ديكسترين
	لون بني محمر	غليكوجين
	لا يتغيَّر لون اليود	سكر ثنائي أو أحادي
3– اختبار بارفويد	إرجاع سريع	سكر أحادي
	إرجاع بطيء	سكر ثنائي

4- اختبار تولنز في الدرجة $40^{o}C$	ظهور سريع للمرآة الفضيَّة (أقل من دقيقة)	سكر أحادي
	ظهور سريع للمرآة الفضية (1-2) دقيقة	سكر ثنائي مرجع
	ظهور بطيء للمرآة الفضيَّة (أكثر من 5 دقائق)	سكر ثنائي غير مرجع
	عدم ظهور المرآة الفضيَّة خلال 10-12 دقيقة	سكر متعدد
5- اختبار كبريتات الكوبالت	لون بنفسجي	سكروز
6- اختبار خلات الأنيلين	لون أحمر كرزي	بنتوز
7- اختبار بيال	لون أزرق مخضر	بنتوز
8- اختبار سلفانوف	لون أحمر خلال دقيقتين	كيتوزات
	تشكُّل اللون الأحمر بعد زمن طويل	ألدوزات
9- اختبار الأوزازون (شكل البلورات تحت المجهر)	بلورات الغلاكتوزازون	غالاكتوز
	بلورات المالتوزازون	مالتوز
	بلورات الغلوكوزازون	غلوكوز أو فركتوز
	بلورات اللاكتوزازون	لاكتوز

كما يمكن الاستعانة بالجدول (4- 8) لتحديد نوع المجهول بعد إجراء التجارب اللازمة في المخبر.

الجدول (4-8): نتائج الكشف عن أهمّ المواد السكريَّة

اسم السكر	الاختبارات							
	موليش	اليود	بارفويد	تولنز	كبريتات الكوبالت	خلات الأنيلين	بيال	سلفانوف	أوزازون
نشاء	+	+	−	−	−	−	−	−	−
ديكسترين	+	+	−	−	−	−	−	−	−
سكروز	+	−	−	−	(+)	−	−	−	−

مالتوز	+	−	−	+	−	−	−	−	+
لاكتوز	+	−	−	+	−	−	−	−	+
غلوكوز	+	−	+	+	−	−	−	−	+
فركتوز	+	−	+	+	−	−	−	⊕	+
بنتوز	+	−	+	+	−	⊕	⊕	−	+

تدلُّ الرموز الآتية على:

* إمكانيَّة الاستعانة بهذا الاختبار لتمييز السكريَّات المرجعة اعتماداً على شكل بلورات الأوزازون الظاهرة تحت المجهر، وتحديد زمن تشكُّل البلورات في التجربة.

+: النتيجة إيجابية.

−: النتيجة سلبيَّة.

⊕ : الاختبار مُميِّز للسكر المفحوص.

ملاحظة:

يمكن إجراء اختبار خلات الأنيلين بدلاً من تفاعل بيال وتفاعل فهلنغ، أو تفاعل بندكت بدلاً من تفاعل تولنز؛ وكذلك تفاعل روثنفوزر بدلاً من تفاعل سلفانوف من أجل السكر السداسي.

يُقدِّم الطالب في نهاية الجلسة تقريراً وفق النموذج المبيَّن أدناه عن نتائج التحليل إلى الأستاذ المشرف على الجلسة؛ يذكر فيه الخواص الفيزيائيَّة والخواص الكيميائيَّة لمادة المجهول المدروسة، وفق الآتي:

رقم المجهول:

التاريخ:

أ- الخواص الفيزيائيَّة:

1- حالة المجهول:

2- اللون:

3 - الرائحة:

4- الانحلاليَّة:

ب- الخواص الكيميائيَّة:

التجربة	الملاحظة	الاستنتاج
1-		
2-		
3-		
4-		
5-		
6-		
7-		
8-		
9-		

النتيجة: المجهول هو: .....

11-4- التحليل الكمّي للسكريَّات

تعتمد الطرائق العمليَّة لتقدير كميَّة السكريَّات المرجعة في محاليلها على قدرة هذه السكريَّات على إرجاع الفلزات الثقيلة في وسط قلوي، وسندرس من هذه الطرق طريقة ماكين وشورل. أمَّا إذا أردنا مُعايرة سكر غير مُرجِع، كالسكروز والنشاء؛ فيجب تحويله إلى سكريَّات أحاديَّة حرَّة أولاً؛ وذلك بحلّ 5 غ من السكر في 50 مل من حمض كلور الماء

(1N) والتسخين لمدَّة 30 دقيقة على حمَّام مائي في حالة السكروز، ولمدَّة ثلاث ساعات عند حلمهة النشاء. من المفيد أن ندرس أولاً طريقة تقريبيَّة للتحليل؛ لكنَّها سريعة:

تجربة (4-21): طريقة تقريبيَّة سريعة لتحليل السكر في البول

تعتمد هذه الطريقة على اللون الذي ينتج من التجربة، ما يجعل نتائجها تقريبيَّة.

أ- المواد اللازمة:

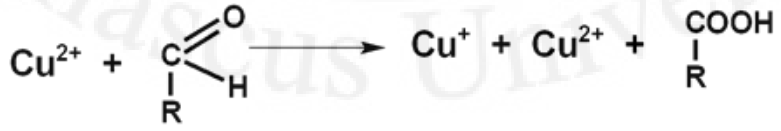
كبريتات النحاس، كربونات الصوديوم اللامائية، البول.

ب- الإجراء التجريبي:

اسحق في هاون من البورسلان 1 غ من كبريتات النحاس مع 10 غ من كربونات الصوديوم اللامائيَّة، وضعْ قليلاً من هذا المسحوق في أنبوب اختبار مع (1-2) قطرة من البول وسخِّن المزيج مباشرةً على اللهب. يدلُّ ظهور اللون الأزرق على اختفاء السكر في البول، ويدلُّ اللون الأصفر المخضَرّ على وجود السكر في البول بنسبة حوالي 0.5% واللون الأخضر بنسبة 1% واللون البني المحمَرّ بنسبة 2%؛ أما اللون الأحمر الشديد فيدلُّ على نسبة تزيد عن 2%.

تجربة (4-22): التحليل الكمّي للسكر بطريقة ماكين وشورل

تعتمد هذه الطريقة ذات الدقَّة العالية نسبيًّا على مُعايرة سكر أحادي أو ثنائي مُرجِع؛ مع كميَّة زائدة من كاشف فهلنغ؛ وذلك بالاعتماد على القدرة الإرجاعيَّة لهذا السكر؛ حيث تتمُّ أكسدته كليًّا إلى حمض ألدوني، أي تحويل الزمرة الألدهيديَّة فيه إلى زمرة كربوكسيليَّة، وتُرجَع شوارد Cu^{+2} في كاشف فهلنغ إلى Cu^{+1} على شكل راسب أحمر آجري Cu_2O وفق المعادلة الآتية:



حيث إنَّ:

Cu^{2+} في الطرف الأول من المعادلة: تمثّل محلول فهلنغ بتركيز أكبر مما يُستهلك لأكسدة السكر في الحجم المأخوذ للمعايرة.

 : تُمثّل سكراً أحاديّاً أو ثنائيّاً مُرجعاً.

R: أو $(CHOH)n—CH_2OH$؛ حيث n تساوي 3 أو 4، وذلك حسبما يكون عليه السكر بنتوزاً أو هكسوزاً.

Cu^{+}: تُمثّل راسب أكسيد النحاسي الأحمر Cu_2O؛ وتتناسب كميّته مع كميّة السكر المتفاعلة.

Cu^{2+} في الطرف الثاني من المعادلة: تُمثّل الكميّة المتبقّية من محلول فهلنغ بلون أزرق، التي لم تدخل في التفاعل.

 : تمثّل الحمض الناتج عن أكسدة السكر الموافق.

تؤكسِد الكميّة المتبقّية من كاشف فهلنغ (Cu^{2+}) شوارد اليود في يود البوتاسيوم والمضافة بكميّة زائدة:

$$2Cu^{+2} + 4I^{-} \rightarrow Cu_2I_2 + I_2$$

ثمّ يُعايَر اليود الحرُّ المتشكّل بوساطة تيوكبريتات الصوديوم $Na_2S_2O_3$ مع إضافة مطبوخ النشاء المحضَّر حديثاً كمُشعِر:

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

تتراتيونات الصوديوم

ملاحظة هامّة:

إنَّ استخدام مطبوخ النشاء كمُشعِر في حالة وجود تراكيز عالية من اليود، قد يؤدّي إلى امتزاز جزيئات اليود على النشاء؛ بحيث يمنع تفاعلها مع التيوكبريتات؛ ولهذا يجب تأخير

إضافة مُشعِر النشاء حتى يتمَّ استهلاك جزء كبير من اليود بوساطة التيوكبريتات (نضيف عندما يبدأ لون المحلول بالتحوُّل إلى أصفر).

أ- المواد و الأدوات اللازمة :

محلول فهلنغ (A و B)، محلول السكر المراد تحليله كميَّاً (المجهول)، يوديد البوتاسيوم، حمض الكبريت (25%) (حجم واحد من الحمض المركَّز مع ستة حجوم من الماء المقطَّر)، محلول تيوكبريتات الصوديوم 0.1N ، مطبوخ النشاء 1%، حوجلة ذات قاعدة سعة 250 مل، ماصَّة سعة 10 مل، سحاحة، قضيب زجاجي، اسطوانة مُدرَّجة، مصباح بنزن، حمَّام مائي.

ب- الإجراء التجريبي:

1- المرحلة الأولى:

ضع بدقَّة بواسطة الماصَّة المعياريَّة 10 مل من محلول (فهلنغ A) و 10 مل من محلول (فهلنغ B) في حوجلة ذات قاعدة سعة 250 مل، وأضِف إليها 10 مل من محلول المادة السكريَّة المجهولة التركيز (تُحضَّر من قبل المخبريين؛ بحيث تحتوي العيِّنة المأخوذة للتجربة على أقلَّ من 100 مغ من ذلك السكر). أضف إلى الحوجلة كميَّة من الماء المقطَّر بوساطة المقياس المدرَّج حتى يصبح الحجم الكلي 50 مل. امزجْ محتوى الحوجلة جيِّداً؛ وسخِّن بلطف على نار هادئة حتى الغليان؛ وذلك بوضع الحوجلة فوق لهب مصباح بنزن على شبكة من الأسبست؛ مع وضع قمع زجاجي على عنق الحوجلة لمنع التبخُّر كي يبقى حجم السائل في الحوجلة ثابتاً. استمر بالغليان الهادئ لمدَّة دقيقتين إلى ثلاث دقائق. برِّد الحوجلة بسرعة بالماء البارد حتى الدرجة $25^{0}C$ تقريباً، ولاحظ أنَّ السائل في داخلها يحتوي على راسب أحمر آجري من أوكسيد النحاسي Cu_2O، إضافةً إلى بقاء لون المحلول أزرق؛ وهذا يؤكِّد أنَّ هذا المحلول يحتوي على فائض من شوارد النحاس

Cu^{2+} (كاشف فهلنغ)؛ والذي يُثبت أنَّ كميَّة السكر في الحوجلة قد تأكسدت بكاملها.

2- المرحلة الثانية:

حضِّر المحلول الآتي: حُلَّ 3 غ من يوديد البوتاسيوم في مزيج من 10 مل من الماء المقطَّر مع 10 مل من حمض الكبريت (25%). أضِف هذا المحلول إلى مُحتويات الحوجلة. حرِّك جيِّداً ثمَّ عاير اليود المتشكِّل بوساطة محلول تيوكبريتات الصوديوم (0.1N) بوساطة السحاحة حتى يبدأ لون المحلول بالتحوُّل إلى الأصفر. أضِف بعد ذلك 10 مل من مطبوخ النشاء (1%) وتابع المعايرة حتى اختفاء اللون الأزرق المتشكِّل. سجِّل حجم تيوكبريتات الصوديوم المستهلَكة من السحاحة للمعايرة (v_1).

3- المرحلة الثالثة:

أجرِ تجربة خالية بدون إضافة المادة السكريَّة؛ وذلك بأخذ 10 مل من محلول (فهلنغ A) و 10 مل من محلول (فهلنغ B) في حوجلة بالدقَّة نفسها التي أُخذِت في التجربة الرئيسة؛ مع إضافة الماء المقطَّر حتى يصبح الحجم 50 مل؛ ثمَّ أعِد خطوات العمل نفسها في المرحلتين الأولى والثانية، اللتين تمَّ شرحهما سابقاً. سجِّل حجم تيوكبريتات الصوديوم المستهلَكة لمعايرة التجربة الخالية (v_2)؛ والذي يجب أن يكون أكبر من (v_1) الذي حصلت عليه في التجربة الرئيسيَّة. علِّل ذلك.

احسب حجم تيوكبريتات الصوديوم (v) الذي يقابل كميَّة السكر في المجهول من الفرق بين الحجم (v_2) و الحجم (v_1) أي:

$$\mathbf{v(ml) = v_2 - v_1}$$

4- حساب تركيز المجهول:

يعطي الجدول (4- 9) كميَّة السكر (m)، مُقدَّرةً بالميلي غرام الموجودة في المحلول (في 10 مل من المجهول)، والتي تقابل حجم التيوكبريتات المحسوبة (v).

الجدول (4- 9): كميَّة السكر (m) بالميلي غرام التي تُقابل حجماً مُعيَّناً (v) بالميلي ليتر من تيوكبريتات الصوديوم 0.1N.

$Na_2S_2O_3$ 0.1N	نحاس	غلوكوز	فركتوز	غالاكتوز	مانوز	أرابينوز	كسيلوز
Ml	mg	mg	Mg	Mg	Mg	Mg	mg
1	6.4	3.2	3.2	3.6	3.1	3.0	3.1
2	12.7	6.3	6.4	7.0	6.3	6.0	6.3
3	19.1	9.4	9.7	10.4	9.5	9.2	9.5
4	25.4	12.6	13.0	14.0	12.8	12.3	12.8
5	31.8	15.9	16.4	17.5	16.1	15.5	16.1
6	38.12	19.2	20.0	21.1	19.4	18.7	19.4
7	44.5	22.4	23.7	24.7	22.8	21.9	22.8
8	50.9	25.6	27.4	28.3	26.2	25.2	26.2
9	57.3	28.9	31.8	32.0	29.6	28.6	29.6
10	63.6	32.2	34.9	35.7	33.0	32.0	33.0
11	70.0	35.7	38.7	39.4	36.5	35.4	36.5
12	76.3	39.0	42.4	43.1	40.0	38.8	40.0
13	82.7	42.4	46.2	46.8	43.5	42.2	43.5
14	89.1	45.8	50.0	50.5	47.0	45.6	47.0
15	95.4	49.3	53.7	54.3	50.6	49.0	50.6
16	101.8	52.8	57.5	58.1	54.2	52.4	54.2
17	108.1	56.3	61.2	61.9	57.9	55.8	57.9
18	114.4	59.8	60.0	65.7	62.6	59.3	62.6
19	120.8	63.8	68.7	69.6	65.3	62.9	65.3
20	127.2	66.9	72.4	73.4	69.2	66.5	69.2
21	133.5	70.7	76.2	77.2	73.1	77.2	73.1
22	139.8	74.5	80.1	81.2	77.0	74.0	77.0
23	146.2	78.5	84.0	85.1	81.0	77.9	81.0
24	152.6	82.6	87.8	89.0	85.0	81.8	85.0
25	159.0	86.6	91.7	93.0	89.0	85.7	89.0

ومنه يُحسَب تركيز السكَّر كالآتي:

إنَّ كلَّ 10 مل من محلول السكَّر مجهول التركيز يحتوي على (m) مغ من هذا السكر فيكون:

وكلَّ 100 مل من محلول السكر مجهول التركيز يحتوي على (10m) مغ من هذا السكر تساوي (0.01m) غ؛ وكذلك:

فإنَّ كلَّ 1000 مل من محلول السكر مجهول التركيز يحتوي على (100m) مغ من هذا السكر تساوي (0.1m) غ.

ومنه يكون تركيز المحلول السكري بدلالة (m):

$$C= 0.01\ m\%$$

أو:

$$C' =0.1\ m\ (g/l)$$

حيث إنَّ:

C: هي التركيز المئوي لعيِّنة السكَّر المفحوص (المجهول) بوحدة غ/100مل.

C': هي تركيز المجهول بوحدة (g/l).

12-4- الأهميَّة الطبيَّة لمعايرة السكر في الدم

تتراوح نسبة السكَّر في دم الإنسان السليم (غير المصاب بداء السكري) بصورة عامَّة بين 80 و 120 مغ/100 مل من مصل دم (طبعاً في الصباح وقبل تناول الفطور).

تزداد هذه النسبة في حالة الإصابة بداء السكري الناتج من فرط الأدرينالين ونقص الأنسولين في الجسم. أمَّا انخفاض نسبة السكر في الدم؛ فيلاحَظ عند زيادة الأنسولين ونقص الأدرينالين، ويزيد خطرها عن خطر زيادة نسبة السكر في الدم أحياناً.

4-12-1- تحديد السكر في الدم Blood Sugar

إنَّ الغلوكوز هو السكَّر الرئيسي الموجود في الدم. أمَّا بقيَّة السكريَّات (المرجعة بشكلٍ خاص) فتشكِّل نسبة ضئيلة في الدم. يُعَدُّ الكبد المصدر الرئيسي للغلوكوز في الدم نتيجة تفكُّك الغليكوجين عن طريق الحلمهة بوساطة إنزيم فوسفوريلاز الموجود في الكبد؛ وبالتالي فإنَّ الدم يقوم بنقله إلى الأعضاء المختلفة في الجسم. هناك طريقتان لمعايرة الغلوكوز بالدم، إحداهما الطريقة اللونيَّة والثانية الطريقة الإنزيميَّة. سنقوم فيما يلي بمعايرة السكر في مصل الدم بالطريقة اللونيَّة.

تجربة (4-23): مُعايرة السكر في الدم بطريقة كينغ وأستور

تعتمد هذه الطريقة على الخواص الإرجاعيَّة للغلوكوز؛ وهي الطريقة المستخدَمة في مخابر التحليل لتحديد كميَّة السكر في الدم؛ حيث تعطي كبريتات النحاس المائيَّة $CuSO_4.5H_2O$ شوارد النحاس الثنائيَّة Cu^{2+} التي تُرجَع بوساطة الغلوكوز في وسط قلوي إلى شوارد النحاسي Cu^{+}، على شكل أكسيد النحاسي Cu_2O في درجة حرارة مرتفعة. تتفاعل شوارد النحاسي مع حمض فوسفو موليبديك Phosphomolybdic Acid والتي تعطي الموليبدنوم ذا اللون الأزرق الذي يُسمَّى الأزرق الموليبديني. تتناسب شدَّة هذا اللون طرداً مع تركيز أوكسيد النحاسي Cu_2O؛ وبالتالي مع تركيز سكر الدم. تُقاس شدَّة امتصاص المحلول عند طول موجة (650nm) بوساطة جهاز مقياس اللون. تُحدَّد كميَّة السكر في الدم بمقارنة شدَّة اللون مع شدَّة اللون الناتج عن محلول معياري. يُضاف إلى عيِّنات الدم التي سيتمُّ فحصها فلوريد الصوديوم لمنع عمليَّة التحلُّل الغليكوزيدي بوساطة إنزيم إينولاز، كما تُضاف حمَّاضات البوتاسيوم PotassiumOxalate لمنع تخثُّر الدم.

أ- المواد والأدوات اللازمة:

1- محلول كبريتات النحاس القلوي (محلول العمل) الذي يحضَّر كما يلي:

المحلول A: يُذاب 1.3 غ من كبريتات النحاس ($CuSO_4.5H_2O$) في 100 مل من الماء المقطَّر.

المحلول B: يُذاب 50 غ من بيكربونات الصوديوم، و 40 غ من كربونات الصوديوم، و 38.8 غ من حمَّاضات البوتاسيوم في 400 مل من الماء المقطَّر، ثمَّ يُضاف 24 غ من طرطرات الصوديوم و البوتاسيوم و يُكمَل الحجم حتى 1000 مل بالماء المقطَّر. يُمزَج المحلول جيِّداً، ويُرشَّح إذا لمْ يكنْ صافياً؛ ويُحفَظ في درجة حرارة الغرفة. يُرشَّح مرَّةً أخرى إذا ظهر راسب مع الزمن.

ملاحظة:

يُحضَّر محلول كبريتات النحاس القلوي في اليوم نفسه الذي سيُستعمل فيه؛ ويجري ذلك بمزج حجوم مُتساوية من المحلول A والمحلول B.

2- محلول (10%) من تنغستات الصوديوم ($Na_2WO_4, 2H_2O$)

3- محلول (2/3 نظامي) من حمض الكبريت H_2SO_4.

4- محلول حمض فوسفو الموليبيديك الذي يُحضَّر كما يلي:

يُذاب 70 غ من حمض الموليبيديك H_2MoO_4 و 10 غ تنغستات الصوديوم و 40 غ من هيدروكسيد الصوديوم في 1000 مل من الماء المقطَّر. يُغلى المزيج على النار مدَّة 30-40 دقيقة حتى انتهاء انطلاق النشادر. يُضاف إلى المزيج 250 مل من حمض الفوسفور (كثافته 1.75) ويُتمَّم الحجم حتى 1000 مل بالماء المقطَّر.

5- محلول الغلوكوز المعياري الذي يُحضَّر كما يلي:

يُذاب 100 مغ من الغلوكوز في 100 مل من الماء المقطَّر، ثمَّ يُؤخَذ 10 مل من هذا المحلول ويُتمَّم الحجم بالماء المقطَّر حتى 100 مل؛ أي أنَّ المحلول الناتج يحتوي على 0.1 مغ غلوكوز في كلِّ 1 مل منه.

6- مُثفِّلة كهربائيَّة.

7- حمَّام مائي.

8- جهاز مقياس اللون Photoelectrocolorimeter

ب- رسم منحني المعايرة:

يتمُّ رسم منحني المعايرة بتمثيل قيم تراكيز سلسلة معياريَّة مُحضَّرة بدقة على المحور X وقيم الامتصاصيَّة (A) عند (650nm) المقابلة لهذه المحاليل المعياريَّة على المحور y؛ حيث إنَّ كلَّ تركيز على المحور الأفقي X تقابله قراءة الامتصاصيَّة A على المحور العمودي Y.

يُستخدَم منحني المعايرة هذا لتعيين تركيز السكر في المجهول المراد فحصه في هذه التجربة.

ج- الإجراء التجريبي:

يُستعمَل في هذه الطريقة الدم غير المتخثِّر (ويُفضَّل أن يكون مُضافاً إليه فلور الصوديوم) أو مصل الدم لأنَّ النتيجة ستكون واحدة؛ إذ إنَّ سرعة نفوذ الغلوكوز عبر الخلايا تجعل كميَّته في داخل الكريَّات الحمر مُساويةً لكميَّته في البلازما.

1- عمليَّة ترسيب البروتينات:

ضعْ في أنبوب تثفيل نظيف وجاف 0.5 مل من الدم (أو المصل)، وأضِف إليه 3.5 مل من الماء المقطَّر أو 0.5 مل من محلول تنغستات الصوديوم (10%)؛ وكذلك 0.5 مل من حمض الكبريت (1.5N). ثفِّل لمدَّة 15 دقيقة (في حال عدم توفُّر مُثفِّلة في المخبر امزج يدوياً)؛ ثمَّ رشِّح المحلول من أجل الحصول على محلول شفاف ورائق، وخذْ 2 مل من المحلول الشفَّاف لإجراء التجربة وتحديد نسبة السكر في الدم.

2- مرحلة الإرجاع:

خذ سبعة أنابيب اختبار نظيفة وجافَّة ورمِّزها كما يأتي:

B: للماء المقطَّر.

S_5, S_4, S_3, S_2, S_1: للسلسلة المعياريَّة.

E: للمجهول.

جهِّز الأنابيب كما هو وارد في الجدول (4-10)؛ ثمَّ أضِف إلى كلِّ أنبوب 2 مل من محلول كبريتات النحاس القلويَّة. أغلِق كلَّ أنبوب بقطعة صغيرة من القطن؛ وضعْ جميع الأنابيب في حمَّام مائي يغلي مدَّة 10 دقائق. أخرِج الأنابيب وبرِّدها تحت الماء حتى درجة حرارة الغرفة.

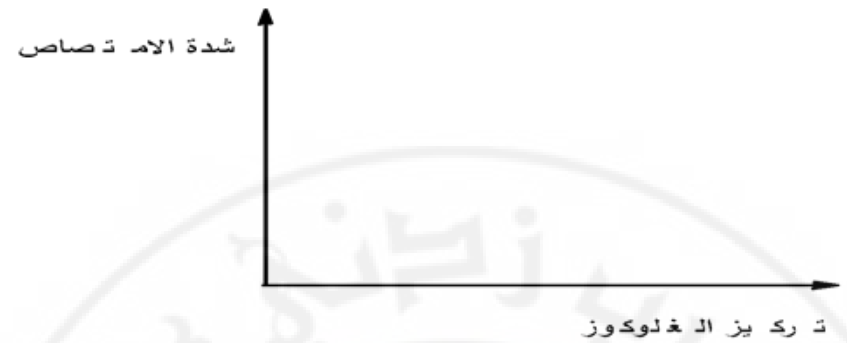
3- مرحلة ظهور الألوان: أضف 2 مل من محلول حمض فوسفو موليبيديك إلى كلِّ أنبوب ثمَّ 20 مل من الماء المقطَّر. امزج جيِّداً وانتظر لمدَّة 10 دقائق، ثمَّ قِس شدَّة الامتصاص باستخدام جهاز مقياس اللون بعد تصفيره بوساطة محلول التجربة الخالية Blank Sample. سجِّل النتائج في الجدول (4-10).

الجدول (4-10): النتائج اللازمة لرسم منحني المعايرة

رقم الأنبوب	رمز الأنبوب	حجم المحلول السكري ml	حجم الماء المقطر ml	الحجم النهائي (الكلي) ml	تركيز الغلوكوز mg/ml	الامتصاصية A 650 n.m
1	B	–	2	2	0	
2	S_1	0.25	1.75	2	0.025	
3	S_2	0.50	1.50	2	0.050	
4	S_3	0.75	1.25	2	0.075	
5	S_4	1	1	2	0.1	
6	S_5	2	0	2	0.2	
7	E	3	0	2		

4- رسم منحني المعايرة:

باستخدام النتائج الواردة في الجدول (4-10) ارسم الخطَّ البيانيَّ الذي يُوضِّح العلاقة ما بين التركيز و شدَّة الامتصاص.



5- قياس تركيز السكَّر في عيِّنة مصل الدم (المجهول):

تُقاس امتصاصيَّة مصل الدم المخفَّر (المجهول) بإدخال 2 مل منه في الجهاز، وقراءة الامتصاصيَّة A عند طول موجة (650nm). وبمعرفة قيمة A يجري تحديد قيمة تركيز السكَّر في مصل الدم بيانيَّاً بالاستعانة بمنحني المعايرة السابق.

تجربة (4-24): مُعايرة السكر في مصل الدم بطريقة أورتو- توليدين

يتفاعل الأورتو- توليدين مع غلوكوز الدم الخالي من البروتينات؛ بوجود حمض الخلّ مُشكِّلاً مُركَّبات ذات لون أزرق. تتناسب شدَّة اللون مع نسبة الغلوكوز، وتُقاس الامتصاصيَّة للمحلول الناتج عند طول موجة (590-650 nm).

أ- المواد اللازمة:

مصل دم، محلول ثلاثي كلور حمض الخل (3%)، الكاشف الملوَّن، محلول الغلوكوز المعياري.

*** تحضير الكاشف الملوَّن:**

يُذاب 1.5 غ من كبريت البولة NH_2-CS-NH_2 (الذي يقوم بمنع حدوث تفاعل أكسدة الزمرة الأمينيَّة للأورتو توليدين بوساطة أكسجين الهواء) في 940 مل من حمض الخلّ الثلجي؛ ثمَّ يُضاف 60 مل من محلول أورتو توليدين ويُمزَج جيداً؛ ثمَّ يُحفَظ في زجاجة عاتمة بعيداً عن الضوء. يمكن استعمال الكاشف مدَّة أربعة إلى ستة أشهر.

* **تحضير محلول الغلوكوز المعياري:**

يُحضَّر بتركيز 1 مغ لكل 1 مل؛ و لذلك يُذاب 100 مل من الغلوكوز في 100 مل من الماء المقطَّر، ثمَّ يُؤخذ 10 مل من هذا المحلول ويُمدَّد حتى 100 مل بالماء المقطَّر.

ب- الإجراء التجريبي:

1- محلول التجربة:

ضعْ في أنبوب تثفيل 5.4 مل من محلول كلوريد الحديد $FeCl_3$ (3%)؛ وذلك من أجل ترسيب البروتينات، وأضِفْ إليها 0.6 مل من مصل الدم، وامزجْ مُحتوى الأنبوب بصورة جيِّدة؛ ثمَّ ثفِّل لمدَّة عشر دقائق عند السرعة 3000 دورة في الدقيقة (أو رشِّح). خذْ 1 مل من السائل الطافي وأضِف إليه 3 مل من الكاشف الملوَّن وامزجْ محتوى الأنبوب بشكلٍ جيِّد؛ ثمَّ ضعْه في حمَّام مائي بدرجة الغليان مدَّة عشر دقائق.

ملاحظة: إنَّ الحجم المأخوذ من أنبوب التثفيل؛ ومقداره 1 مل يحتوي على 0.1 مل من مصل الدم فعلياً؛ وذلك لأنَّ الحجم الكلي في الأنبوب؛ ومقداره 6 مل يحتوي على 0.6 مل من مصل الدم.

2- المحلول المعياري:

ضع 1 مل من المحلول المعياري في أنبوب اختبار، وأضِف إليه 3 مل من الكاشف الملوَّن؛ وضعْه في حمَّام مائي عند درجة الغليان لمدَّة 10 دقائق.

ملاحظة: يحتوي 1 مل من المحلول المعياري على 0.1 مغ غلوكوز.

3- محلول التجربة الخالية:

ضع 1 مل من الماء المقطَّر و 3 مل من الكاشف الملوَّن في أنبوب اختبار؛ وسخِّن في حمَّام مائي بدرجة الغليان مُدَّة عشر دقائق. برِّد الأنابيب الثلاثة تحت صنبور الماء حتى درجة حرارة

الغرفة؛ وقِس الامتصاصيَّة عند طول موجة (670 nm) بعد تصفير الجهاز بمحلول التجربة الخالية.

طريقة الحساب:

احسب كميَّة الغلوكوز الموجودة في 100 مل من الدم من العلاقة الآتية:

$$C_E = A_E/A_S \text{ X } m_s/V_{bl} \text{ X } 100$$

حيث إنَّ:

C_E: تركيز الغلوكوز في الدم بوحدة مغ/100مل.

A_E: امتصاصيَّة محلول التجربة.

A_S: امتصاصيَّة المحلول المعياري.

m_S: كتلة الغلوكوز في المحلول المعياري المستخدَم في التجربة (0.1 مغ).

V_{bl}: حجم الدم الفعلي المستخدَم في التجربة (0.1) مل.

وبذلك تصبح العلاقة السابقة:

$$C_E = \frac{A_E}{A_S} \text{ X } \frac{0.1}{0.1} \text{ X } 100$$

$$C_E = \frac{A_E}{A_S} \text{ X } 100$$

الفصل الخامس

الشحميَّات (الليبيدات)

LIPIDES

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الشحميَّات (الليبيدات)

Lipides

5-1- مُقدَّمة

تُعَدُّ الشحميَّات من المركَّبات الحيويَّة الهامة التي يحتاجها الكائن الحي كمصدرٍ للطاقة، ويُستخدَم كمخزون طاقي احتياطي في الجسم عند الحاجة؛ كما أنَّها تُشكِّل مادة عازلة تحت الجلد وحول بعض الأعضاء كالكلى مثلاً، وهي مُذيبة لمجموعة من الفيتامينات المنحلَّة في الدسم. والشحميَّات هي استرات ناتجة من تفاعل الحموض الدسمة مع الأغوال، ويشذُّ عن هذه القاعدة مجموعة من المركَّبات، مثل الاستروئيدات والتربنات، التي صُنِّفت مع الشحميَّات لأنها تشترك في صفة واحدة عامَّة، هي عدم قابليَّتها للذوبان في الماء والمحلات القطبيَّة وانحلالها الجيد في المحلات اللاقطبية، مثل الكلوروفورم والإيتر ورباعي كلور الكربون. تُسهِم الشحميَّات في بناء الخليَّة الحيَّة والعناصر الأساسيَّة للأغشية الخلويَّة؛ فتبلغ نسبتها مثلاً في الجملة العصبيَّة المركزيَّة وفي النسج المحيطيَّة (40%) تقريباً. إضافةً إلى ذلك فإنَّ الشحميَّات تلعب دور المادة العازلة والواقية؛ وذلك بسبب وجودها تحت الطبقة الجلديَّة وحول بعض الأعضاء، كالكلى مثلاً.

5-2- تصنيف الشحميَّات

تُقسَم الشحميَّات بصورة أساسيَّة وتبعاً لبنيتها إلى ثلاثة أنواع رئيسيَّة هي الشحميَّات البسيطة، الشحميَّات المعقَّدة (المركَّبة) والشحميَّات غير المتصبِّنة.

5-2-1- الشحميَّات البسيطة Simple Lipides

تُقسَم الشحميَّات البسيطة إلى قسمين رئيسيين هما الغليسريدات الثلاثيَّة والشموع. تنشأ الغليسريدات الثلاثيَّة من أسترة الغليسرول مع الحموض الدسمة المختلفة، ويمكن أن

تكون مُتجانسة؛ أي أنَّها ناتجة عن الأسترة بحمض الدسم نفسه، أو غير مُتجانسة تحتوي على حموض دسمة مختلفة. ورغم كثرة عدد الحموض الدسمة التي يمكن أن تدخل في تركيب الغليسريدات، إلا أنَّها تشترك جميعاً بالصفات العامَّة الآتية:

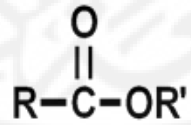
- حموض أحاديَّة الكربوكسيل يمكن أن تكون مُشبَعةً أو غير مُشبَعة.
- تحتوي غالباً على عدد شفعي من ذرات الكربون.
- تكون الحموض الدسمة غير المشبَعة التي تحتوي على رابطة مُزدوجة أو أكثر في وضع مقرون دوماً. يبيِّن الجدول (5-1) بعض أنواع الحموض الدسمة الموجودة في الطبيعة.

الجدول (5-1) بعض أنواع الحموض الدسمة الموجودة في الطبيعة

الاسم الشائع		عدد ذرات الكربون	الصيغة العامة	مكان وجودها
حمض البوتيريك (الزبدة)	Butyric	4	$CH_3(CH_2)_2$-COOH	في الزبدة
حمض الكابرونيك (الماعز)	Caproic	6	$CH_3(CH_2)_4$-COOH	في الزبدة والحليب وزيت جوز الهند
حمض الكابريليك	Caprilic	8	$CH_3(CH_2)_6$-COOH	
حمض الكابريك	Capric	10	$CH_3(CH_2)_8$-COOH	
حمض اللاوريك (الغار)	Lauric	12	$CH_3(CH_2)_{10}$-COOH	
حمض الميريستيك (جوز الطيب)	Myristic	14	$CH_3(CH_2)_{12}$-COOH	في الحليب والدسم النباتي
حمض الباليميتيك (النخيل)	Palmitic	16	$CH_3(CH_2)_{14}$-COOH	في الدهون الحيوانية والنباتية
حمض الستياريك (الشمع)	Stearic	18	$CH_3(CH_2)_{16}$-COOH	
حمض الأراشيديك (الفول السوداني)	Arachidic	20	$CH_3(CH_2)_{18}$-COOH	في الفستق
حمض الأوليك (الزيت)	Oleic	18	$CH_3(CH_2)_7$-CH=CH-$(CH_2)_7$-COOH	في الزيوت النباتية
حمض اللينوليك (الكتان)	Linoleic	18	$CH_3(CH_2)_4$-CH=CH-CH_2-CH=CH-$(CH_2)_7$--COOH	في الزيوت
حمض اللينولينيك (القنب)	linolenic	18	CH_3CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-	في الزيوت

				النباتيـــــــــة والحيوانيّة
حمض الأرشيدونيك	Arachidonic	20	$CH_3(CH_2)_4$-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2CH-$CH(CH_2)_3$-COOH	فـــي الزيـــوت الحيوانيـــــة والكبد

تختلف الصفات الكيميائيّة والفيزيائيّة للغليسريدات الثلاثيّة بحسب نوعيّة الحموض الدسمة الداخلة في تركيبها؛ فكلّما زاد طول السلسلة الكربونية في الحمض الدسم زادت درجة انصهارها. أمّا إذا احتوت السلسة الكربونيّة للحمض الدسم على روابط مُزدوجة؛ فيلاحظ انخفاض واضح في درجة انصهارها. يمكن عن طريق الهدرجة الوساطيّة تحويل الدسم غير المشبَعة ذات درجات الانصهار المنخفضة إلى دسم مُشبَعة ذات درجات انصهار أعلى، وتُستخدَم هذه الطريقة في الصناعة من أجل صناعة المارغرين انطلاقاً من الزيوت النباتيّة. من الأمثلة على ذلك تكون درجة انصهار حمض الزيت الحاوي على رابطة مُزدوجة واحدة 13^oC؛ بينما تبلغ درجة انصهار حمض الشمع الذي لا يحتوي على روابط مُزدوجة (مُشبَع) 70^oC، رغم أنّ كلا الحمضين يتألف من ثماني عشرة ذرة كربون. تختلف الشموع عن الغليسريدات الثلاثيّة بأنّ الحموض الدسمة الداخلة في تركيبها تكون عالية الوزن الجزيئي، كما أنّ الأغوال المشكّلة لها تكون أحاديّة الهيدروكسيل، في حين يكون الغول في الغليسريدات الثلاثية هو الغليسرول، وهو غول ثلاثي الهيدروكسيل. تمتلك الشموع صيغاً مُتعدّدة، ولكن أشهر صيغة لها هي الصيغة:



حيث **OR'** -الجذر الغولي.  – جذر الحمض الدسم.

يمكن أن نذكر شمع النحل وشمع كرنوبا كأمثلة على الشموع الموجودة في الطبيعة.

5-2-2- الشحميَّات المعقَّدة (المركَّبة) Composite Lipides

تُعَدُّ الشحميَّات المعقَّدة (المركَّبة) من المكوِّنات البنيويَّة الأساسيَّة للخليَّة الحيَّة، وعلى الرغم من أنَّ كميَّتها ضئيلة بالمقارنة مع الليبيدات البسيطة؛ إلا أنَّ لها دوراً أساسيَّاً في خلايا أعضاء الجسم. تتميَّز الشحميَّات المركَّبة عن الشحميَّات البسيطة بأنَّها قطبيَّة؛ حيث تحمل زمرة الفوسفات شحنة سالبة ويحمل الأساس الآزوتي شحنة موجبة. للشحميَّات المركَّبة ثلاثة أنواع؛ هي الشحميَّات الفوسفوريَّة والشحميَّات السفينغوزية السكريَّة والسفينغوميلينات.

الشحميَّات الفوسفوريَّة عبارة عن شحميَّات تدخل في تركيبها الأسس الآزوتية ومن أشهرها الليسيتينات والكيفالينات؛ أمَّا الشحميَّات السفينغوزية فيدخل في تركيبها غول السفينغوزين؛ ومن أهمِّها السفينغوميلينات التي تُوجَد بصورة خاصَّة في الأنسجة العصبيَّة والدماغ. تختلف الشحوم السفينغوزيَّة السكريَّة عن الشحوم السفينغوزيَّة باحتواء الأولى على بقايا سكريَّة بدلاً من زمرة الفوسفات؛ ومن أهمِّ هذه الشحوم السيريروزيدات التي تُوجَد في المادة البيضاء في الدماغ، والغانغليوزيدات التي تُوجَد في المادة الرماديَّة في الدماغ.

5-2-3- الشحميَّات غير المتصبِّنة Unsapofiniable Lipides

يدخل ضمن هذا التصنيف الاستروئيدات والكاروتينات. تكون الاستروئيدات مُؤلَّفة بصورة أساسيَّة من أربع حلقات هيدروكربونيَّة؛ ثلاث منها سداسيَّة والرابعة خماسيَّة يُطلَق عليها اسم نواة الستيران؛ وهي كناية عن حلقي بنتان مُتكاثف مع فينانترين مُهدرَج. من أهمِّ الاستروئيدات المعروفة الكولسترول والحموض الصفراويَّة والكورتيزون والهيدروكورتيزون وبعض الهرمونات، مثل التستوسترون والبروجسترون. سنقوم الآن بإجراء بعض التجارب الخاصَّة بالكشف عن الشحميَّات.

5-3- التجارب الخاصَّة بالكشف الكيفي عن الدهون الطبيعيَّة

تجربة (5-1): اختبار انحلاليَّة الشحميَّات Solubility Test

تنحلُّ الشحميَّات في المحلات العضويَّة اللاقطبيَّة، كالأستون والكلوروفورم ورباعي كلور الكربون وإيتر البترول، وتنحلُّ جزئيَّاً في الإيتانول؛ إلا أنَّها لا تنحلُّ في الماء ولا تنحلُّ في المحلات القطبيَّة؛ وإنَّما تُشكِّل معها مُستَحْلَبات.

أ- المواد اللازمة:

زيوت نباتيَّة كلوروفورم، إيتر إيتيلي، أسيتون، غول إيتيلي.

ملاحظة هامَّة جداً: إنَّ المحلات العضوية هي مُركَّباتٌ سهلة الاشتعال؛ لذلك يجب إبعادها نهائيَّاً عن اللهب.

ب- الأدوات اللازمة:

عدَّة أنابيب اختبار، حمَّام مائي.

ج- الإجراء التجريبي:

خذْ خمسة أنابيب اختبار وضعْ في كلٍّ منها قطرتين من الزيت النباتي أو زيت الزيتون، ثمَّ أضِف إلى الأنبوب الأول 2 مل من الماء المقطَّر، وإلى الثاني 2 مل من الغول الإيتيلي، وإلى الثالث 2 مل من الأسيتون، و إلى الرابع 2 مل من الإيتر الإيتيلي، و إلى الخامس 2 مل من الكلوروفورم. رُجَّ الأنابيب بصورة جيِّدة ولاحظ مدى انحلال الزيت في كلٍّ منها. سخِّن الأنابيب التي لم ينحلُّ فيها الزيت على حمَّام مائي. ماذا تلاحظ؟ سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (5-2): تجربة الاستحلاب Emulsion Test

الاستحلاب هو عمليَّة انتشار قطرات أحد السائلين الممزوجين مع بعضهما في السائل الآخر. تحدث هذه العمليَّة عند محاولة مزج سائلين لا ينحلان مع بعضهما؛ الشيء الذي يؤدِّي إلى انتشار أحد السائلين على شكل قطيرات دقيقة في الآخر مُشكِّلةً

مُستحلَباً؛ وعادةً لا تدوم المستحلبات طويلاً؛ إذ تتجمَّع قطيرات السائل المتبعثِرة بعد انقضاء مُدَّة قصيرة؛ مُشكِّلةً مع السائل الأصلي سائلاً من طورين. تؤدِّي إضافة بعض المواد إلى ثبات المستحلَب لمدَّة أطول؛ وتُسمَّى هذه المواد مواد مساعدة على الاستحلاب، مثل كربونات الصوديوم والصابون والبروتينات والحموض الصفراويَّة...إلخ. تتلخَّص آليَّة عمل المواد المساعدة على الاستحلاب بإحاطة جزيئاتها بالقطيرات المنتشرة داخل السائل الأصلي؛ وهذا يمنع عودتها إلى التجمُّع من جديد.

أ- المواد والأدوات اللازمة:

زيت الزيتون، زيت نباتي، محلول كربونات الصوديوم (2%)، محلول الصابون تركيزه (2%)، أنابيب اختبار.

ب- الإجراء التجريبي:

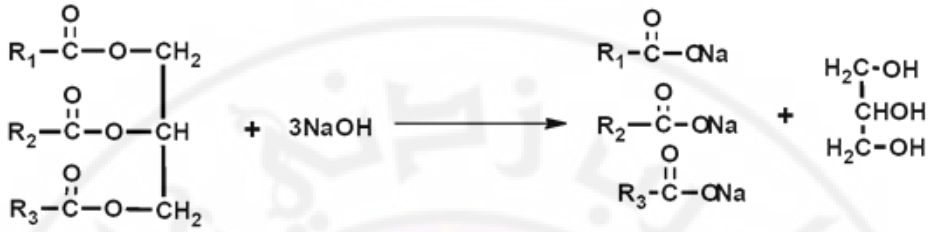
خذْ ثلاثة أنابيب اختبار وأضِف إلى كلٍّ منها 0.5 مل من زيت الزيتون أو الزيت النباتي، ثمَّ أضِف إلى الأنبوب الأول 2 مل من الماء المقطَّر، وإلى الثاني 2 مل من محلول كربونات الصوديوم (2%)، وإلى الثالث 2 مل من محلول الصابون (2%). رُجَّ الأنابيب الثلاثة بصورة جيِّدة ولاحظ في أيِّ الأنابيب يتشكَّل المستحلَب.

5-4- الكشف عن الحموض الدسمة

تجربة (5-3): اختبار التصبُّن Sapofinication Test

تتميَّز الغليسريدات الثلاثيَّة بتحلُّلها السريع في الأوساط القلويَّة أو بتأثير الأنزيمات (كما يحدث في الأمعاء) إلى الغليسرول والحموض الدسمة التي تتفاعل مع القلوي؛ مُرسِّبةً أملاح الحموض. يُطلَق على هذه الأملاح اسم الصابون، ويُسمَّى التفاعل الحاصل التصبُّن. يمكن إجراء هذا التفاعل مع القلويَّات المختلفة كي نحصل على أنواع مختلفة من الصابون، فمثلاً يتميَّز الصابون الصوديومي بقساوته في حين يكون الصابون البوتاسيومي ليِّناً،

وكلاهما ينحلُّ بصورة جيِّدة في الماء؛ أمَّا الصابون الكلسي والصابون المغنزيومي فيتميَّزان بضآلة ذوبانهما في الماء.



يتفاعل الصابون مع الحموض المعدنيَّة؛ مثل حمض كلور الماء لإعطاء الحموض الدسمة الحرَّة:



يتفاعل الصابون الصوديومي أو البوتاسيومي مع أملاح الكالسيوم والمغنزيوم؛ ما يؤدِّي إلى ترسيب صابون كلسي أو مغنزيومي غير ذواب؛ ولذلك فإنَّ المياه التي تحتوي على نسبة عالية من الكالسيوم (المياه القاسية) تُرسِّب الصابون؛ ما يؤدِّي إلى خفض فعاليَّته التنظيفيَّة:



أ- المواد اللازمة:

مواد دسمة (زيوت، دهون)، هيدروكسيد الصوديوم (5%) في الغول الإيتيلي، حمض كلور الماء المركَّز، كلور الكالسيوم (2%)، كبريتات المغنزيوم (10%).

ب- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار، حمَّام مائي.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار 0.5 مل من الزيت (أو قطعة صغيرة من الدهن)، وأضِف إليه 5 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم في الغول. سخِّن الأنبوب في حمَّام مائي بدرجة الغليان مُدَّة خمس دقائق، ثمَّ برِّد الأنبوب وافصل الصابون المتشكِّل بالإبانة. خذْ قسماً من الصابون المتشكِّل وضعْه في أنبوب الاختبار، وأضِف إليه نحو 10 مل من الماء المقطَّر. سخِّن بلطف مع المزج ولاحظ تشكُّل الرغوة الكثيفة. برِّد الأنبوب واحتفظ بمحلول الصابون للاختبارات الآتية:

- ضعْ 2 مل من محلول الصابون في أنبوب اختبار و أضِف إليه ثلاث قطرات من حمض كلور الماء المركَّز، ولاحظ انفصال الحموض الدسمة على شكل جسم صلب عند التبريد.
- خذْ أنبوبيْ اختبار وأضِف إلى كلٍّ منهما 2 مل من محلول الصابون، ثمَّ أضِف إلى الأول ثلاث قطرات من محلول كلوريد الكالسيوم (2%)، وإلى الثاني ثلاث قطرات من محلول كبريتات المغنزيوم (10%)، ولاحظ عمليَّة الترسيب و مقدار الرغوة. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (5-4): اختبار الحموضة Acidity Test

يحتوي الزيت أو الدهن الطبيعي على بعض الحموض الدسمة الحرَّة، التي يمكن الكشف عنها باستخدام المشعِرات المناسبة.

أ- المواد والأدوات اللازمة:

كلوروفورم، كاشف أحمر الميتيل، محلول هيدروكسيد الصوديوم (1%)، حمض الزبدة، حمض الزيت، زيت زيتون أو زيت نباتي، أنابيب اختبار.

ب- الإجراء التجريبي:

حضِّرْ أنبوبي اختبار وضعْ في الأول 0.5 غ من حمض دسم، وفي الثاني 0.5 غ من الزيت الطازج. أضِف إلى كلٍّ من الأنبوبين 5 مل من الكلوروفورم، واخلط حتى تمام الانحلال. أضِف محلول أحمر الميتيل بحذر إلى كلِّ أنبوب حتى ظهور اللون الأحمر. اخلطْ وأضِف إلى كلِّ أنبوب نقطتين من هيدروكسيد الصوديوم (1%). لاحظ تغيُّر الألوان. ماذا تستنتج؟ سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

5-5- الكشف عن الحموض الدسمة غير المشبَعة

تتميَّز الحموض الدسمة غير المشبَعة مثل حمض الزيت بتفاعلها مع الهالوجينات أو الهيدروجين أو المؤكسِدات مثل فوق المنغنات؛ والسبب في ذلك يعود إلى وجود الرابطة المزدوجة (double bond)؛ وخضوع الحمض الدسم لتفاعل الضمّ؛ مُؤدِّياً إلى إشباعها عند التفاعل مع الهالوجينات أو الهيدروجين أو تحطيمها؛ كما يحصل في التفاعل مع المؤكسِدات القوية مُعطيةً حموضاً أحاديَّة وثنائيَّة الكربوكسيل:

$$R\text{-}CH{=}CH\text{-}(CH_2)n\text{-}COOH + 2Br \longrightarrow R\text{-}\overset{Br}{C}H\text{-}\overset{Br}{C}H\text{-}(CH_2)n\text{-}COOH$$

$$R\text{-}CH{=}CH\text{-}(CH_2)n\text{-}COOH + 2H \longrightarrow R\text{-}CH_2\cdot CH_2(CH_2)n\text{-}COOH$$

$$H_3C\text{-}(CH_2)_4\cdot CH{=}CH\text{-}CH_2\text{-}CH{=}CH(CH_2)_7\cdot COOH \xrightarrow{3KMnO_4}$$

$$H_3C\text{-}(CH_2)_4\text{-}COOH + HOOC\text{-}CH_2\cdot COOH + HO\text{-}(CH_2)_7\text{-}COOH + MnO_2$$

لون بني — حمض الأزيلانيك — حمض المالونيك — حمض الكبرونيك

أ- المواد والأدوات اللازمة:

محاليل زيت زيتون أو زيت نباتي أوحمض الزيت أوحمض الشمع في الإيتانول، محلول فوق منغنات البوتاسيوم (1%)، أنابيب اختبار.

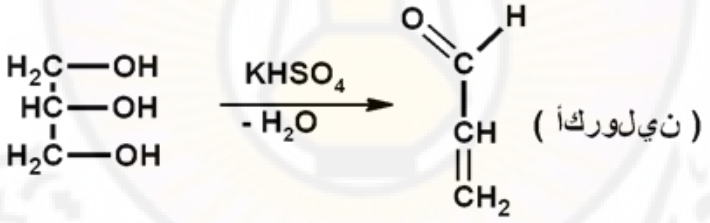
ب- الإجراء التجريبي:

خذْ ثلاثة أنابيب اختبار وضع في الأول 2 مل من محلول زيت الزيتون أو الزيت النباتي، وفي الثاني 2 مل من محلول حمض الزيت، وفي الثالث 2 مل من محلول حمض الشمع. أضِف إلى مُحتوى كلّ أنبوب قطرتين من محلول فوق منغنات البوتاسيوم (1%)، ولاحظ الألوان. ماذا تستنتج؟ سجّل ملاحظاتك واستنتاجاتك في دفتر العملي.

5-6- الكشف عن الغليسرول Detection Of Glycerol

تجربة (5-5): اختبار الأكرولين Acrolein Test

يمكن الكشف عن الغليسرول في المادة الدسمة إنْ كان بصورة حرّة أو بشكل إستر مع الحموض الدسمة؛ ويتمُّ ذلك عن طريق تشكيل الأكرولين الذي ينتج عن تسخين الغليسرول أو مُركّباته مع كبريتات البوتاسيوم الحامضيَّة، أو أيّة مادة نازعة للماء، ما يؤدّي إلى حذف جزيئيّ ماء؛ وتشكيل مُركّب ألدهيدي غير مُشبَع يُدعَى الأكرولين.



(نيلورك أ)

أ- المواد والأدوات اللازمة:

زيت زيتون أو زيت نباتي، كبريتات البوتاسيوم (أو الصوديوم) الحمضيَّة اللامائيَّة، أنابيب اختبار نظيفة تماماً.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ حوالي 0.5 غ من زيت الزيتون أو الزيت النباتي في أنبوب اختبار نظيف، وأضِف إليه 0.5 غ من مسحوق كبريتات البوتاسيوم (أو الصوديوم) الحمضيَّة اللامائية. امزج

محتوى الأنبوب وسخّن المزيج على اللهب مباشرةً حتى يسودَّ المزيج، ولاحظ الرائحة الواخزة.

تجربة (5-6): الكشف عن الكوليسترول Cholesterol Detection

ينتمي الكوليسترول إلى الشحميّات (الليبيدات) غير المتصبّنة؛ وهو مُركّب استروئيدي مُشتَق من نواة الستيران، المؤلّفة من عدّة حلقات، ويحتوي على وظيفة غوليّة واحدة ويُوجَد في مناطق عديدة من الجسم الحي. يمكن أن يتحوّل الكوليسترول إلى حمض الكوليك، وتحت الجلد إلى الكوليسترول 7- منقوص الهيدروجين (أي طليعة الفيتامين D_3).

أ- المواد اللازمة:

محلول هيدروكسيد البوتاسيوم في الغول (15%)، إيتر إيتيلي، غول إيتيلي، كلوروفورم، بلاماء حمض الخل، حمض الكبريت المركّز، محلول ثلاثي كلور الحديد في حمض الخلّ الثلجي (10%)، صفار بيضة.

ب- الأدوات اللازمة:

بياشر نظيفة، قضبان زجاجيّة، أوراق ترشيح، سخّانة كهربائيّة، حمّام مائي.

ج- الإجراء التجريبي:

خذ صفار البيضة المسلوقة وقطّعه إلى أجزاء صغيرة في بيشر نظيف. أضِف 50 مل من الغول الإيتيلي و 25 من الإيتر الإيتيلي؛ ثمّ اخلط المزيج بوساطة قضيب زجاجي لمدّة عشر دقائق ورشّح على ورقة ترشيح مُبلّلة مُسبقاً بالغول الإيتيلي. خذ الراسب واخلطه من جديد مع 10 مل من الغول الإيتيلي و 10 مل من الإيتر الإيتيلي لمدّة عشر دقائق؛ ثمّ رشّح واجمع الرشاحتين. سخّن الرشاحة الناتجة على سخّانة كهربائية حتى التبخُّر التام. خذ الراسب المتبقي وأضف إليه 10 مل من الإيتر و حرّك حتى الانحلال. اسكب بعد ذلك فوق المحلول 30 مل من الأسيتون؛ ولاحظ ترسُّب الليسيتين (الشكل 2- 1).

رشِّح وانقل الرشاحة الحاوية على الكوليسترول إلى بيشر نظيف؛ وبخِّر مُحتواه في حمَّام مائي وأضِف إلى الراسب المتبقي 30 مل من الإيتر الإيتيلي. رشِّح واستخدم المحلول للتجارب اللاحقة.

تجربة (5-7): اختبار ليبرمان بورشارد Liebermann-Borchard Test

ضع 2 مل من المحلول الذي يحتوي على الكولسترول في أنبوب اختبار، وأضِف إليه 3 مل من الكلوروفورم و 1 مل من بلاماء حمض الخلّ وقطرة واحدة من حمض الكبريت المركَّز، وسجِّل الألوان. اترك أنبوب الاختبار لمدَّة 25 دقيقة، ولاحظ اللون النهائي.

سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (5-8): اختبار زاك Zak Test

ضعْ عدَّة حبيبات من ثلاثي كلوريد الحديد $FeCl_3$ في أنبوب اختبار وحُلَّها في 1 مل من حمض الخلّ الثلجي، ثمَّ أضف 2 مل من حمض الكبريت المركَّز. اسكبْ بحذر حوالى 3 مل من الرشاحة الحاوية على الكوليسترول فوق مُحتوى الأنبوب بصورة تنساب فيه على الجدار. لاحظ تشكُّل حلقة ذات لون بنفسجي على الحدِّ الفاصل بين المحلولين.

أعِد التجربة من دون استخدام ثلاثي كلوريد الحديد؛ ولاحظ اللون الناتج.

5-7- القرائن الكيميائيَّة للدسم Chemical Numbers

تتميَّز الدسم بعدد من القرائن الكيميائيَّة التي تُحدَّد من خلالها بعض صفات هذه الدهون؛ ومن هذه القرائن:

أ- قرينة الحموضة Acid Number

ب- قرينة اليود Iodine Number

جـ- قرينة التصبُّن والأسترة Saponification And Ester Number

د- قرينة الأكسدة

تجربة (5-9): قرينة الحموضة Acid Number

أ- مُقدَّمة نظريَّة:

تُحدِّد قرينة الحموضة أو الرقم الحمضي درجة الحموضة في المادة الدسمة، وتُعرَّف بأنَّها كميَّة هيدروكسيد البوتاسيوم (KOH)؛ مُقدَّرةً بالميلي غرام اللازمة لتعديل الحموض الدسمة الحرَّة الموجودة في غرام واحد من المادة الدسمة؛ وهي تتناسب عكساً مع جودة الزيت وتشير بوضوح إلى مدى التحلُّل الحاصل في الزيت أو الدهن؛ وبذلك تفيد قرينة الحموضة (إضافةً إلى المواصفات الكيميائيَّة والفيزيائيَّة الأخرى) في إعطاء معلومات عن الزيت؛ فإذا كان الزيت معصوراً من بذور ناضجة، فإنَّ كمية الحموض الدسمة الحرَّة تكون قليلة، وبالعكس تكون هذه الكميَّة كبيرة في الزيت المستحصَل من بذور فجة. إضافةً إلى ذلك فإنَّ حفظ الزيت وتخزينه لفترات طويلة يُسبِّبان تفكُّك الغليسريدات؛ ما يؤدِّي إلى تراكم الحموض الدسمة الحرَّة فيه وينعكس ذلك في ازدياد قرينة حموضته؛ وهذا يُسبِّب رداءة في جودة الزيت.

يعتمد مبدأ مُعايرة قرينة الحموضة على تعديل الحموض الدسمة الحرَّة الموجودة في الزيت بمحلول هيدروكسيد البوتاسيوم ذي التركيز (0.1N)، الذي يُفضَّل على هيدروكسيد الصوديوم؛ نظراً لأنَّ الأول يعطي بتفاعله مع الحموض الدسمة صابوناً بوتاسيوميَّاً أسهل انحلالاً في شروط التجربة.

ب- المواد و الأدوات اللازمة:

زيت زيتون أو زيت نباتي أو دسم حيواني، مزيج إيتانول وإيتر إيتيلي بنسبة (1:1)، محلول هيدروكسيد البوتاسيوم في الإيتانول(0.1N)، فينول فتالئين.

ج- الأدوات اللازمة:

دورق (أرلينة) سعة 250 مل، مقياس مُدرَّج، ماصَّة معياريَّة، سحاحة، ميزان تحليلي يزن بدقَّة.

د- الإجراء التجريبي:

زِن بدقة 2-3 غ من الزيت باستخدام ميزان تحليلي وضعْه في دورق جاف ونظيف سعته 250 مل، ثمَّ حُلَّه في نحو 1-25 مل من مزيج (الإيتانول- الإيتر الإيتيلي) بنسبة (1:1) والمعدَّل مُسبقاً. أضِف الآن مع التحريك 2- 3 قطرات من مُشعِر الفينول فتالئين إلى محتوى الدورق (يجب ألا يكون لون المحلول ورديَّاً، بل شفَّافاً مُصفَرَّاً قليلاً)؛ ثمَّ عاير بإضافة محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (0.1N) في الإيتانول من السحاحة قطرةً قطرةً مع التحريك المستمرِّ؛ حتى بدء ظهور اللون الوردي الخفيف وثباته لمدَّة نصف دقيقة.

سجِّل الحجم المستهلَك من السحاحة V.

تُحسَب قرينة الحموضة من العلاقة الآتية:

$$X = \frac{N \times V \times Meq}{a}$$

حيث إنَّ:

X: قرينة الحموضة أو الرقم الحمضي.

N: عيار محلول هيدروكسيد البوتاسيوم المستخدَم في التجربة.

V: الحجم المستهلَك من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم مُقدَّراً بالميلي ليتر.

Meq: المكافئ الغرامي لهيدروكسيد البوتاسيوم المستخدَم مُقدَّراً بالغرام (g).

a : كتلة العيِّنة المفحوصة من الزيت مُقدَّرةً بالغرام.

ملاحظات:

1- يجري تعديل مزيج الإيتانول- الإيتر بوساطة محلول (0.1N) نظامي لهيدروكسيد البوتاسيوم في الإيتانول وبوجود 2-3 قطرات من الفينول الفتالئين، حتى يصبح اللون ورديا خفيفاً؛ وبذلك يكون قد تمَّ تعديل أيَّة حموضة في الوسط المخِل ناتجة عن غير المادة الدسمة المراد اختبارها).

2- تبلغ قيمة المكافئ الغرامي لمحلول هيدروكسيد البوتاسيوم 56 غ؛ أي أنَّ قيمة الميلي مكافئ الغرامي هي: 56mg.

3- تُقدَّر حموضة الزيوت والدهون في الصناعة بطريقة أخرى؛ وهي النسبة المئويَّة للحموض الحرَّة الموجودة فيها مُقدَّرةً بحمض الزيت، وتُحسَب على أساس أنَّ عدد الميلي مُكافئات الغرامية لهيدروكسيد البوتاسيوم اللازمة لتعديل 100 غرام من المادة الدسمة هو نفسه عدد الميلي مكافئات الغرامية من حمض الزيت؛ وبذلك تُحسَب النسبة المئوية لحمض الزيت في العيِّنة المفحوصة من العلاقة:

$$\acute{X} = N \times V \times 0.282 \ \frac{100}{a}$$

حيث إنَّ:

$\acute{X}$: النسبة المئوية للحموض الدسمة الحرَّة في العيِّنة المدروسة.

N : عيار محلول هيدروكسيد البوتاسيوم المستهلَك في المعايرة.

V- حجم محلول هيدروكسيد البوتاسيوم المستهلَك في المعايرة، و هو يساوي عدد الميلي مكافئات الغرامية من حمض الزيت الذي جرت مُعايرته.

0.283: قيمة الميلي مكافئ الغرامي من حمض الزيت.

a: كتلة العيِّنة المدروسة مُقدَّرةً بالغرام.

4- تتراوح حموضة الزيوت (مُقدَّرةً كحمض الزيت) بين 0.2- 2.8 غرام في 100 غرام من الزيت؛ و ذلك يعود إلى نوع الزيت و عمره و طريقة حفظه و درجة نضج الثمار؛ فمثلاً إنَّ زيت الزيتون ذا النوعية الجيِّدة لا تتجاوز نسبة حموضته مُقدَّرةً كحمض زيت (1.5%).

تجربة (5-10): قرينة اليود أو الرقم اليودي Iodine Number

أ- مُقدَّمة نظريَّة:

تتعلَّق درجة عدم الإشباع في المادة الدسمة بكميَّة و درجة عدم إشباع الحموض الدسمة غير المشبَعة الموجودة فيها. تخضع الروابط المزدوجة لتفاعلات الضمّ؛ فكلُّ رابطة مُزدوجة تستطيع ضمَّ ذرتي هالوجين؛ لذلك تمَّ اعتماد اليود لتحديد درجة عدم إشباع المادة الدسمة، وقد أُطلِق على هذه الطريقة اسم قرينة اليود. تُحدِّد قرينة اليود كميَّة اليود (مُقدَّرةً بالغرام) اللازمة لإشباع الروابط المزدوجة الموجودة في 100 غرام من المادة الدسمة. تُعَدُّ قرينة اليود من القرائن الهامَّة للزيوت؛ فهي تُحدِّد درجة عدم إشباعها، ومن خلالها يمكن تقدير التغيُّرات التي طرأت على هذه الزيوت نتيجة الحفظ والمعالجة الغذائيَّة والتكنولوجيَّة.

ب- المواد اللازمة:

زيت نباتي، إيتانول، محلول اليود (0.2N) في الإيتانول (يُحَلُّ 23.4 غ من اليود في الإيتانول في دورق حجمي سعة 1000 مل)، محلول $Na_2S_2O_4$ (0.2N)، مطبوخ النشاء (5%).

ج- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار، ماصَّة عياريَّة سعة 10مل، دورق حجمي سعة 1000 مل، دورقان مُصنفَران سعة 250 مل، سحاحة، مقياس مُدرَّج سعة 100 مل، دورق مُعايرة سعة 1000 مل، ميزان تحليلي، حمَّام مائي.

د- الإجراء التجريبي:

ضعْ في دورق مُصنفر جاف سعة 250 مل وزناً مُعيَّناً بدقة (نحو خمس قطرات من الزيت المدروس). أضف 25 مل من الإيتانول لحلِّ العيِّنة، وسخِّن الدورق على حمام مائي لتسريع انحلال الزيت. حضِّر تجربة خالية (مُقارنة)؛ وذلك بأخذ 25 مل من الغول الإيتيلي في دورق ثانٍ سعة 250 مل. أضف إلى كلٍّ من دورقيْ العيِّنة المدروسة

والعيِّنة الخالية 12.5 مل من محلول اليود (0.2N) في الغول الإيتيلي، وامزج جيداً، ثمَّ أضف 100 مل من الماء المقطَّر. امزج جيِّداً و سُدَّ كلَّ دورق بسدادة مُصنفرة. انتظرْ خمس دقائق؛ ثمَّ عاير محتوى الدورقين بمحلول تيوكبريتات الصوديوم (0.1N) حتى ظهور اللون الأصفر الخفيف. أضِف عندها نحو 1 مل من مطبوخ النشاء المحضَّر حديثاً كمُشعِر؛ واستمر بالمعايرة حتى زوال اللون الأزرق بكامله. إنَّ الفرق بين كميَّة تيوكبريتات الصوديوم التي استُهلِكت لمعايرة التجربة الخالية (المقارنة) وتجربة العيِّنة المدروسة يُعبِّر عن كميَّة اليود التي انضمَّت إلى الروابط المزدوجة في الزيت. احسب قرينة اليود من العلاقة الآتية:

$$y = \frac{N(V_2-V_1) \times 0.127 \times 100}{a}$$

حيث إنَّ:

y: قرينة اليود لعيِّنة الزيت المدروس.

N : عيار محلول تيوكبريتات الصوديوم المستخدَم في المعايرة و هو 0.1N.

$\mathbf{V_1}$: الحجم الذي استُهلِك من تيو كبريتات الصوديوم (0.1N) لمعايرة العيِّنة المدروسة مُقدَّراً بالميلي ليتر.

$\mathbf{V_2}$: الحجم الذي استُهلِك من تيو كبريتات الصوديوم (0.1N) لمعايرة التجربة الخالية مُقدَّراً بالميلي ليتر.

$\mathbf{N\ (V_2-V_1)}$: عدد الميلي مكافئات الغراميَّة من اليود التي انضمَّت إلى الروابط المزدوجة في عيِّنة الزيت.

0.127: قيمة الميلي مكافئ الغرامي لليود.

a : كتلة العيِّنة المدروسة من الزيت مُقدَّرةً بالغرام.

تجربة (5-11): قرينة التصبُّن و الأسترة
Saponification And Esterfication Number

أ- مُقدَّمة نظريَّة: تُعرَّف قرينة التصبُّن Z بأنَّها كتلة هيدروكسيد البوتاسيوم (مُقدَّرةً بالميلي غرام) اللازمة لتصبُّن جميع الحموض الدسمة الحرَّة، والمرتبطة على شكل غليسريدات في غرام واحد من المادة الدسمة. تفيد قيمة قرينة التصبُّن (رقم التصبُّن) في إعطاء فكرة أوليَّة عن الكتلة المولِيَّة للحموض الدسمة الداخلة في تركيب الغليسريدات؛ لذلك فهي تُعَدُّ مقياساً لمتوسِّط الكتلة المولية لحموض المادة الدسمة. أمَّا قرينة الأسترةَ Z فتُعرَّف بأنَّها كميَّة هيدروكسيد البوتاسيوم مُقدَّرةً بالميلي غرام اللازمة لمعايرة الحموض الدسمة المرتبطة على شكل غليسريدات في غرام واحد (1g) من المادة الدسمة؛ وبذلك يتضح أنها يمكن أن تُحسَب من الفرق بين قرينة التصبُّن وقرينة الحموضة؛ أي:

$$\acute{Z} = Z - X$$

أ- المواد اللازمة:

مادة دسمة (زيت نباتي)، محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (0.5N) في الإيتانول، فينول فتالئين، حمض كلور الماء (0.5N).

ج- الأدوات اللازمة:

ماصَّة عياريَّة سعة 10مل، دورقان مُصنفَران سعة 250 مل، سحاحة، مقياس مُدرَّج سعة 100 مل، دورقا مُعايرة سعة 250 مل، ميزان تحليلي، حمَّام مائي، مُبرِّد هوائي.

د- الإجراء التجريبي:

ضع في دورق سعة 250 مل 0.5 غرام من مادة دسمة موزونة بدقة، وفي دورق ثانٍ 0.5 مل من الماء (التجربة الخالية)، ثمَّ أضف بدقة بوساطة السحاحة إلى كلٍّ منهما 15 مل من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (0.5N) في الإيتانول. يُسَدُّ كلُّ دورق بمبرِّد هوائي،

ويُسخَّن على حمام مائي بدرجة الغليان لمدَّة 30- 40 دقيقة مع التحريك المستمرّ، والانتباه إلى أنَّ غليان المحلول يجب أن يجري بهدوء شديد؛ بحيث يتمُّ رفع الدورق قليلاً عن الحمام المائي عند شدَّة الغليان. بعد انتهاء التصبُّن يُضاف إلى كلٍ من الدورقين 3-4 قطرات من الفينول فتالئين.

يُعاير بعد ذلك كلُّ دورق بمحلول حمض كلور الماء (0.5N) حتى لحظة زوال اللون الوردي.

تُحسَب قرينة التصبُّن من العلاقة الآتية:

$$Z = \frac{(V_2 - V_1) \times 28.05}{a}$$

حيث إنَّ:

Z : قرينة التصبُّن.

$\mathbf{V_1}$: حجم حمض كلور الماء الذي تمَّ استهلاكه لمعايرة تجربة العيِّنة المدروسة مُقدَّراً بالمل.

$\mathbf{V_2}$: حجم حمض كلور الماء اللازم لمعايرة التجربة الخالية مُقدَّراً بالمل .

$\mathbf{V_2-V_1}$: حجم حمض كلور الماء اللازم لمعايرة هيدروكسيد البوتاسيوم الذي تفاعل مع المادة الدسمة.

28.05 : عدد ميلي غرامات هيدروكسيد البوتاسيوم التي تكافىء 1 مل من محلوله ذي التركيز 0.5N (كلُّ 1 مل من محلول KOH ذي التركيز 0.5 نظامي يكافىء 1 مل من محلول HCl ذي التركيز 0.5 نظامي).

a : كتلة المادة الدسمة المدروسة مُقدَّرةً بالغرام.

سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي الخاص بك.

تجربة (5-12): تحديد قرينة الأكسدة Oxidation number

أ- مُقدَّمة نظريَّة:

تتعرَّض الحموض العضويَّة غير المشبَعة في الدسم بسهولة إلى الأكسدة تحت تأثير أوكسجين الهواء أو الرطوبة أو الضوء أو بعض الأنزيمات، وتتشكَّل فوق الأكاسيد التي تتفكَّك مُعطيةً الأوكسجين الذري وأكاسيد الحموض. يتحوَّل الأوكسجين الذري بوجود الماء إلى الماء الأوكسجيني H_2O_2 والأوزون O_3. تتحدَّد قرينة الأكسدة كميَّاً بتحديد كميَّة فوق الأكاسيد الموجودة في الزيت النباتي الذي يعتمد على تشكُّل اليود الحرّ، نتيجةً لتفاعل فوق الأكاسيد مع يود البوتاسيوم في وسط حمضي.

تُعرَّف قرينة الأكسدة بأنها عدد غرامات اليود I_2 التي تتحرَّر بوساطة فوق الأكاسيد الموجودة في 100 غرام من الزيت.

ب- المواد اللازمة:

زيت نباتي أو زيت زيتون، حمض الخلّ الثلجي، كلوروفورم، محلول مُشبَع ليود البوتاسيوم، محلول تيوكبريتات الصوديوم (0.002N) نظامي، مطبوخ النشاء مُحضَّر حديثاً.

ج - الأدوات اللازمة:

سحاحة سعتها ($25cm^3$)، مِلقط للسحاحة، دورق سعته ($200cm^3$)، مقياس مُدرَّج سعته ($25cm^3$)، كأس سعتها ($200cm^3$).

جـ- الإجراء التجريبي:

ضع غرامين من الزيت في دورق سعته ($200cm^3$) ، وحُلَّه في ($20cm^3$) من مزيج حمض الخلّ الثلجي والكلوروفورم (بنسبة حجميَّة 1:2). أضِف بعد ذلك ($5cm^3$) من محلول مُشبَع ليود البوتاسيوم. أغلق الدورق بعد رجّ المزيج وضعه في مكان مُظلم مُدَّة عشر دقائق، ثمَّ أضِف بعدها ($50cm^3$) من الماء المقطَّر. عاير اليود المتشكِّل بوساطة

محلول تيوكبريتات الصوديوم (0.002N) نظامي؛ مع إضافة محلول النشاء كمُشعِر. قمْ في الوقت نفسه بإجراء التجربة الخالية (أي دون إضافة الزيت).

احسب قرينة الأكسدة من العلاقة الآتية:

$$OX = \frac{N\,(V2 - V1) \times 0.127 \times 100}{a}$$

N: عيار محلول تيوكبريتات الصوديوم المستخدَم للمعايرة (0.1N).

V1: حجم محلول تيوكبريتات الصوديوم (0.1N) الذي تمَّ استهلاكه لمعايرة العيِّنة المدروسة من الزيت، مُقدَّراً بالسنتيمتر المكعب (cm^3).

V2: حجم محلول تيوكبريتات الصوديوم (0.1N) الذي تمَّ استهلاكه لمعايرة التجربة الخالية، مُقدَّراً بالسنتيمتر المكعب (cm^3).

0.127: قيمة الميلي مكافئ غرامي من اليود، مُقدَّرةً بالميلي غرام (mg).

a: وزن عيِّنة الزيت المدروسة، مُقدَّراً بالغرام (g).

ملاحظة هامَّة:

عند إجراء الحسابات أخذنا بالحسبان أنَّ كلَّ سنتيمتر مكعب واحد من محلول تيوكبريتات الصوديوم ذي العيار (0.1N)، يُعادل سنتيمتراً مكعباً واحداً من محلول اليود ذي العيار (0.1N)؛ وهذا الأمر جرى تطبيقه أيضاً في تجربة تحديد قرينة اليود.

5-8- التحليل الكمّي للشحوم

سنقوم في هذا المجال بإجراء تجربتين تتعلَّقان بتحديد نسبة الشحوم العامَّة والكوليسترول العام في مصل الدم، نظراً للأهميَّة الحيويَّة لهذا الموضوع؛ وهاتان التجربتان؛ ويتمُّ ذلك بطريقتين هما:

1- مُعايرة الشحوم في مصل الدم بطريقة سلفوفوسفوفانيلين.

2- مُعايرة كوليسترول مصل الدم بطريقة ليبرمان- بورشارد.

تتراوح النسبة الطبيعيَّة للشحوم في مصل الدم بين 400- 800 مغ/100 مل. ترتفع هذه النسبة عند تناول كميَّات كبيرة من المواد الدسمة؛ وهذه الزيادة تدوم لبضع ساعات. يُسبِّب ارتفاع الشحوم الإصابة بأمراض تصلُّب الشرايين والسكري؛ والتهاب الكبد و التهاب الكليتين الشحمي. تتراوح نسبة الكوليسترول الطبيعيَّة بين 150- 250 مغ/100 مل عند الإنسان البالغ، وتنقص عند حديثي الولادة (40- 60 مغ/100 مل)، وتزداد مع التقدُّم في العمر. ترتفع نسبة الكوليسترول مع ازدياد نسبة الشحوم في الدم، و تنخفض في حالات التهاب المعي الغليظ وأمراض المعثكلة الحادة.

تجربة (5-13): مُعايرة الشحوم في مصل الدم بطريقة سلفوفوسفوفانيلين

يجري تحديد الشحوم في مصل الدم بعد ليلة من الصيام، وتعتمد هذه الطريقة على تفاعل مصل الدم مع حمض الكبريت الكثيف بالتسخين، حيث تتفكَّك الروابط المزدوجة في الشحوم؛ و بإضافة كاشف الفانيلين تتشكَّل مُعقَّدات ذات لون زهري تتناسب شدَّته مع كميَّة الشحوم الموجودة في العيِّنة.

أ- المواد اللازمة:

حمض الكبريت الكثيف، حمض الفوسفور (85%)، محلول الفانيلين (0.6%)، كلوروفورم، محلول ثلاثي الزيتين 20 مغ بالليتر في الكلوروفورم (يُحفَظ في زجاجة عاتمة بعيداً عن الضوء و الحرارة)، كاشف الفانيلين؛ يُحضَّر بمزج أربعة حجوم من حمض الفوسفور (85%) مع حجم واحد من محلول الفانيلين (0.6 %)، ويُحفَظ في زجاجة عاتمة بعيداً عن الضوء و الحرارة.

ب- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار، حمَّام مائي.

ج- الإجراء التجريبي:

*** تحضير العيِّنة:**

ضعْ في أنبوب اختبار نظيف 0.1 مل من مصل الدم المراد فحصه وأضِف 3.9 مل من حمض الكبريت الكثيف. امزج مُحتوى الأنبوب بحذر، وضعْه في حمَّام مائي بدرجة الغليان مُدَّة عشر دقائق، ثمَّ برِّد الأنبوب مباشرةً بوساطة تيار من الماء. خذْ 0.2 مل من المحلول وضعْها في أنبوب اختبار، ثمَّ أضف 5 مل من كاشف الفانيلين وامزج بلطف، وضعْ الأنبوب في الظلام لمدَّة 30 دقيقة.

*** التجربة الخالية:**

خذ 0.1 مل من الماء المقطَّر و عالجه بشروط معالجة العيِّنة نفسها.

*** تجربة المقارنة:**

خذ 0.1 مل من محلول الزيت وعالجه بشروط معالجة العيِّنة نفسها.

د- إجراء الحسابات:

قِس امتصاصيَّة كلٍّ من العيِّنة و تجربة المقارنة مع محلول البلانك عند طول الموجة 530n.m. احسب كميَّة الشحوم (الليبيدات) الكليَّة من العلاقة الآتية:

$$C_u = C_s \frac{A_u}{A_s} 100$$

حيث إنَّ:

C_u : تركيز الشحوم في العيِّنة مُقدَّرةً بالـ مغ/100 مل مصل الدم.

C_S : تركيز المحلول المعياري 120 مغ/100 مل مصل دم.

A_U : امتصاصيَّة المحلول المجهول.

A_S : امتصاصيَّة تجربة المقارنة.

تجربة (5-14): مُعايرة كوليسترول مصل الدم بطريقة ليبرمان-بورشارد

تعتمد هذه الطريقة على استخلاص الكوليسترول من مصل الدم بوساطة مزيج غول إيتيلي-إيتر إتيلي، وقياس امتصاصيَّة الكوليسترول بعد إجراء تفاعل ليبرمان- بورشارد.

أ- المواد اللازمة: مزيج غول إيتيلي، إيتر إيتيلي، مصل دم، كوليسترول، كلوروفورم، بلاماء حمض الخل، حمض كبريت مُركَّز.

ب- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار، مُثفِّلة، حمَّام مائي، مصباح بنزن، جهاز الطيف المرئي.

ج- الإجراء التجريبي:

*** تحضير المحلول المعياري الأساسي:**

حُلَّ 100 مغ كوليسترول في 80 مل غول إيتيلي باستخدام الحمام المائي، ثمَّ أكمِل الحجم حتى 100 مل بالغول الإيتيلي.

*** تحضير محلول العيِّنة:**

ضع في أنبوب اختبار 8 مل من الغول الإيتيلي و 2 مل من الإيتر الإيتيلي، ثمَّ أضف 2 مل من مصل الدم و امزج بشكلٍ جيد، ثمَّ اترك الأنبوب بشكلٍ مائل مُدَّة نصف ساعة وثفِّل. انقل السائل الرائق إلى أنبوب اختبار آخر، و بخِّر في حمام مائي بدرجة الغليان حتى الجفاف. أضِفْ فوق الراسب 5 مل من الكلوروفورم و 2 مل من بلاماء حمض الخل و 0.1 مل من حمض الكبريت الكثيف؛ وامزج بصورة جيِّدة. اترك الأنبوب بعيداً عن الضوء مُدَّة عشر دقائق، ثمَّ قِس الامتصاصيَّة عند طول الموجة 610 نانومتر؛ وسجِّلها في دفتر العملي الخاص بك.

د- تحضير محلول المقارنة و المحاليل المعياريَّة:

حضِّر محلول المقارنة و المحاليل المعياريَّة S_4, S3, S2, S1 كما في الجدول الآتي:

	محلول مقارنة	سلسلة معيارية			
		S1	S2	S3	S4
محلـــول معيـــاري أساسي	0	0.2ml	0.4ml	0.6ml	0.8ml
غول ايتيلي	0.8ml	0.6ml	0.4ml	0.2ml	0
كلوروفورم	5ml	5ml	5ml	5ml	5ml
بلامـــاء حمـــض الخل	2ml	2ml	2ml	2ml	2ml
حمـــض الكبريـــت المركز	0.1ml	0.1ml	0.1ml	0.1ml	0.1ml

*** الحساب:**

– ارسم الخط البياني الذي يوُضِّح العلاقة ما بين قيم امتصاصيَّة محاليل السلسلة المعيارية و كميَّة الكوليسترول.

– استنتج من الخط البياني كمية الكوليسترول الموجودة في 2 مل من المصل.

5-9- أهمية تحديد نسبة الليبيدات العامة والكوليسترول العام

تـتراوح النسـبة الطبيعيـة للشـحوم في مصـل الـدم بـين 400- 800 مـغ/100 مـل. ترتفع هـذه النسبة عنـد تناول كميَّات كبيرة من المواد الدسمة؛ وهـذه الزيادة تـدوم لبضع ساعات. يُسبِّب ارتفاع الشحوم الإصابة بأمراض تصلُّب الشرايين والسكري؛ والتهاب الكبد و التهاب الكليتين الشحمي.

تتراوح نسبة الكوليسترول الطبيعية بين 150- 250 مغ/100 مل عند الإنسان البالغ، وتنقص عند حديثي الولادة (40- 60 مغ/100 مل)، وتزداد مع التقدُّم في العمر. ترتفع نسبة الكوليسترول مع ازدياد نسبة الشحوم في الدم، وتنخفض في حالات التهاب المعي الغليظ وأمراض المعثكلة الحادة.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل السادس

الحموض الأمينيَّة والبروتينات

AMINO ACIDS AND PROTEINS

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الحموض الأمينيَّة والبروتينات
AMINO ACIDS AND PROTEINS

1-6- مُقدَّمة

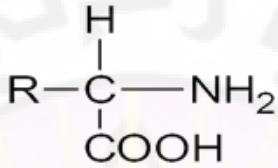
تولِّد الخلايا الحيَّة العديد من الجزيئات الضخمة المتنوِّعة ؛ وأهمُّها البروتينات والحموض النووية ومُتعدِّدات السكر التي تُستخدم كمُكوِّنات بنيويَّة ووسائط بيولوجيَّة وهرمونات؛ إضافةً إلى استعمالها كمستودعات أو خزانات للمعلومة الوراثيَّة التي تميِّز الأصناف عن بعضها البعض. إنَّ هذه الجزيئات الضخمة هي عبارة بوليميرات حيويَّة مُركَّبة من وحدات مُعيَّنة من المونوميرات، أي من اللبنات البنائية الأساسيَّة للحياة.

تكون الوحدات المونوميريَّة في الحموض النوويَّة على شكل نوكليوتيدات، و تكون في مُتعدِّدات السكر المركَّبة على شكل مُشتقَّات سكريَّة، أمَّا في البروتينات فتكون حموضاً أمينيَّة. تُوجَد البروتينات في جميع خلايا الحيوان والنبات؛ وهي تقوم بدور أساسي في وظائف المادة الحيَّة، فبعض البروتينات (الأنزيمات) تتوسَّط النشاط الفيزيائي والكيميائي الحيوي، وبعضها الآخر كناية عن عناصر بنيويَّة وهرمونات وحاملات أوكسيجين؛ ورغم أنَّ العديد من البروتينات يحتوي إضافةً إلى الحموض الأمينيَّة على مواد إضافية، فإنَّ البنية ثلاثيَّة الأبعاد والخواص البيولوجيَّة للبروتينات تحدَّد بصورة رئيسيَّة نوع الحموض الأمينيَّة الموجودة، والتسلسل الذي تتحد فيه مع بعضها في هيئة سلسلة مُتعدِّدة الببتيد (Polypeptide)؛ كما تُحدِّد التوضُّع الفراغي للحموض الأمينيَّة، ولا بدَّ من الإشارة إلى أنَّ الخواص البيولوجيَّة المميِّزة للبروتينات ناجمةٌ قبل كلِّ شيء عن التأثيرات المتبادلة (Interaction) النوعيَّة بين الحموض الأمينيَّة التي تتكوَّن منها؛ ولابدَّ لمعرفة وفهم كيمياء البروتينات من التعرُّف إلى كيمياء الحموض الأمينيَّة وفهمها.

6-2- الحموض الأمينيَّة

تمتلك الحموض الأمينيَّة زمرتين وظيفيتين؛ زمرة وظيفيَّة كربوكسيليَّة ذات طبيعة حمضيَّة (–COOH) و زمرة وظيفيَّة أمينيَّة ذات طبيعة قلويَّة (–NH_2).

تتصل هاتان الزمرتان مع ذرة الكربون (α) في جزيئة α- الحمض الأميني بالشكل الآتي:



ورغم وجود ما يزيد على ثلاثمئة من الحموض الأمينيَّة المختلفة الأنواع، إلا أنَّ عشرين حمضاً منها فقط يدخل في تركيب البروتينات. تتميَّز هذه الحموض بأنَّها من النوع (α)، أي أنَّ الزمرتين الوظيفيتين ترتكزان على ذرة كربون واحدة كما أسلفنا.

يبيِّن الجدول (6- 1) صيغ α- الحموض الأمينيَّة الداخلة في تركيب البروتينات مع رموزها الثلاثية الأحرف.

6-2-1- تصنيف الحموض الأمينيَّة

بناءً على قطبيَّة الزمرة القابلة للتغيُّر التي تتصل بذرة الكربون α، والتي تتميَّز بتأثيرها القوي على سلوكيَّة الحموض الأمينيَّة، تُقسَم الحموض الأمينيَّة الموجودة في البروتينات إلى مجموعتين كبيرتين رئيستين هما: الحموض الأمينيَّة القطبيَّة والحموض الأمينيَّة اللاقطبيَّة (الجدول 6- 2)، ويُفضَّل في العديد من الحالات تقسيم الحموض الأمينيَّة إلى خمس مجموعات رئيسيَّة (انظر الجدول 6-1) وهي:

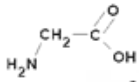
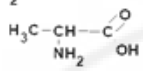
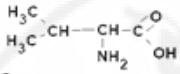
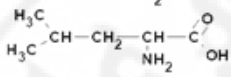
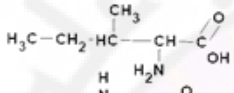
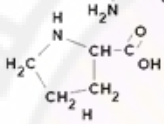
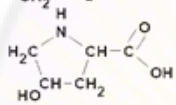
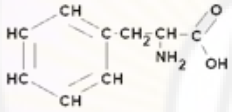
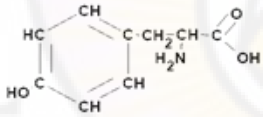
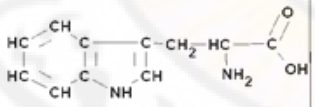
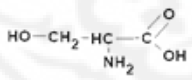
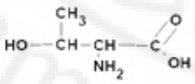
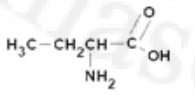
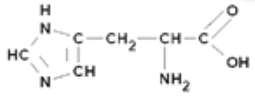
1- الحموض الأمينيَّة ذات السلاسل الجانبيَّة الكارهة للماء Hydrophobic

تضمُّ هذه الحموض الغليسين، الألانين، الفالين، اللوسين، الإيزولوسين، الفينيل ألانين، التربتوفان و البرولين. تنطوي جزيئة البروتين الضخمة لتأخذ شكلها المميَّز؛ وذلك

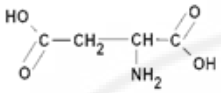
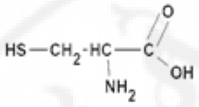
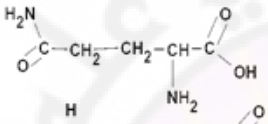
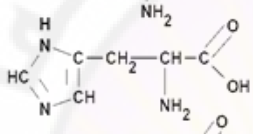
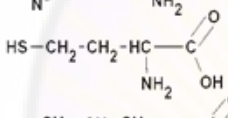
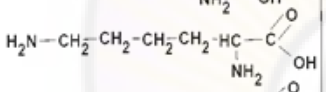
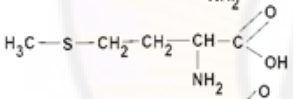
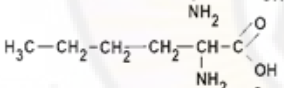
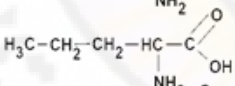
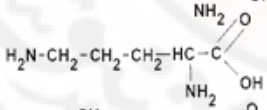
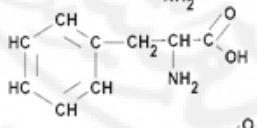
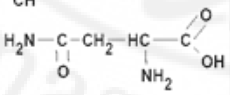
بفضل الزمر الكارهة للماء التي تميل إلى الانضمام إلى بعضها أكثر من الزمر القطبية، وتبتعد السلاسل الجانبيَّة الهيدروفوبية عن الوسط المائي قدر الإمكان.

الجدول (6- 1): α - الحموض الأمينيَّة الداخلة في تركيب البروتينات

الحمض الأميني		الرمز المختصَر
غليسين	Glycine	Gly
ألانين	Alanine	Ala
فالين	Valine	Valine
ليسين	Leucine	Leu
إيزوليسين	Isoleucine	Ile
برولين	Propline	Pro
هيدروكسي برولين	Hydroxyproline	Hyp
فينيل ألاجينيننين	Phenylalanine	Phe
تيروزين	Tyrosinr	Tyr
تريبتوفان	Tryptophan	Trp
سيرين	Serine	Ser
تريونين	Threonine	Thr
حمض الزبدة الأميني	AminobutyricAcid	Abu
أرجينين	Argenine	Arg

الحمض الأميني	الرمز المختصر	الصيغة المفصلة
Glycine	Gly	
Alanine	Ala	
Valine	Val	
Leucine	Leu	
Isoleucine	Ile	
Proline	Pro	
Hydroxyproline	HyP	
Phenylalanine	Phe	
Tyrosine	Tyr	
Tryptophan	Trp	
Serine	Ser	
Threonine	Thr	
Aminobutyric Acid	Abu	
Arginine	Arg	

تابع لجدول (6-1) α - الحموض الأمينيّة الداخلة في تركيب البروتينات

الحمض الأميني	الرمز المختصر	الصيغة المفصلة
Aspartic Acid	Asp	
Cysteine	Cys	
Glutamine	Gln	
Histidine	His	
Homocysteine	Hcy	
Lysine	Lys	
Methionine	Met	
Norleucine	Nle	
Norvaline	Nva	
Ornithine	Orn	
Phenylalanine	Phe	
Asparagine	Asn	

الجدول (6- 2): تصنيف الحموض الأمينيَّة الموجودة في البروتينات تبعاً لقطبيَّة الزمرة R

الحموض الأمينيَّة اللاقطبيَّة	الحموض الأمينيَّة القطبيَّة
الألانين	الأرجينين
الفينيل ألانين	الأسباراجين
اللوسين	السيستئين
الإيزولوسين	حمض الأسبارتيك
الميتيونين	حمض الغلوتاميك
البرولين	الغليسين
التربتوفان	الهيستيدين
الفالين	الليزين
	السيرين
	التريونين
	التيروزين

2- الحموض الأمينيَّة ذات السلاسل الجانبيَّة الحاوية على زمرة هيدروكسيليَّة أو فينوليَّة:

وهي السيرين، التريونين، والتيروزين، وفيها تحمل السلسلة الجانبيَّة زمرة غوليَّة أو فنوليَّة؛ وهذه السلاسل لا تكون في الوسط الخلوي قلويَّة أو حمضيَّة، وإنَّما قطبيَّة مُحبَّة للماء Hydrophilic (غير مشحونة). تستطيع هذه الحموض تشكيل روابط هيدروجينيَّة وهي تقوم بدور الآخذ أو بدور المانح. تنطوي سلسلة البروتين الطويلة بفضل الروابط الهيدروجينيَّة لتأخذ شكلها النهائي، ويميل هذا الطرف من السلسلة إلى الظهور في الطور المائي المحيط.

3- الحموض الأمينيَّة ذات السلاسل الجانبيَّة الحمضيَّة:

يمتلك كلٌّ من حمض الأسبارتيك و الغلوتاميك زمرة كربوكسيليَّة إضافيَّة في السلسة الجانبيَّة، ويُصادَف مثل هذه الزمر الإضافيَّة بكثرة كشوارد كربوكسيلية (^{-}COO-) في البروتينات في وسط pH القريب من المعتدل أو القلوي الضعيف؛ كما هو الحال في سوائل الجسم. يُوجَد كلٌّ من حمض الأسبارتيك و حمض الغلوتاميك غالباً على شكل أسباراجين وغلوتامين، أي أنَّ الزمرة الكربوكسيليَّة في السلسلة الجانبيَّة تكون على شكل أميد، علماً أنها زمرٌ قطبيَّة ولوعة (شغوفة) بالماء أيضاً.

4- الحموض الأمينيَّة ذات السلاسل الجانبيَّة القلويَّة:

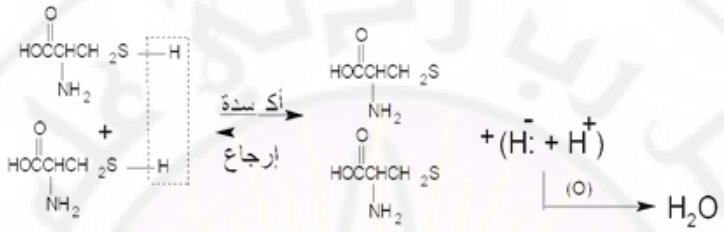
يحتوي الليزين على زمرة أمينيَّة إضافيَّة تجعل السلسلة الجانبيَّة قلويَّة ولوعة بالماء وتُشكِّل روابط هيدروجينيَّة كآخذة Accepor وكمانحة Donor تحتوي السلسة الجانبيَّة للأرجينين على زمرة غوانيدين ($-NH-\overset{\overset{NH}{\|}}{C}-NH_2$)؛ و هي من الزمر القويَّة الآخذة للبروتون في المتعضية الحيَّة، وتصبح غالباً على شكل شاردي ($-NH-\overset{\overset{NH_2^+}{\|}}{C}-NH_2$) حتى في وسط الـ pH القلوي الضعيف.

5- الحموض الأمينيَّة ذات السلاسل الجانبية الحاوية على الكبريت:

تحتوي السلسلة الجانبيَّة للسيستئين على زمرة (SH—) التي تُدعَى المركبتان أو السلفوهيدريل. تتأكسد المركبتانات بسهولة كبيرة مُعطيةً جسراً ثنائي الكبريت (Disulfides) الذي يُرجَع بسهولة إلى مركبتانات وفق المعادلة الآتية:

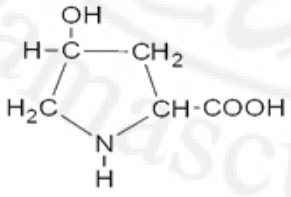
$$2\ R\text{-}SH \rightleftharpoons R\text{-}S\text{-}S\text{-}R + H_2O$$

إنَّ زمرة السلفوهيدريل في السيستئين فعَّالة تجاه الكواشف المؤكسِدة، فالسيستئين وشكله المؤكسَد السيستين، يمكنهما التحوُّل إلى بعضهما من خلال عمليَّة الأكسدة والإرجاع، وتُعَدُّ هذه الخاصيَّة هامَّة في كيمياء البروتينات؛ كما في المعادلة الآتية:

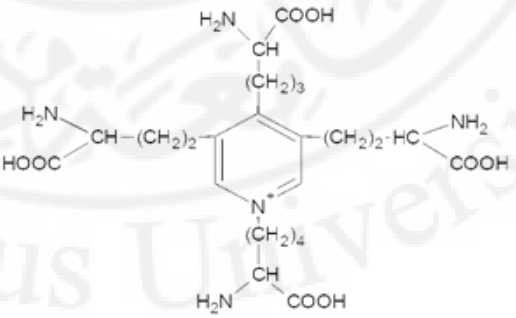


سيستدين سيستين

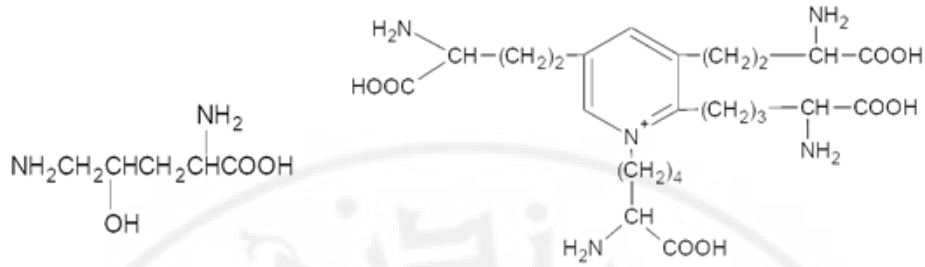
ينتشر جسر ثنائي الكبريت في البروتينات التي لها وظائف حماية، مثل بروتينات الشعر والصوف والأظافر والقشور. إضافةً إلى ذلك هناك الحموض الأمينيَّة النادرة الداخلة في تركيب البروتينات؛ حيث أُمكِن فصل بعض هذه الحموض الأمينيَّة التي لم يرد ذكرها في الجدول (6- 2) من خلال حلمهة بعض البروتينات الخاصَّة التي تُعدُّ مُشتقَّاتٍ للحموض الأمينيَّة العاديَّة. نقابل في هذه البروتينات النباتيَّة وفي الكولاجين مُشتق البرولين بكميَّات كبيرة ؛ وهو 4- هيدروكسيد البرولين ومُشتق الليزين؛ وهو 5- هيدروكسي الليزين؛ وقد فُصِل من حاصل حلمهة الإيلاستين الديسموزين والإيزوديسموزين (الشكل 6- 1)



هيدروكسي برولين



ديسموزين



5-هيدروكسيليزين　　إيزو ديسموزين

الشكل (6- 1) بعض الحموض الأمينيَّة الداخلة في تركيب البروتين

يُلاحَظ أنَّ للديسموزين والإيزوديسموزين صيغة غير عاديَّة، فقد بُنيا مع أربع جزيئات ليزين مرتبطة بالجذر (R) ومُشكِّلة حلقة بيريدينيَّة مُستبدلة.

بفضل هذه الصيغة يمكن للديسموزين والإيزوديسموزين تشكيل أربع روابط ببتيديَّة؛ ومن المعروف أنَّ الإيلاستين يتميَّز عن غيره من البروتينات بأنَّه يمتلك خاصيَّة الامتداد في اتجاهين. و لابدَّ من الإشارة هنا إلى أنَّ احتمال اكتشاف حموض أمينيَّة أخرى جديدة تدخل في تركيب البروتينات هو أمرٌ وارد، ولكنَّ عددها سيكون محدوداً، ويمكن أن تكون من مُشتقَّات الحموض الأمينيَّة المعروفة.

6-2-1-2- الحموض الأمينيَّة غير الداخلة في تركيب البروتينات

نجد إضافةً إلى الحموض الأمينيَّة العاديَّة والنادرة أكثر من 200 حمض أميني في الخلايا و الأنسجة الحيَّة المختلفة حرَّة أو مُرتبطة؛ ولكنها لا تدخل أبداً في تركيب البروتينات، ويُمثِّل العدد الكبير منها مُشتقات α- الحموض الأمينيَّة الموجودة في البروتينات ويُعرَف أيضاً β-، γ-، δ- الحموض الأمينيَّة. لوحِظت بعض الحموض الأمينيَّة من الشكل D- مثل D- حمض الغلوتاميك في الأنسجة الخلويَّة للبكتريا. وتتشكَّل بعض الحموض الأمينيَّة كنواتج وسطيَّة في الاستقلاب أو في الاصطناع الحيوي، مثل ذلك β- ألانين الذي يُعَدُّ مُركَّباً وسطيَّاً لأحد الفيتامينات (حمض البانتوتينيك)، والسيترولين (Citrulline)، والأورنيثين (Ornithine)؛ وهذان الأخيران يُشكِّلان مُركبَّين

وسطيين في عمليَّة الاصطناع الحيوي للبولة، إضافةً إلى أحادي يود التيروزين MIT، ثنائي يود التيروزين DIT، ثلاثي يود التيروزين T_3 والتيروكسين T_4؛ وهي سلف الهرمونات الدرقيَّة.

يُسبِّب الخلل في استقلاب الحموض الأمينيَّة أمراضاً مُتعدِّدة تترافق مع التخلُّف العقلي بصورة عامة، وطرح كميَّات من حمض أميني أو أكثر ومُستقلباتها في البول تُسمَّى البيلة بيلة الحمض الأميني، كبيلة الفينيل كيتون والهوموسيستئين.

تبدي جميع الحموض الأمينيَّة خواص الحموض بفضل وجود الزمرة الوظيفيَّة الكربوكسيليَّة، و خواص الأمينات بفضل وجود الزمرة الوظيفيَّة الأمينيَّة، كما ترتبط بكلتا الزمرتين الوظيفيتين الكربوكسيليَّة و الأمينيَّة معاً، إضافةً إلى الزمر الموجودة في السلسلة الجانبيَّة، فمثلاً يمتلك التيروزين الصفات الكيميائيَّة للفينول، بينما يمتلك السيرين الصفات الكيميائيَّة للغول.

6-2-2- خصائص الحموض الأمينيَّة

يمكن إجمال أهمِّ خصائص الحموض الأمينيَّة بما يلي:

1- تنحلُّ مُعظم الحموض الأمينيَّة في المحلات القطبيَّة كالماء والغول، ولا تنحلُّ في المحلات اللاقطبيَّة؛ مثل الإيتر والبنزين.

2- تقوم الحموض الأمينيَّة الحلقيَّة بامتصاص الأشعَّة فوق البنفسجيَّة؛ مثل التربتوفان والتيروزين والفينيل ألانين.

3- تتشرَّد الحموض الأمينيَّة وتتمتَّع بخواص مُذبذبة؛ ما يسمح بفصلها بعمليَّة الرحلان الكهربائي electrophorisis؛ فعند pH=6 مثلا يكون بعضها مشحوناً سلباً ويتجه نحو المصعد، والآخر مشحوناً إيجاباً ويتجه نحو المهبط، وتتناسب سرعة الرحلان مع الكتلة الجزيئيَّة؛ حيث يكون أسرعها هو أصغرها كتلةً جزيئيَّةً. بتغيُّر قيمة pH يمكن فصل بقيَّة الحموض الأمينيَّة.

6-2-3- طرائق الكشف عن الحموض الأمينيَّة

تعتمد طرائق الكشف عن الحموض الأمينيَّة على اختلاف الجذر R. يجري لهذا الغرض استخدام التفاعلات اللونيَّة التي تُعَدُّ حسَّاسة ونوعيَّة وتسمح بالكشف حتى عن المقادير الصغيرة من هذا الحمض الأميني أو ذاك؛ الذي يدخل في تركيب جميع النسج وعصارات الجسم الحي؛ كما تُستخدَم في ناتج حلمهة البروتينات بعض التفاعلات الملوَّنة لتعيين الحموض الأمينيَّة كمياً، إضافةً إلى بعض التفاعلات الكيميائيَّة الأخرى التي تُعَدُّ هامَّة جداً للكيمياء الحيويَّة، والتي تتحقَّق في الحياة الطبيعيَّة، كتفاعلات الحموض الأمينيَّة مع السكريَّات.

تجربة (6-1): تفاعل النينهيدرين Ninhydrin Reation

أ- مُقدَّمة نظريَّة:

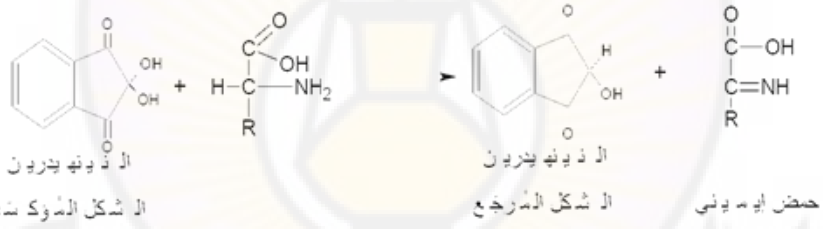
يُعَدُّ هذا التفاعل تفاعلاً عامَّاً للكشف الكيفي عن الحموض الأمينيَّة الطبيعيَّة؛ لأنَّ جميع هذه المركَّبات تتفاعل مع النينهيدرين عبر مراحل مُتعاقبة؛ مُعطيةً صباغاً أزرق بنفسجيَّاً كدليل على وجودها في المادة المدروسة. ولما كان وجود الحمض الأميني بشكله الحرّ ووجوده في البنية البروتينيَّة لا يمسَّان بنية الجذر R في جزيئته ولا يتعلَّقان بها، وهي حرَّة في كلتا الحالتين، ولكون الاختلاف بين وضع الحمض بشكله الحرّ أو في البنية البروتينيَّة مُتعلِّقاً بارتباط زمرتي الكربوكسيل والأمين في جزيئته؛ فإنَّ تفاعل النينهيدرين يجب أن يجري مع هاتين الزمرتين الوظيفيتين، وتحديد ما إذا كانتا حُرَّتين أو مُرتبطتين.

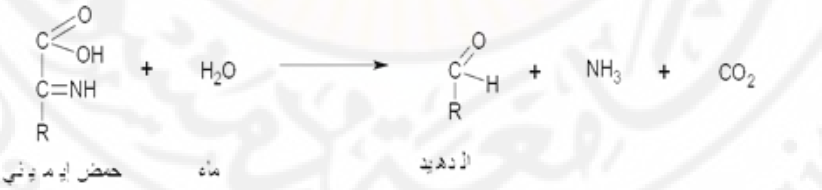
في الواقع يحصل في هذا التفاعل نزع الزمرة الكربوكسيليَّة الحرَّة وتكاثف الزمرة الأمينيَّة الحرة مع جزيئتي النينهيدرين؛ ليتشكَّل مُعقَّد ذو لونٍ أزرق بنفسجي (بنفسجي رومان)، ويتحرَّر ما يتبقى من الحمض الأميني بعد تأكسد الكربون على شكل ألدهيد، أي أنَّ التفاعل يمرُّ في المراحل الآتية:

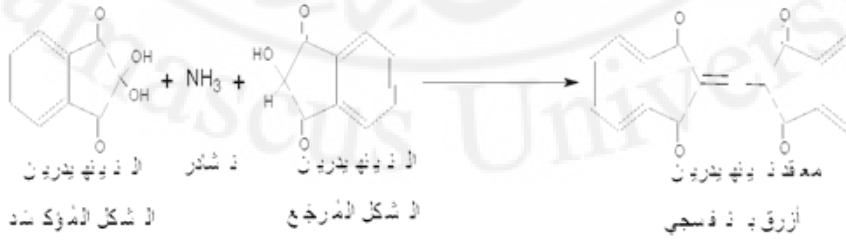
1- يتفاعل في المرحلة الأولى النينهيدرين مع الحمض الأميني في أثناء التسخين مُعطياً كنواتج أوليَّة النينهيدرين بشكله المرجَع (جزئيّاً)، و α- حمض إيميني؛ إضافةً إلى جُزيئة من الماء. نُسمِّي هذه العمليَّة نزع الزمرة الأمينيَّة (deamination).

2- لا يلبث α- الحمض الإيميني أن يتفاعل مع الماء؛ مُشكِّلاً ألدهيداً وتاركاً وراءه جُزيئة نشادر (NH_3) وجُزيئة من غاز ثنائي أكسيد الكربون CO_2. نُسمِّي هذه العمليَّة نزع الزمرة الكربوكسيليَّة (decarboxylation).

3- تحدث في المرحلة الثالثة والأخيرة عمليَّة تكاثف للنينهيدرين المرجَع جزئيّاً والنشادر وجزيئة نينهيدرين جديدة؛ حيث يحصل فقدان ثلاث جزيئات ماء مع تشكُّل مُعقَّد وسطي لايلبث أن يتفاعل مع النشادر، ليتشكَّل بنتيجة ذلك المعقَّد النهائي ذو اللون الأزرق البنفسجي (بنفسجي رومان). تُوضِّح المعادلات الآتية مسار هذا التفاعل:







ملاحظة:

فيما يتعلَّق بالمرحلة الثانية تجب الإشارة إلى أنه إذا جرى التفاعل في درجة حرارة الغرفة يمكن أن يتشكَّل مُركَّب α- كيتو حمض بدلاً من ألدهيد، أمَّا إذا جرى التفاعل في درجة حرارة أعلى؛ فعندئذٍ يتشكَّل ألدهيد يكون عدد ذرات الكربون فيه أقلَّ بذرة كربون واحدة؛ ممَّا هو في الحمض الأميني الأصلي.

أ- المواد اللازمة:

محلول الغليسين (0.1%)، كاشف النينهيدرين، محلول التيروزين (0.1%)، محلول بروتينات البيض.

*** تحضير كاشف النينهيدرين:**

يُوزَن 0.4 غ من النينهيدرين ويُحَلُّ في 40 مل من الغول الإيتيلي (96%) ثمَّ يُمدَّد المحلول بالماء المقطَّر حتى يصبح الحجم الكلي مُساوياً 400 مل.

*** تحضير بروتينات البيض:**

يُؤخَذ خمس بيضات ويُفصَل الصفار عن البروتينات، ثمَّ تُحَلُّ البروتينات في كميَّة من الماء المقطَّر تُعادل 20 ضعفاً. يُرشَّح المحلول عبر عدَّة طبقات من الشاش؛ ويُحتفَظ بالرشاحة في البراد للتفاعلات الملونَّة والترسيبيَّة.

ب- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار، حمَّام مائي.

جـ- الإجراء التجريبي:

خذْ أنبوبيْ اختبار وضع في الأول 1 مل من محلول الغليسين (0.1%) أو محلول التيروزين (0.1%)، وضعْ في الثاني 2 مل من محلول بروتينات البيض المحضَّر مُسبقاً (حموض أمينيَّة مرتبطة)، ثمَّ أضف إلى كلٍّ منهما 6- 10 قطرات من كاشف النينهيدرين المحضَّر سابقاً،

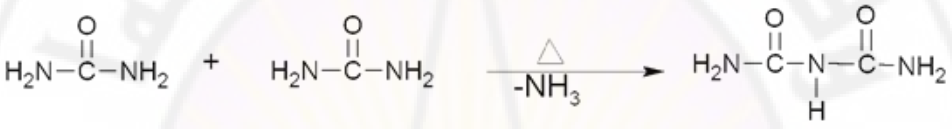
ولاحظ بعد التسخين على حمَّام مائي ظهور اللون الأزرق البنفسجي في الأنبوب الأول بسرعة؛ بينما تكون سرعة ظهور اللون الأحمر البنفسجي في الأنبوب الثاني أقلَّ.

سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (6-2): تفاعل البيوريت Biuret Reaction

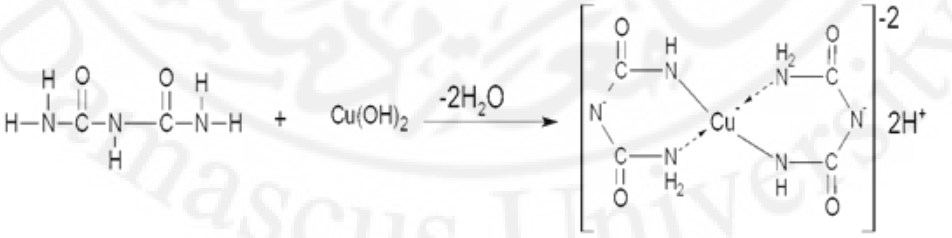
أ- مُقدَّمة نظريَّة:

إنَّ البيوريت هو مُركَّب ناتج من تفاعل جزيئتين من البولة بعد نزع جزيئة واحدة من النشادر وفق المعادلة الآتية:

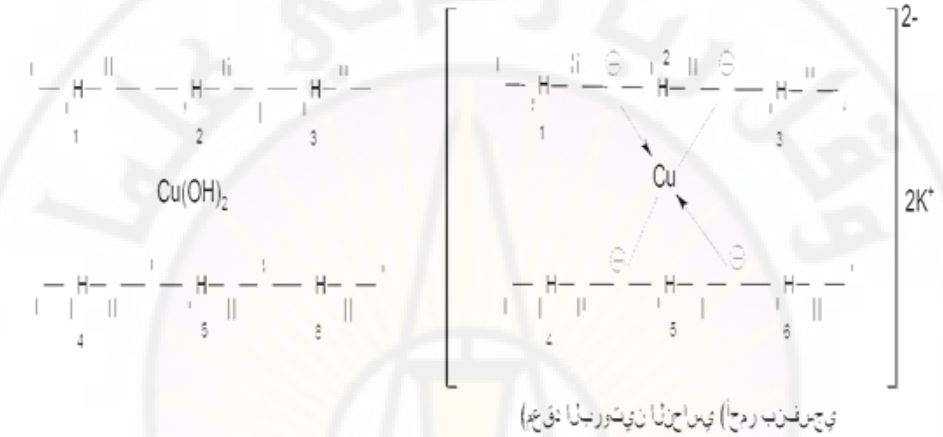


ويمكن لجزيئتيْ البيوريت التفاعل مع شوارد النحاس $CuSO_4$ في وسط قلوي (KOH) من خلال وجود الروابط الببتيديَّة، ليتشكَّل من حيث النتيجة مُعقَّد ذو لون أحمر بنفسجي تبعاً للمعادلات الآتية:

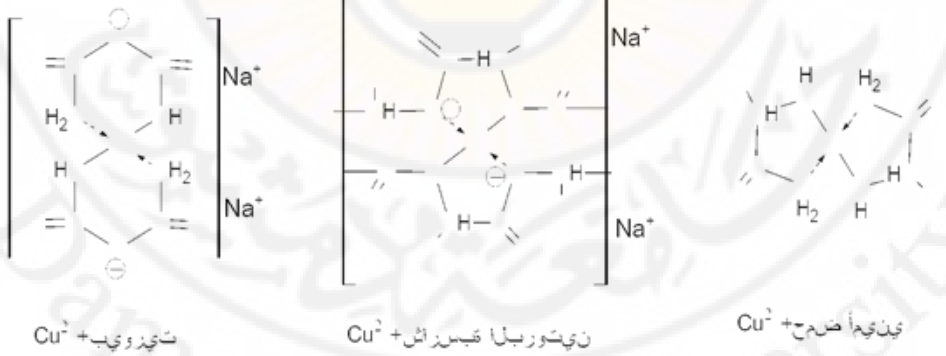
$$CuSO_4 + KOH \longrightarrow Cu(OH)_2 + K_2SO_4$$



وانطلاقاً من هذا المبدأ يمكن للببتيدات أو البروتينات التفاعل مع شوارد النحاس في وسط قلوي؛ مُشكِّلةً مُعقَّدات ذات لون أحمر بنفسجي؛ حيث تتمركز شاردة النحاس Cu^{2+} في وسط هذا المعقَّد. تتناسب شدَّة اللون طرداً مع عدد الروابط الببتيديَّة الموجودة. توضِّح المعادلات الآتية مسار التفاعل:



(معقد البروتين النحاسي) أحمر بنفسجي



Cu^{2} +بيوريت Cu^{2} +ثنائي البروتين Cu^{2} +حمض أميني

ب- المواد اللازمة:

محلول الغليسين أو أي حمض أميني آخر (0.1%)، محلول بروتينات البيض، كاشف البيوريت، يوديد البوتاسيوم.

*** تحضير كاشف البيوريت:**

يُحَلُّ 9 غ من طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم في 40 مل من هيدروكسيد الصوديوم ذي العيار (0.2N) في بالون مُعايرة سعة 500 مل، ثمَّ يُضاف غرام واحد (1g) من كبريتات النحاس المائيَّة ($CuSO_4.5H_2O$). يُمزَجُ البالون جيِّداً حتى تمام الإذابة. يُضاف بعد ذلك غرام واحد (1g) من يوديد البوتاسيوم إلى محتوى بالون المعايرة، ثمَّ يُتمَّم المحلول بهيدروكسيد الصوديوم (0.2N) حتى يصبح الحجم الكلي 500 مل.

جـ- الأدوات اللازمة:

بالون مُعايرة، حمَّام مائي.

د- الإجراء التجريبي :

خذْ ثلاثة أنابيب وضعْ في الأول 2 مل من محلول الغليسين (0.1%) أو أيِّ حمض أميني آخر بالتركيز نفسه، وضعْ في الثاني 2 مل من محلول بروتينات البيض، وضعْ في الثالث 2 مل من الماء المقطَّر، ثمَّ أضِف إلى كلٍّ منها 2 مل من كاشف البيوريت. سخِّن قليلاً على حمَّام مائي؛ ولاحظ ظهور لون أحمر بنفسجي في الأنبوب الثاني وعدم ظهور اللون في الأنبوب الأول والأنبوب الثالث. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

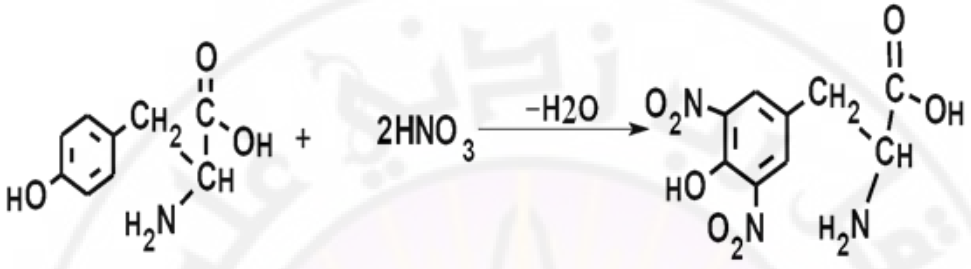
تجربة (6-3): تفاعل ميلون Millon's Reaction

أ- مُقدَّمة نظريَّة:

يمكن لجميع المركَّبات التي تحتوي على جذر بارا هيدروكسي فينيل، كالتيروزين أن تتفاعل مع الزئبق في وسط حمضي (حمض الآزوت)؛ مُعطيةً مع التسخين مُعقَّدات ذات ألوان حمراء مميَّزة. يُسمَّى هذا التفاعل تفاعل ميلون، وهو نوعي ومُميِّز بالنسبة للتيروزين، ولكنَّه يعطي نتائج إيجابيَّة أيضاً مع الفينولات والتيمول.

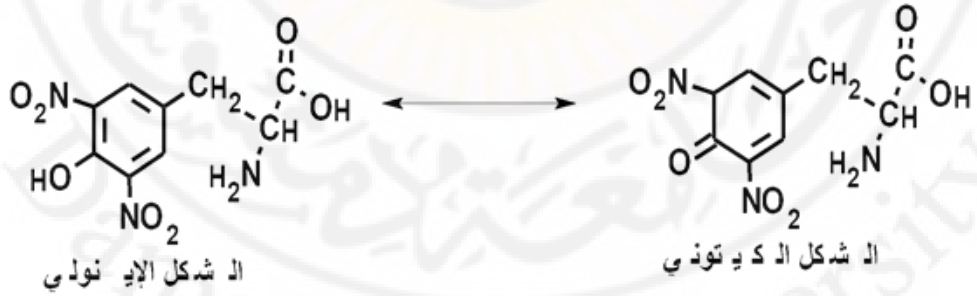
يمكننا التعبير عن هذا التفاعل وفق المراحل الآتية:

1- يتفاعل التيروزين والمركَّب الذي يحمل جذر هيدروكسي فينيل في الموقع (بارا) مع حمض الآزوت مُشكِّلاً ثنائي نترو التيروزين ومُخلِّفاً وراءه جزيئة ماء؛ وفق المعادلة الآتية:

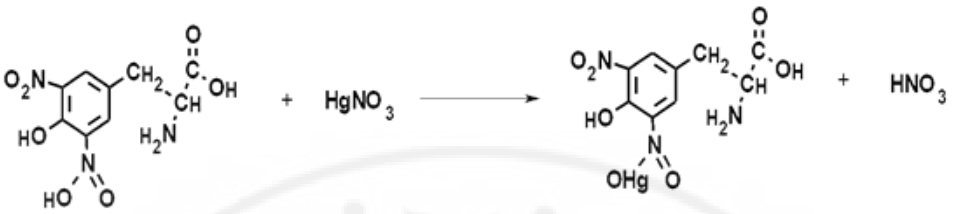


يجري الاستبدال هنا في الموقع أورتو للزمرة الهيدروكسيليَّة.

2- لا يبقى ثنائي نترو التيروزين بشكله الإينولي (بسبب ارتباط إحدى ذرات كربون الحلقة برابطة مُزدوجة وبزمرة هيدروكسيليَّة في آنٍ واحد)؛ بل يتحوَّل إلى الشكل الكيتوني لوجود الزمرة الكيتونيَّة في الحلقة؛ كما هو مُوضَّح في الشكل الآتي:



3- يتفاعل الشكل الكيتوني مع شوارد الزئبق في نترات الزئبق؛ مُشكِّلاً مُعقَّداً أحمر اللون. يُسمَّى الملح الزئبقي لثنائي نترو التيروزين وفق المعادلة الآتية:



ب– المواد اللازمة:

محلول التيروزين (0.1%)، محلول الجيلاتين (1%)، محلول التيمول (1%)، محلول بروتينات البيض، كاشف ميلون.

*** تحضير كاشف ميلون:**

يُؤخَذ تحت الساحبة 40 غ من الزئبق ويُذاب في 60 مل من حمض الآزوت المركَّز في درجة حرارة الغرفة. يُسخَّن المزيج بعد ذلك على حمَّام مائي تحت الساحبة مُدَّة عشر دقائق، ويُبرَّد المحلول ويُمدَّد بمقدار ضعفيْ حجمه بالماء المقطَّر، ثمَّ يُترَك حتى يتوضَّع الراسب. يُرشَّح وتُؤخَذ الرشاحة من أجل استعمالها في التجربة.

جـ– الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار، حمَّام مائي

ب– الإجراء التجريبي:

خذْ أربعة أنابيب اختبار وضعْ في الأول 3 مل من محلول التيروزين (1%)، وفي الثاني 5 مل من محلول بروتينات البيض، وفي الثالث 3 مل من محلول التيمول (1%)، وفي الرابع 3 مل من محلول الجيلاتين (1%) الذي لا يحتوي على التيروزين. أضِف إلى كلِّ أنبوب 3- 4 قطرات من كاشف ميلون؛ و سخِّن الأنابيب على حمَّام مائي مُدَّة من الزمن؛ ولاحظ تشكُّل المعقَّدات الملوَّنة في الأنابيب أو عدم تشكُّلها. هل هناك اختلاف في شدَّة اللون. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

ملاحظات:

1- لا يعطي الجيلاتين نتيجة إيجابيَّة؛ بسبب عدم وجود الحموض الأمينيَّة العطريَّة في جزيئته.

2- تنخفض حساسيَّة هذا التفاعل في حال وجود بعض المركَّبات اللاعضويَّة؛ مثل الماء الأوكسجيني H_2O_2 والكلوريدات أو الأملاح الأخرى.

3- تزداد حساسيَّة التفاعل بوجود كميَّة من أكاسيد الآزوت الحرَّة في محلول الكاشف.

4- ينبغي تجنُّب حدوث عمليَّة النترجة الناجمة عن زيادة كميَّة كاشف ميلون.

تجربة (6-4): تفاعل الكزانتو بروتين Xanthoprotein Reaction

أ- مُقدَّمة نظريَّة:

يُستخدَم هذا التفاعل أيضاً للكشف عن الحموض الأمينيَّة العطريَّة؛ حيث يستطيع التيروزين أو البروتينات التي تحتوي على التيروزين أو التيمول أن تتفاعل مع حمض الآزوت HNO_3 مُشكِّلةً ثنائي نترو التيروزين؛ الذي سرعان ما يتحوَّل إلى الشكل الكيتوني. يمكن لهذا الشكل الكيتوني أن يتفاعل مع هيدروكسيد الأمونيوم؛ مُعطياً ملحاً مُعقَّداً ذا لونٍ أصفر مائل إلى البرتقالي تبعاً للمراحل الآتية:

1- يتفاعل التيروزين (وهو حمض أميني عطري) مع حمض الآزوت؛ مُشكِّلاً ثنائي نترو التيروزين، كما هو الحال في تفاعل ميلون. يحصل الاستبدال هنا في الموقع أورتو من الزمرة الهيدروكسيليَّة المرتبطة بالحلقة العطريَّة.

2- يتحوَّل مُركَّب ثنائي نترو التيروزين من الشكل الإينولي إلى الشكل الكيتوني.

3- يتفاعل الشكل الكيتوني لثنائي نترو التيروزين مع هيدروكسيد الأمونيوم؛ مُشكِّلاً مُعقَّداً ذا لون أصفر برتقالي من ملح الأمونيوم لثنائي نترو التيروزين. يُعَدُّ هذا التفاعل مميِّزاً لكلٍّ من التيروزين والتربتوفان؛ حيث يجري بسهولة، في حين يجري بصعوبة مع الفينيل ألانين.

ب- المواد اللازمة:

محلول من التيروزين (0.1%)، محلول من بروتينات البيض المخفَّر مُسبقاً، محلول من التربتوفان (0.1%)، محلول من الفنيل ألانين (1%)، حمض الآزوت المركَّز، هيدروكسيد الأمونيوم الممدَّد.

جـ- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار، حمَّام مائي.

د- الإجراء التجريبي:

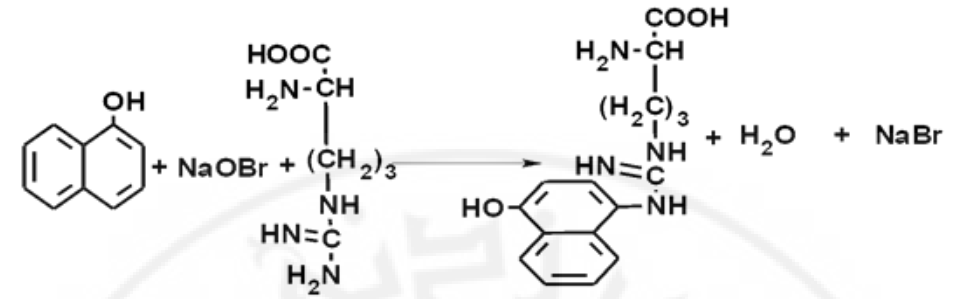
خذْ ثلاثة أنابيب اختبار نظيفة وضعْ في الأول 2 مل من محلول التيروزين (1%)، وفي الثاني 4 مل من بروتينات البيض، وفي الثالث 2 مل من محلول الفنيل ألانين (1%)؛ ثمَّ أضِف إلى كلٍّ منها عدَّة قطرات من حمض الآزوت المركَّز. سخِّن هذه الأنابيب في حمَّام مائي، وأضِف بعد ظهور اللون الأصفر 2 مل من هيدروكسيد الأمونيوم الممدَّد. لاحظ ظهور اللون البرتقالي مباشرةً في الأنبوبين، الأول والثاني وعدم ظهوره في الأنبوب الثالث. علِّل ذلك وسجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي الخاص بك.

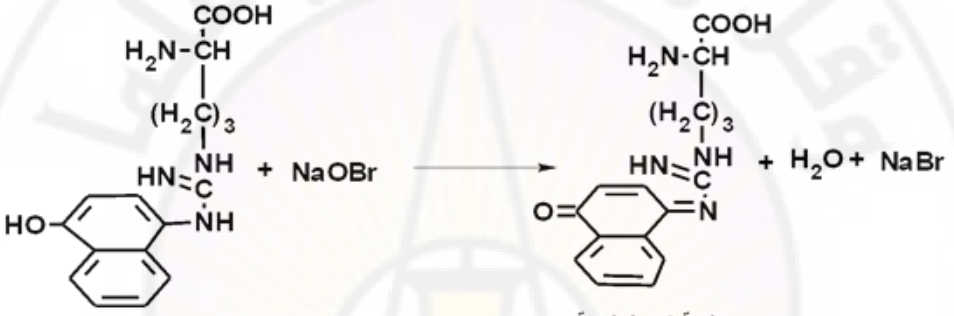
تجربة (6-5): تفاعل ساكاغوشي Sakaguchi Reaction

أ- مُقدَّمة نظريَّة:

يكشف هذا التفاعل عن الأرجينين؛ الذي هو أحد مُشتقَّات الغوانيدين ($H_2N-\overset{\overset{NH}{\|}}{C}-NH_2$) والبروتينات الحاوية عليه. يجري في هذه التجربة تفاعل المجموعة الغوانيديَّة للأرجنين مع α- نفتول؛ بوجود المادة المؤكسِدة هيبوبروميت أو هيبو كلوريت الصوديوم (NaOBr) أو (NaOCl)، فينتج عن ذلك مُركَّب ذو لون أحمر قرمزي.

يمرُّ لتفاعل بمراحل مُتعاقبة يمكن إجمالها بما يلي:





بـ نـ ية كـ ينون ية

رمحم يلاقرب) نولم دقعم)

ب– المواد اللازمة:

محلول بروتيني (بروتين البيض 0.1%)، محلول α- نفتول (0.1%)، في الغول محلول الأرجينين(0.1%)، محلول هيبوبروميت الصوديوم (أو هيبو كلوريت الصوديوم).

جـ– الإجراء التجريبي:

حُلَّ 150 غ من هيدروكسيد الصوديوم في 400 مل من الماء المقطَّر، ثمَّ أضيف إلى المحلول وبحذرٍ شديد 8 مل من محلول البروم النقي (أجرِ التجربة تحت ساحبة الغازات)، ثمَّ أتمِم الحجم إلى 500 مل بالماء المقطَّر. احفظ الكاشف في زجاجة عاتمة. ضع في أنبوب اختبار 1 مل من محلول الأرجينين (0.1%) أو 1 مل من المحلول البروتيني (بروتين البيض 1%)، وأضِف إليه 2– 3 قطرات من محلول النفتول الغولي (0.1%)، واخلط

المزيج جيّداً؛ ثمَّ أضِف بعد ذلك قطرة أو قطرتين من النفتول (0.1%) وحرِّك المزيج. أضِف بعد ذلك قطرتين من محلول هيبوبروميت الصوديوم؛ فيظهر لون أحمر قرمزي.

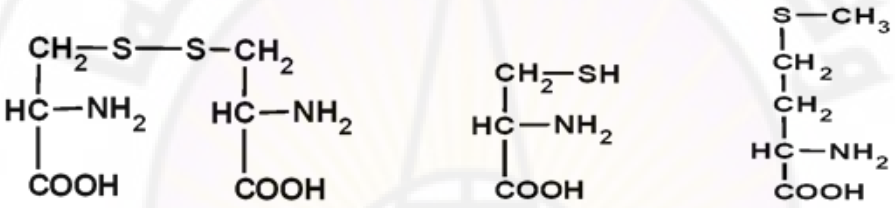
دوِّن ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (6-6): تفاعل فوليا Folia Reaction

أ- مُقدَّمة نظريَّة:

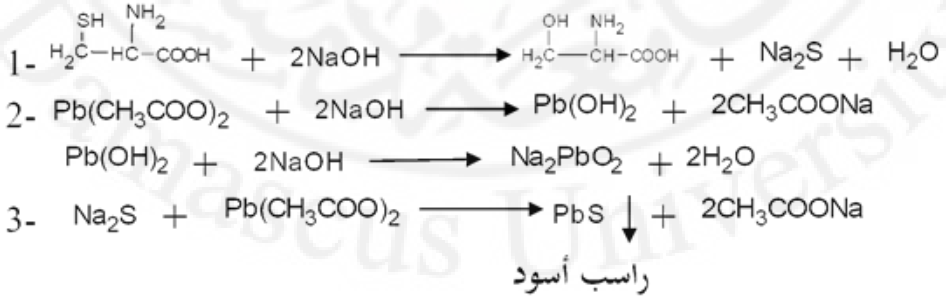
يُستخدَم هذا التفاعل للكشف عن الحموض الأمينيَّة الحاوية على الكبريت.

تدخل في تركيب البروتينات ثلاثة حموض أمينيَّة تحتوي على الكبريت؛ هي:



السيستين — السيستئين — الميتيونين

تكون رابطة ذرة الكبريت في كلٍّ من السيستئين والسيستين ضعيفة، ومن السهل تفكيكها بالحلمهة القلويَّة (Alkaline Hydrolysis) على شكل كبريت الهيدروجين الذي يتفاعل مع القلوي ليعطي كبريت الصوديوم أو البوتاسيوم. تتفاعل الكباريت الناتجة مع خلات الرصاص؛ مُشكِّلةً راسباً هو كبريت الرصاص ذو اللون الأسود وفق المعادلات الآتية:



راسب أسود

ب- المواد اللازمة:

محلول بروتينات البيض المخضَّر مُسبقاً، محلول السيستئين أو السيستين (1%)، محلول هيدروكسيد الصوديوم (2N)، محلول خلات الرصاص (5%)، محلول الجيلاتين (1%).

جـ- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار، حمَّام مائي.

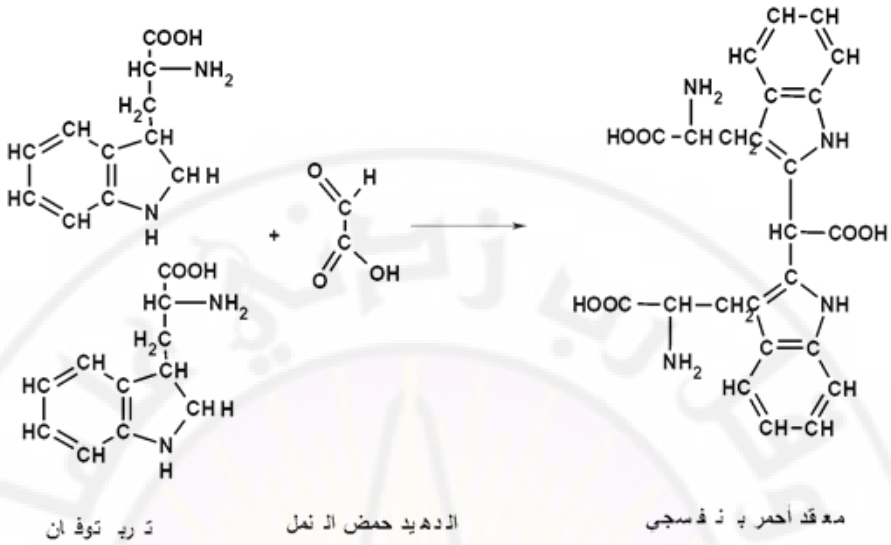
د- الإجراء التجريبي:

خذْ ثلاثة أنابيب وضعْ في الأول 2 مل من محلول السيستئين (1%)، وفي الثاني 2 مل من بروتينات البيض، وفي الثالث 2 مل من محلول الجيلاتين (1%)، وأضِف إلى كلٍ منها 2 مل من هيدروكسيد الصوديوم (2 نظامي)؛ ثمَّ سخِّن الأنابيب الثلاثة بهدوء حتى الغليان. استمر بالغليان مُدَّة دقيقتين. أضِف بعد ذلك إلى محتوى كلٍّ من الأنابيب الثلاثة 3 قطرات من محلول خلات الرصاص (5%)، ولاحظ ظهور راسب ذي لون أسود أو لون بني مُسْوَدّ (لون كبريت الرصاص) في الأنبوبين الأول والثاني؛ وعدم ظهور اللون الأسود في الأنبوب الثالث؛ وهذا يدلُّ على أنَّ الجيلاتين لا يحتوي على السيستين أو السيستئين. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (6-7): تفاعل هوبكنز- كول Hopkins- cole Reaction

أ- مُقدِّمة نظريَّة:

يمكن للمُركَّبات التي تحمل حلقة الإندول أن تتفاعل مع الألدهيدات أو المشتقَّات الألدهيديَّة بوجود حمض الكبريت المركَّز؛ مُشكِّلةً مُعقَّدات ذات لون أحمر بنفسجي. يتفاعل التربتوفان الذي يضمُّ حلقة الإندول مع ألدهيد حمض النمل (حمض الغليوكسيليك) في وسط حمض الكبريت المركَّز؛ مُشكِّلاً مُركَّباً ذا لون أحمر بنفسجي وفق المعادلة الآتية:



ب- المواد والأدوات اللازمة:

محلول التربتوفان (1%)، محلول بروتينات البيض، محلول الجيلاتين (1%)، حمض الكبريت المركّز، كاشف هوبكنز كول، أنابيب اختبار.

* تحضير كاشف هوبكنز كوله:

يُوضَع 2.5 غ من مسحوق المغنزيوم في أرلينة سعة 300 مل، ثمَّ يُضاف إلى المسحوق قليل من الماء المقطَّر. يُحرَّك المزيج؛ وتُوضَع الأرلينة في حمَّام ثلجي؛ ويُضاف إليها 63 مل من حمض الخمَّاض المشبَع والمبرَّد مُسبقاً في حمَّام ثلجي مع التحريك. يُمزَج المحلول جيِّداً ثمَّ يُرشَّح ويُضاف إلى الرشاحة ماء مُقطَّر حتى يصبح حجم المحلول 250 مل؛ فنحصل نتيجة ذلك على ألدهيد حمض النمل (حمض الغليوكسيليك) الذي يجب أن يُحفظ في البراد.

جـ- الإجراء التجريبي:

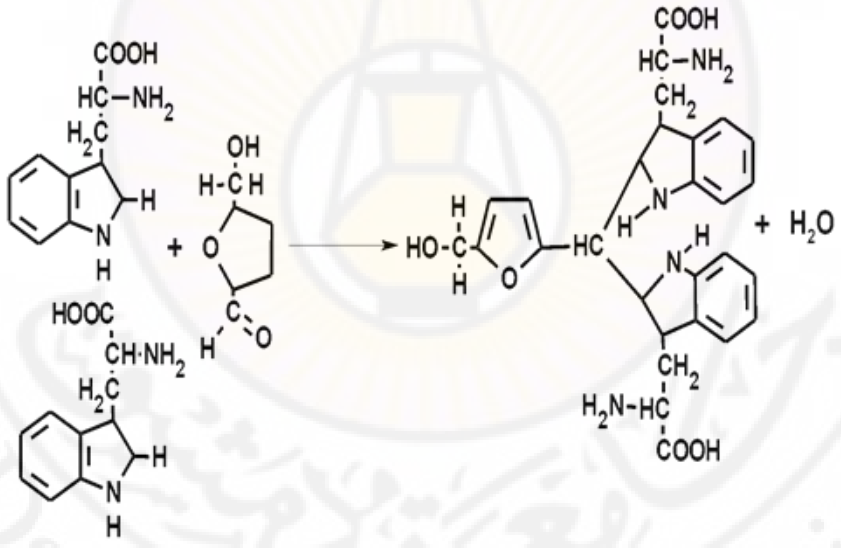
خذْ ثلاثة أنابيب اختبار وضعْ في الأول 3 مل من محلول التربتوفان (1%)، وفي الثاني 3 مل من محلول بروتينات البيض (1%) وفي الثالث 3 مل حلول الجيلاتين (1%)؛ ثمَّ

أضِف إلى كلٍّ منها 4- 6 قطرات من كاشف هوبكنز- كوله، ورُجَّ الأنابيب الثلاثة جيّداً، ثمَّ اسكب بحذر في كلِّ أنبوب 2 مل من حمض الكبريت المركَّز على أن يسيل الحمض على جدار الأنبوب المائل؛ ولاحظ عند مُلتقى المحلولين في الأنبوبين الأول والثاني تشكُّل حلقة ذات لون بنفسجي. أمَّا الأنبوب الذي يحتوي على محلول الجيلاتين فلا تتشكَّل فيه هذه الحلقة؛ بسبب عدم احتواء الجيلاتين على التربتوفان.

تجربة (6-8): التفاعل مع هيدروكسي ميتيل فورفورال

أ- مُقدَّمة نظريَّة:

يتفاعل هيدروكسي ميتيل فورفورال مع التيروزين أو التربتوفان؛ مُشكِّلاً مُعقَّداً ذا لونٍ أحمر قاتم وفق المعادلة الآتية:



5- هيدروكسي فورفورال تربتوفان معقد ذو لون احمر قاتم

ب- المواد والأدوات اللازمة:

محلول التربتوفان (أو التيروزين 1%)، محلول بروتينات البيض، محلول الغلوكوز (1%)، حمض الكبريت المركَّز، أنابيب اختبار.

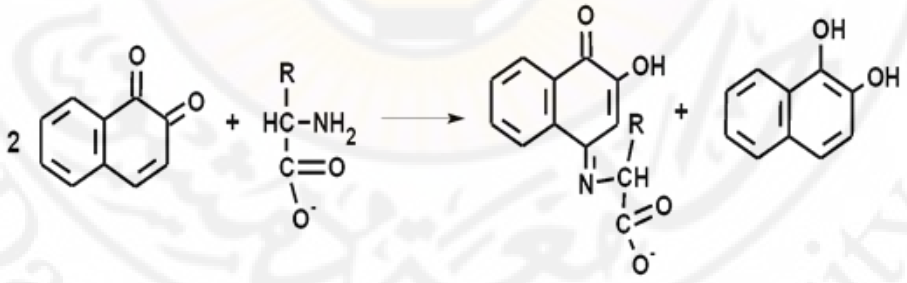
ج- الإجراء التجريبي:

خذْ أنبوبيْ اختبار وضعْ في الأول 2 مل من محلول التربتوفان (1%)، وفي الثاني 2 مل من محلول بروتينات البيض؛ وأضِف إليهما بحذر على جدران الأنبوبين 1 مل من حمض الكبريت المركَّز، ولاحظ تشكُّل طبقتين من السائل في كلِّ أنبوب؛ بحيث يتلوَّن السطح الفاصل بين طبقتيْ المحلول بلون أحمر قاتم دليلاً على وجود التربتوفان.

تجربة (6-9): تفاعل نفتوكينون للكشف عن الحموض الأمينيَّة الحرَّة

أ- مُقدِّمة نظريَّة:

يمكن لجميع الحموض الأمينيَّة أو مُشتقَّاتها أو الببتيدات أو البروتينات التي تحمل الزمرة الأمينيَّة أن تتفاعل مع β- نفتوكينون في وسط قلوي تفاعلاً تكاثفياً؛ مُشكِّلةً مُعقَّداً ذا لونٍ بني مُحمَرّ. يعتمد هذا التفاعل على أنَّ الجزيئة الأولى من β- نفتوكينون تتفاعل مع α- الحمض الأميني الحرّ تفاعلاً تكاثفيّاً تاركةً وراءها جزيئة هيدروجين؛ أما الجزيئة الثانية من β- نفتوكينون فتستقبل جزيئة الهيدروجين المنشطِرة؛ مُشكِّلةً هيدروكسي نفتول وفق ما تُوضِّحه المعادلة الآتية:



هيدروكسي نفتول مُعقَّد ملون (بني مُحمَر) α- حمض أميني (شارسبة) β- نفتوكينون

ب- المواد والأدوات اللازمة:

محلول حمض أميني (1%)، محلول β- نفتوكينون (1%)، محلول بروتينات البيض المحضَّر مُسبقا، محلول هيدروكسيد الصوديوم (5%)، أنابيب اختبار، حمَّام مائي.

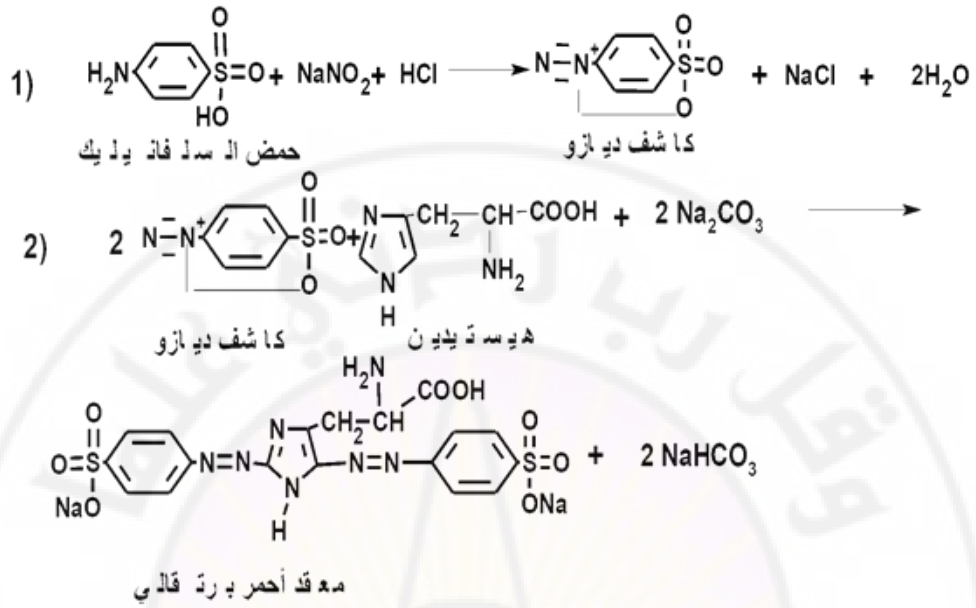
ج- الإجراء التجريبي:

خذْ أنبوبيْ اختبار وضعْ في الأول 2 مل من محلول الحمض الأميني (1%)، وضعْ في الثاني 2 مل من بروتينات البيض، وأضِف إلى كلٍّ منهما 2 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم (5%) وعدَّة قطرات من محلول β- نفتوكينون، ثمَّ سخِّن على حمَّام مائي لفترة قصيرة من الزمن؛ ولاحظ تلوُّن المحلولين بلون بني مُحمَرّ دلالةً على وجود الحمض الأميني. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (6- 10): تفاعل باولي Pauly Reaction

أ- مُقدَّمة نظريَّة:

تنضمُّ مُركَّبات الديازونيوم المتشكِّلة من تأثير حمض الآزوتي على حمض السلفانيليك إلى الفينولات والإيميدازول؛ لتشكِّل مُركَّبات شديدة التلوُّن تُعرف بصبغة آزو (Azo). تتشكَّل مُركَّبات الديازونيوم في وسط بارد فقط من حمض السلفانيك. يتفاعل كاشف ديازو Diazo (المحضَّر بتفاعل حمض السلفانيليك مع نتريت الصوديوم بوجود حمض كلور الماء) مع الهيستيدين (Histidine) أو التيروزين (Tyrosine)، أو البروتينات الحاوية عليهما بوجود كربونات الصوديوم؛ ويتشكَّل نتيجةً لذلك مُعقَّد أحمر اللون وفق المعادلات الآتية:



ب- المواد والأدوات اللازمة:

محلول الهيستيدين (0.1%)، محلول التيروزين (0.1%)، محلول كربونات الصوديوم (10%)، حمض كلور الماء المركّز، حمض السلفانيليك، محلول نتريت الصوديوم (0.5%)، أنابيب اختبار.

*** تحضير كاشف ديازو:** يتكوّن هذا الكاشف من محلولين هما:

1- المحلول الأول (A): يُحضَّر بحلّ 5 غ من حمض السلفانيليك بـ 300–400 مل من الماء المقطَّر مع التحريك؛ ويُضاف إليه 15 مل من محلول حمض كلور الماء المركّز، ثمّ يُتمَّم الحجم إلى 1000 مل.

2- المحلول الثاني (B): هو محلول نتريت الصوديوم (0.5%).

ملاحظة: عند إجراء التجربة يُمزَج 10 مل من المحلول الأول مع 0.3 مل من المحلول الثاني.

ج- الإجراء التجريبي:

خذْ أنبوبيْ اختبار وضعْ في الأول 2 مل من محلول التيروزين (0.1%)، وفي الثاني 2 مل من الهيستيدين (0.1%)؛ ثمَّ أضف إلى كلٍّ منهما 0.5 مل من كربونات الصوديوم (10%)، و 1 مل من كاشف ديازو. لاحظ تشكُّل مُعقَّد ذي لون أحمر، وسجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (6-11): الكشف عن السيرين والتريونين

أ- المواد والأدوات اللازمة:

محلول السيرين (0.1%)، محلول التريونين (0.1%)، محلول ميتا فوق يودات الصوديوم $NaIO_3$، يوديد البوتاسيوم، كاشف نسلر، أنابيب اختبار، أوراق ترشيح، أنابيب شعريَّة.

*** تحضير كاشف نسلر:** يتكوَّن هذا الكاشف من محلولين هما:

1- المحلول الأول (A): يُحضَّر بحلّ 13.55 غ من كلور الزئبق و 36 غ من يوديد البوتاسيوم بالماء المقطَّر في بالون معايرة سعة 500 مل.

2- المحلول الثاني (B): يُحضَّر بحلّ 135 غ من هيدروكسيد الصوديوم في كميَّة من الماء المقطَّر؛ بحيث يصل الحجم الكلي إلى 500 مل (يجب أن يتمَّ المزج في بالون معايرة سعة 500 مل). يجب قبل استعمال هذين المحلولين للتجربة مزج 190 مل من المحلول (A) مع 80 مل من المحلول (B).

ب- الإجراء التجريبي:

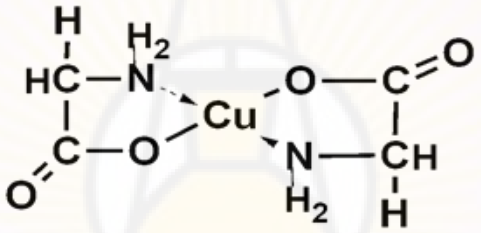
حمِّل على ورقة الترشيح بوساطة أنبوب شعري قطرةً من محلول السيرين (0.1%)، وقطرة من محلول التريونين (0.1%). جفِّف ثمَّ بُخَّ أولاً بمحلول ميتا فوق يودات الصوديوم $NaIO_3$(0.1%). جفِّف بعد ذلك عند درجة حرارة الغرفة، ثمَّ بُخَّ المحلولين بكاشف نسلر ولاحظ ظهور بقع ذات لون بني؛ وهو دليل على وجود السيرين والتريونين.

تجربة (6-12): تشكيل المُعقَّدات الداخليَّة للحموض الأمينيَّة

أ- المبدأ النظري:

تُشكِّل شوارد المعدن الثقيلة (Mn^{2+},Cu^{2+}) مع الحموض الأمينيَّة مُعقَّدات داخليَّة؛ حيث تتفاعل شوارد المعدن مع جزيئة الحمض الأميني الحاوي على زمرتين قابلتين للارتباط مع المعدن؛ وهما الزمرة الأمينيَّة والزمرة الكربوكسيليَّة. ترتبط إحدى الزمرتين الفعَّالتين في الحمض الأميني مع المعدن برابطة مشتركة؛ وترتبط الزمرة الثانية برابطة تساندِيَّة. وهكذا فإنَّ محاليل هذه المعقَّدات لا تحتوي على شوارد معدنيَّة موجبة.

تكون صيغة المعقَّد الداخلي بين الحمض الأميني (الغليسين) وشوارد النحاس على الشكل الآتي:



صيغة المعقَّد الداخلي بين الغليسين و شوارد النحاس

ب- المواد والأدوات اللازمة:

محلول الغليسين (2%)، مسحوق كبريتات النحاس، هيدروكسيد النحاس، أنابيب اختبار، أوراق ترشيح.

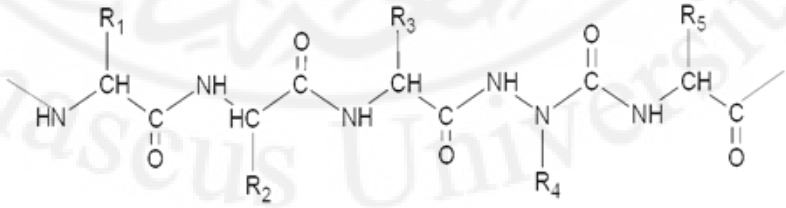
جـ- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار 2- 3 مل من محلول الغليسين (2%)، وأضِف إليها قليلاً من مسحوق النحاس القلوي ($Cu(OH)_2$,$CuSO_4$). سخِّن المزيج في حمَّام مائي حتى الغليان، واستمر بالغليان لمدَّة دقيقة. رشِّح بعد ذلك المحلول الأزرق الفاتح، وانتظر فترة

من الزمن لتلاحظ بعدها في الرشاحة الصافية ظهور بلورات من مُعقَّد الغليسين النحاسي. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

6- 3- البروتينات

تُعَدُّ البروتينات أكثر المركَّبات أهميَّةً من الناحية البيولوجيَّة وأعقدها في البنية من جميع المركَّبات العضويَّة التي تدخل في تركيب الجسم الحي؛ وتُوجَد الحياة حيث تُوجَد البروتينات على حدِّ قول أحد الفلاسفة الذي قال أيضاً: إنَّ البروتينات الطبيعيَّة هي مظهرٌ من مظاهر الحياة؛ وقد بقيت هذه الفكرة حتى يومنا. تقوم البروتينات بالعديد من الوظائف في الجسم الحي؛ نذكر على سبيل المثال الخمائر ذات الطبيعة البروتينيَّة؛ وهي نوعيَّة يُسرِّع كلٌّ منها تفاعلاً كيميائيَّاً مُحدَّداً. يمكن تعريف البروتينات بأنَّها بوليميرات من الحموض الأمينيَّة التي تتصل ببعضها بروابط مشتركة ببتيديَّة، تعطي سلسلة واحدة أو أكثر من متعدِّد الببتيد؛ وتتداخل لتكوِّن بروتيناً نشيطاً حيويَّاً. يمثِّل الشكل (6-2) جزءاً من سلسلة مُتعدِّد ببتيد مُكوَّنة من اتصال α- الحموض الأمينيَّة بروابط ببتيديَّة تُمثِّل فيها R الزمر الجانبيَّة في الحموض الأمينيَّة العشرين التي تدخل في تركيب البروتينات. يعود إلى الزمر الجانبيَّة سلوكيَّة البروتينات في الأوساط المختلفة بدرجة حموضتها، والذي ينعكس بتغيُّر الحالة الشاردية للبروتينات؛ و بالتالي النشاط الحيوي الذي تقوم به البروتينات في الخليَّة. تُدرَس البروتينات ضمن أربعة مستويات مُعقَّدة تعطي بمجموعها بنية البروتين، وإذا تخرَّب أيُّ مستوٍ من المستويات الأربعة يفقد البروتين وظائفه الحيويَّة.



الشكل (6-2) المستويات البنيويَّة الأربعة المعروفة في الجزيء البروتيني

6- 3-1- تصنيف البروتينات

تُصنَّف البروتينات بعدَّة طرائق تتعلَّق بالتركيب والشكل والوظيفة. فتبعاً للتركيب هناك نوعان من البروتينات هما:

البروتينات البسيطة: تُعطي بالحلمهة حموضاً أمينيَّة فقط، مثل ألبومين المصل.

البروتينات المركَّبة: تُعطي بالحلمهة إضافةً إلى الحموض الأمينيَّة مُركَّبات سكريَّة؛ وتنقسم تبعاً لطبيعة الجزء غير البروتيني إلى نوعين هما:

أ- بروتينات سكريَّة Glycoproteins

ب- بروتينات شحميَّة Lipoproteins

تبعاً للشكل ثلاثي الأبعاد هناك الأنواع الآتية من البروتينات؛ هي:

1- البروتينات الليفيَّة: وتتميَّز بأنَّ سلاسل مُتعدِّدة الببتيد أو أجزاء منها تأخذ شكلاً حلزونيَّاً؛ تعمل على تماسكه روابط ثنائيَّة أو روابط هيدروجينيَّة. و كأمثلة على ذلك نذكر البروتينات الآتية:

أ- الكيراتين: هو البروتين الرئيسي في الشعر والصوف والجلد.

ب- الميوزين: هو البروتين الرئيسي في العضلات.

ج- الكولاجين: هو بروتين النسيج الضام و الأكثر توافراً في الثدييات.

2- البروتينات الكرويَّة: تضمُّ عدداً كبيراً من البروتينات المنحلَّة في الماء؛ و التي تُوجَد في مصل الدم و مح البيض؛ و غالباً ما يكون لهذه البروتينات بنية ثالثيَّة. وكأمثلة على ذلك نذكر ألبومينات و غلوبيلينات البلازما و عدداً من الإنزيمات، إضافةً إلى الأنسولين.

أما التصنيف تبعاً للوظيفة الحيويَّة؛ فهناك الأنواع الآتية:

أ- البروتينات الهيكليَّة البنيويَّة.

ب- البروتينات الوسائطيَّة؛ وهي عبارة عن هرمونات و إنزيمات.

جـ- البروتينات الناقلة.

د- المركَّبات المناعيَّة.

هـ- مُستقبلات الإشارات الحيويَّة.

5- 3-2- الأشكال الفراغية المنتظمة للسلاسل مُتعدِّدة الببتيد

1- الحلزون ألفا (α):

يتكوَّن هذا الحلزون من التفاف السلسلة مُتعدِّدة الببتيد بشكلٍ حلزوني يميني تثبِّته الروابط الهيدروجينيَّة التي تُسهِم فيها جميع زمر $-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-$ و $-NH-$ المشكِّلة للرابطة الببتيديَّة (الشكل3-3)؛ بحيث تكون مُوازيةً لمحور الحلزون داخل السلسلة نفسها. أمَّا الزمر R التابعة للحموض الأمينيَّة فتبرز من مركز الحلزون إلى خارجه؛ مُعطيةً إياه خواص كارهة للماء (Hydrophobic). يُعَدُّ الحلزون (α) من أكثر الهيئات الفراغيَّة ثباتاً لسلاسل مُتعدِّد الببتيد، و من أمثلته كيراتين الشعر والصوف.

2- البنية β الصفيحيَّة المنطوية:

تمتدُّ السلاسل في هذه البنية بشكلٍ كامل تقريباً، و تميل إلى تشكيل روابط هيدروجينيَّة مع السلاسل الببتيدية المجاورة و الموازية لها في السلسلة نفسها، أو بين عدة سلاسل. يحصل تشكيل السلاسل المتوازية إذا قابلت النهاية N من إحداها النهاية N من الأخرى، أما إذا قابلت النهاية N من إحداها النهاية C من الأخرى، فعندها تتشكَّل السلاسل مُتعاكسة الاتجاه؛ علماً بأنَّ الشكلين يمكن أن يكونا في البروتين نفسه.

تسود البنية β في البروتينات الليفيَّة؛ حيث تقوم السلاسل الببتيديَّة بتشكيل الطبقات، ولكن بعض البروتينات يمكن أن تحتوي على البنيتين α و β معاً.

6- 3-3- مستويات البنية البروتينيَّة

تُقسَم هذه المستويات إلى البنى الأربعة الآتية:

1- البنية الأوليَّة Primary Structure

تُمثِّل البنية التركيبيَّة الرئيسيَّة في البروتين؛ و هي نظام تتابع أو ترتيب الحموض الأمينيَّة في السلسلة أو السلاسل مُتعدِّدة الببتيد، و أماكن توضُّع الروابط ثنائيَّة الكبريت فيها إذا كانت موجودة. تقوم هذه البنية بتحديد هوية البروتين؛ فكلُّ نوع بروتيني يختلف عن جميع الأنواع الأخرى في البنية الأوليَّة ذاتها. كذلك تقوم هذه البنية بتحديد نمط كلِّ البنى فوق الأوليَّة (الثانويَّة و الثالثيَّة و الرابعيَّة إن وجدت)، و تُعَدُّ الروابط الببتيديَّة و ثنائية الكبريت مسؤولةً عن تشكُّلها.

2- البنية الثانويَّة Secondary Structure

تُمثِّل البنية الثانويَّة العلاقة بين الحموض الأمينيَّة في البنية الأوليَّة، و تنتظم عادةً في بنيتين، الحلزون α- والبنية β- الصفيحيَّة المنطوية. تدعم هذه البنية الروابط الهيدروجينيَّة، و تؤدِّي عادةً إلى بُنيات دوريَّة مُتكرِّرة.

3- البنية الثالثيَّة Tertiary Structure

تُمثِّل هذه البنية الانطواء العام لسلسلة مفردة مُتعدِّدة الببتيد، كي يأخذ البروتين شكله الفراغي ثلاثي الأبعاد، وتُعبِّر عادةً عن العلاقة الفراغيَّة بين ثمالات (بقايا) الحموض الأمينيَّة البعيدة عن بعضها في البنية الأوليَّة، و تُعدُّ الروابط الفراغية ثنائيَّة الكبريت والهيدروجينيَّة والكارهة للماء و الملحيَّة مسؤولةً عن تشكُّلها؛ ونتيجةً لذلك تتأثَّر هذه البنية بتغيُّر pH الوسط أو بوجود محاليل شديدة القطبيَّة.

4- البنية الرابعيَّة Quaternary Structure

تُصادَف هذه البنية عندما يتألف البروتين من سلسلتين أو أكثر من مُتعدِّدات الببتيدات ترتبطها روابط غير مشتركة (ليست ببتيديَّة و لا كبريتيَّة)، و عادةً ما تدعمها الروابط الهيدروجينيَّة و الكهربائيَّة الساكنة (Electrostatic) .

6-3-4- طرائق البحث في تحديد البنية الكيميائيَّة للبروتينات

ينبغي عند الدراسة الكيميائيَّة للبروتينات؛ وقبل أيِّ شيء معرفة الحموض الأمينيَّة الداخلة في تركيبها و عددها وتتابعها، أي بعبارةٍ أخرى معرفة البنية الأوليَّة لجزيئات البروتينات، و هذه الدراسة تتطلَّب عدَّة مراحل؛ وهي:

أولاً– التحليل الكمّي للحموض الأمينيَّة:

لا بدَّ لفصل الحموض الأمينيَّة الطبيعيَّة الموجودة في جزيئة البروتين ودراستها من تحطيم الرابطة الببتيديَّة (قبل كلِّ شيء)، و التي تربط الحموض الأمينيَّة بعضها ببعض في سلاسل البروتين. يتمُّ إنجاز ذلك عن طريق الحلمهة الحمضيَّة أو القلويَّة أو الأنزيميَّة ضمن شروط مختلفة.

ثانياً– تعيين الحموض الأمينيَّة الطرفيَّة في البروتينات:

عند دراسة تتابع الحموض الأمينيَّة في البروتينات، فإنَّ أول عملٍ نقوم به هو تحديد جذور الحموض الأمينيَّة الطرفيَّة، و قد تمَّ لتحقيق هذا الغرض استخدام عدَّة طرائق كيميائيَّة، نذكر منها:

أ– تعيين جذر الحمض الأميني في الطرف– N: يتمُّ ذلك بعدَّة طرق منها طريقة 2، 4- ثنائي نترو الفينيل التي اقترحها العالم سنجر Singer، وطريقة إيزو سيانات الفينيل أو طريقة إدمان Edman، و طريقة أمينوببتيداز.

ب- تعيين الحمض الأميني من الطرف C: هناك عدَّة طرق، نذكر منها طريقة هيدرازينوليز أو طريقة أكابوري Akabori التي تمَّ اقتراحها لأول مرَّة عام 1949 لحلمهة البروتينات.

ثالثاً- تحطيم الرابطة ثنائيَّة الكبريت:

إنَّ وجود جذريْ الحمضين الأمينيين، السيستين و السيستئين في جزيئات البروتينات يخلق صعوبةً ما في حلِّ البنية الأوليَّة للبروتينات. هناك ثلاث طرائق لتحطيم الرابطة ثنائيَّة الكبريت، و هي طريقة الأكسدة و الإرجاع و طريقة S- سلفونات.

6-3-5- الكشف الكيفي عن البروتينات

أولاً: ترسيب البروتينات

هناك الكثير من العوامل التي تؤثِّر في الصفات الفيزيائيَّة و الكيميائيَّة للمُركَّبات البروتينيَّة؛ مُسبِّبةً احتلال البنية الجزيئيَّة. تُسمَّى هذه الحادثة فقدان الحالة الطبيعيَّة للبروتينات (Denaturation)؛ فعندما تتعرَّض الجزيئة البروتينيَّة لهذه الحادثة فإنَّ بنيتها الأوليَّة (الروابط الببتيدية) تبقى كاملةً دون تغيير، أما بنيتها الفعَّالة حيويَّاً فتختلُّ نتيجةً لذلك. تُقسَم العوامل المسبِّبة لحادثة فقدان الحالة الطبيعيَّة إلى عوامل فيزيائيَّة وعوامل كيميائيَّة؛ فمن العوامل الفيزيائيَّة نذكر الحرارة المرتفعة والتأثير الميكانيكي والتعرُّض لاهتزازات ما فوق الصوت والتأثُّر بالأشعَّة المؤذية؛ ومن العوامل الكيميائيَّة نذكر التعرُّض لتأثير الشوارد للمعادن الثقيلة، و للحموض المعدنيَّة و العضويَّة؛ ولأملاح كلٍّ من الأمونيوم و المعادن القلويَّة و القلويَّة الترابيَّة، و التعرُّض أيضاً للمُحلات العضويَّة وللمُركَّبات الألكالوئيديَّة.

تجربة (6-13): ترسيب البروتينات بأملاح المعادن القلويَّة والقلويَّة الترابيَّة

أ- مُقدَّمة نظريَّة: تُسبِّب أملاح الأمونيوم وأملاح المعادن القلويَّة والقلويَّة الترابيَّة مثل كبريتات الأمونيوم $(NH_4)_2SO_4$ ، وكبريتات الصوديوم Na_2SO_4، وكبريتات المغنزيوم $MgSO_4$، وكلوريد الصوديوم NaCl تعديل الشحنات الكهربائيَّة على سطح الجزيئات البروتينيَّة مُؤدِّيةً إلى تفكُّكها، ثمَّ ترسُّبها. تُسمَّى هذه الطريقة في ترسيب البروتينات التمليح الذي هو تفاعلٌ عكوس؛ حيث يمكن لراسب البروتينات أن ينحلَّ في الماء مع عودة الصفات الطبيعيَّة إليه. يُستخدَم هذا التفاعل في فصل البروتينات النقيَّة في مزيج بروتيني، والحصول عليها بالشكل البلوري.

ب- المواد اللازمة:

محلول بروتينات البيض، محلول كبريتات الأمونيوم المشبَع، كبريتات الأمونيوم الصلبة، كاشف البيوريت، ملح كلور الصوديوم، كبريتات المغنزيوم الصلبة.

جـ- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار نظيفة، حامل أنابيب، ملاقط أنابيب، قطَّارة مواد أو ماصَّة، ورق ترشيح، حمَّام مائي.

د- الإجراء التجريبي:

1- الترسيب بكبريتات الأمونيوم: ضعْ في أنبوب اختبار 2- 3 مل من محلول البروتينات، و أضف إليها حجماً مُساوياً من محلول كبريتات الأمونيوم المشبَع (4N)، ثمَّ حرِّك المزيج جيداً. تترسَّب الغلوبولينات، بينما تبقى الألبومينات في المحلول. رشِّح المحلول على ورقة ترشيح و أضف إلى الرشاحة بودرة مسحوق كبريتات الأمونيوم على دفعات حتى يصبح المحلول مُشبعاً (أي أنَّ القسم الأخير من الملح لا ينحلُّ)، فتترسَّب

الألبومينات. رشِّح و أجرِ على الرشاحة تفاعل البيوريت (تجربة 5-2)، فإذا كان التفاعل سلبيًّا؛ فهذا يعني أنَّ البروتينات قد ترسَّبت بالكامل.

2- الترسيب بكبريتات المغنزيوم وكلور الصوديوم: ضع في أنبوبيْ اختبار كميَّة 2- 3 مل من محلول بروتينات البيض و أضف إلى أحدهما بلورات كلوريد الصوديوم، و إلى الآخر بلورات كبريتات المغنزيوم حتى الوصول إلى الإشباع في كلا المحلولين. تترسَّب خلال دقائق جزيئات الغلوبولينات؛ بينما تبقى الألبومينات في كلا المحلولين؛ لأنها لا تترسَّب بالمحاليل الملحية المعتدلة للمعادن القلوية و القلوية الترابية. رشِّح محتوى الأنبوبين على ورقتيْ ترشيح (كلٌّ على حدة)، ثمَّ حمِّض الرشاحة الحاوية على الألبومينات بمحلول حمضي؛ فإذا كان التفاعل سلبيًّا دلَّ ذلك على أنَّ البروتينات قد ترسَّبت بكاملها.

سجِّل ملاحظاتك ونتائج التجربة.

تجربة (6-14): ترسيب البروتينات بالمحِلات العضويَّة

أ- مُقدَّمة نظريَّة:

تُسبِّب المحِلات العضويَّة اختلال الطبقة المائيَّة (Hydrosphere) المحيطة بالجزيئات البروتينيَّة؛ و هذا يؤدِّي إلى نقصان ثبات البروتينات في المحلول وترسُّبها. إنَّ أفضل شروط الترسيب بهذه الطريقة هو حصوله في وسط معتدل أو خفيف الحموضة؛ بينما يصعب الترسيب في الوسط القلوي. يساعد على الترسيب أيضاً وجود بعض الكهرليتات (Electrolytes)؛ مثل كلوريد الصوديوم في المحلول. يكون الترسيب عكوساً، إذا تمَّ بدون تسخين مع عدم إطالة فترة المعاملة بالغول. أما إذا طالت فترة المعاملة بالغول فإنَّ ترسيب البروتينات يُرافقه فقدان الحالة الطبيعيَّة بشكل كامل.

ب- المواد اللازمة :

محلول بروتينات البيض، ملح كلوريد الصوديوم، غول إيتيلي (96%).

ج – الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار نظيفة، حامل أنابيب، ملاقط أنابيب، حمَّام مائي، قطَّارة مواد أو ماصَّة.

د– الإجراء التجريبي: ضعْ في أنبوب الاختبار 2 مل من محلول بروتينات البيض، و أضف إليها قليلاً من بودرة كلوريد الصوديوم. حرِّك المزيج جيداً حتى تمام الانحلال. أضف بعد ذلك حوالي 4- 6 مل من الغول الإيتيلي (96%)، وحرِّك المزيج بشدة. لاحظ ترسُّب البروتينات خلال 5-8 دقائق. صُبَّ في أنبوب آخر جزءاً من محتوى الأنبوب مع الراسب في لحظة ظهور راسب البروتينات، وأضِف إليه بضع ميلي ليترات من الماء المقطَّر، و لاحظ انحلال البروتينات مُجدَّداً نتيجةً لتمديد الغول.

تجربة (6-15): ترسيب البروتينات بالفينول والفورمالين

أ– المواد والأدوات اللازمة::

محلول البروتين، محلول الفينول، محلول الفورمالين، أنابيب اختبار

ب– الإجراء التجريبي:

صُبَّ في أنبوبيْ اختبار (1.0-1.5mL) من محلول البروتين المدروس وأضِف إلى الأنبوب الأول حجماً مُساوياً من محلول الفينول، وإلى الأنبوب الثاني حجماً مُساوياً أيضاً من محلول الفورمالين. حرِّك محتوى كلٍّ من الأنبوبين ثمَّ اتركهما مُدَّة (15-20) دقيقة على الحامل المعدني. إنَّ الفينول يُرسِّب البروتينات بسرعة على شكل عكر أو ندف أو حثرات؛ أمَّا الفورمالين فيؤدِّي إلى تخثُّر البروتينات تدريجيًّاً فقط عند ترك محاليلها لترك.

ملاحظة: تُشكِّل البروتينات مع الفينول والفورمالين مُنتجات تكاثف قليلة الانحلال في الماء؛ ويتمُّ ذلك بمشاركة الزمر الأمينيَّة الحرَّة الموجودة في جزيئاتها. يعتمد استخدام محاليل الفينول والفورمالين في التعقيم على هذه الصفات لهما.

سجِّل نتائج التجربة واكتب ملاحظاتك حول ذلك.

تجربة (6-16): ترسيب البروتينات تحت تأثير الحرارة

أ- مُقدَّمة نظريَّة:

يبدأ تفكُّك أغلب الجزيئات البروتينيَّة في درجات الحرارة ما بين (50-55°C). تؤدِّي الحرارة العالية إلى فقدان الحالة الطبيعية للبروتينات بشكل كامل؛ حيث تتفكَّك الروابط ثنائيَّة الكبريت ما بين السلاسل مُتعدِّدة الببتيد وتنفرد الجزيئة البروتينيَّة، وتختلُّ بنيتها الفراغيَّة. إذا كانت درجة الحرارة مُنخفضة، فإنَّ فقدان الحالة الطبيعية يصبح غير كامل. يؤثِّر كلٌّ من درجة الحرارة و pH الوسط؛ ووجود الكهرليتات المختلفة تأثيراً كبيراً على تفكيك الجزيئات البروتينية، فمن المعروف أنَّ البروتينات تكون عُرضةً للتفكُّك والترسيب في نقط التعادل الكهربائي P؛ بينما يؤدي انزياح درجة الحموضة (نحو الحموضة أو القلويَّة) إلى عرقلة عملية الترسيب لدرجة أنَّ ترسيب البروتينات بالغليان لا يحدث في وسط شديد الحموضة أو شديد القلويَّة. يؤدِّي وجود الكهرليتات إلى تسريع عمليَّة التخثُّر حتى في الأوساط الحمضية.

ب- المواد اللازمة:

محلول بروتينات البيض، محلول حمض الخل (1%)، محلول حمض الخل (10%)، محلول هيدروكسيد الصوديوم (10%)، محلول كلور الصوديوم المشبَع.

ج- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار نظيفة، حامل أنابيب، ملاقط أنابيب، قطَّارة مواد أو ماصَّة، حمام مائي.

د- الإجراء التجريبي:

خذ خمسة أنابيب اختبار و ضع في كلٍّ منها 1- 2 مل من محلول بروتينات البيض. سخِّن المحلول في الأنبوب الأول حتى درجة حرارة الغليان؛ و لاحظ ظهور العكر فيه (و ذلك نتيجة لاختلال الطبقة المائية حول الجزيئات البروتينية)، و لكنَّ الراسب لا يتشكَّل بسبب احتفاظ دقائق البروتين البلورية بشحنات مُتجانسة تمنع تخثُّرها. أضف إلى

الأنبوب الثاني قطرة واحدة من محلول حمض الخلّ (1%)، وسخّن المزيج حتى الغليان فيترسّب البروتين بسرعة، و ذلك لأنَّ شحنات الدقائق البلورية البروتينية تُعدَّل و يصبح البروتين قريباً من نقطة التعادل الكهربائي. أضف إلى الأنبوب الثالث 5- 8 قطرات من محلول حمض الخل (10%)، و سخّن المزيج حتى الغليان. لا يتشكّل راسب البروتينات في هذه الحالة لأنَّ دقائق البروتينات البلورية تصبح مشحونة إيجاباً، و هذا ما يُكسِبها ثباتاً، و بالتالي يمنع تخثُّرها. أضف إلى الأنبوب الرابع 5- 8 قطرات من محلول هيدروكسيد الصوديوم (10%)، وسخّن الأنبوب حتى الغليان. لاحظ عدم تشكُّل راسب البروتينات؛ لأنَّ الدقائق البلورية تكون مشحونة سلباً. أضف إلى الأنبوب الخامس 4- 5 قطرات من محلول حمض الخل (10%) و 5- 6 قطرات من محلول كلور الصوديوم المشبَع؛ وسخّن الأنبوب حتى الغليان. لاحظ ترسُّب البروتينات بسبب وجود الكهرليت (NaCl) الذي ساعد على حصول عملية التخثُّر. سجِّل ملاحظاتك.

تجربة (6-17): ترسيب البروتينات بالحموض المعدنيَّة أو العضويَّة

تترسَّب البروتينات تحت تأثير الحموض المعدنيَّة و الحموض العضويَّة بصورة غير عكوسة، وقد تؤدِّي إضافة زيادة من بعض الحموض إلى انحلال الرواسب المتشكِّلة.

أ- المواد اللازمة:

حمض الكبريت المركَّز، حمض الآزوت المركَّز، حمض كلور الماء المركَّز، محلول سلفو الصفصفاف (10%)، محلول ثلاثي حمض الخلّ (10%).

ب- الأدوات اللازمة:

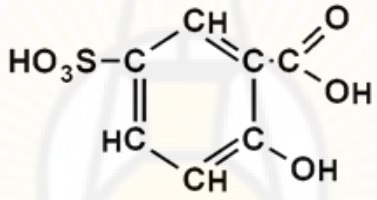
أنابيب اختبار نظيفة، قطَّارة مواد أو ماصَّة، حامل أنابيب، ملاقط أنابيب.

جـ- الإجراء التجريبي:

1- خذْ ثلاثة أنابيب اختبار نظيفة وجافَّة وضعْ في الأول 1 مل من حمض الكبريت المركَّز، وفي الثاني 1 مل من حمض الآزوت المركَّز، وفي الثالث 1 مل من حمض كلور الماء

المركَّز. أمِل الأنابيب الثلاثة بزاوية 45° وأضِف بحذر شديد على جوانب الأنبوب بواسطة الماصَّة محلول البروتينات (أدِر فتحة الأنبوب بعيداً عن الوجه). لاحظ ظهور حلقة بيضاء على السطح الفاصل ما بين الحمض ومحلول البروتينات. امزج الأنابيب الثلاثة بحذر؛ وأضِف إلى الأنبوب الأول مزيداً من حمض الكبريت المركَّز، وإلى الثاني مزيداً من حمض الآزوت المركَّز، وأضف إلى الثالث مزيداً من حمض كلور الماء المركَّز. لاحظ انحلال الراسب في حمض الكبريت وحمض كلور الماء؛ وعدم انحلاله في حمض الآزوت.

2- خذْ أنبوبي اختبار وضعْ في كلٍّ منهما 2 مل من محلول البروتينات وأضِف إلى الأنبوب الأول 5- 8 قطرات من سلفو حمض الصفصاف (10%) الذي صيغته على الشكل الآتي:



ضعْ في الأنبوب الثاني 5- 8 قطرات من محلول ثلاثي كلور حمض الخل (10%)، ولاحظ ترسُّب البروتينات في كلا الأنبوبين. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

ثانياً- نقطة التعادل الكهربائي للبروتينات:

إنَّ نقطة التعادل الكهربائي هي اللحظة التي تتعادل فيها الشحنات الموجبة والسالبة في جُزيئات البروتينات. في هذه الحالة تكون الجزيئات البروتينيَّة غير ثابتة وتترسَّب بسهولة كبيرة. تُعَدُّ درجة حموضة الوسط (pH) الموافقة لنقطة التعادل الكهربائي (pH) إحدى الصفات المميِّزة للبروتينات المختلفة؛ فهي عند الكازيئين تساوي 4.7، وألبومين البيض 4.8، والجيلاتين 4.9 وعند حبَّات الذرة 6.2 . يمكن تسريع عمليَّة الترسيب في نقطة التعادل الكهربائي بإضافة مُرَكَّبات نازعة للماء، كالغول والأسيتون والإيتر أو العفص،

فالمحلات العضوية تُقلِّل من درجة تميُّه البروتينات فتنزع الغلاف المائي عن جزيئاته؛ بينما يؤدِّي العفص إلى تشكيل مُركَّبات غير مُنحلَّة باتحاده مع الزمر والمجموعات الحلقيَّة الآزوتية في البروتينات.

تجربة (6-18): تحديد نقطة التعادل للبروتينات

أ- المواد اللازمة:

محلول الجيلاتين (10%)، غول إيتيلي (96%)، محلول حمض الخلّ (0.1N) نظامي، محلول خلات الصوديوم (0.1N) نظامي.

ب- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار، حامل أنابيب، ملاقط أنابيب، قطّارة مواد أو ماصّة.

ج- الإجراء التجريبي:

خذْ خمسة أنابيب اختبار وضعْ في كلٍّ منها حمض الخلّ وخلات الصوديوم بالكميَّات المبيَّنة في الجدول أدناه، وأضِف إلى كلّ أنبوب 1 مل من محلول الجيلاتين وحرِّك جيداً، ثمَّ أضف إلى كلّ أنبوب 4 مل من الغول الإيتيلي (96%) وحرِّك جيداً. انتظر حوالى عشر دقائق ولاحظ تشكُّل التعكُّر في الأنابيب؛ وقدِّر درجة التعكُّر في كلٍّ منها.

إنَّ درجة pH المقابلة لأكثر الأنابيب عكارةً تساوي نقطة التعادل الكهربائي للجيلاتين.

صنِّف النتائج في الجدول الآتي:

رقم الأنبوب	كميَّة المحلول الموقي(مل)		pH الوسط المتشكّل	الكميَّة المضافة من الجيلاتين	الكميَّة المضافة من الغول	درجة التعكر النسبية
	CH_3COOH (0.1N)	CH_3COONa (0.1N)				

1	4	1	3.8	0.2	1.8	1
3	4	1	4.4	0.6	1.4	2
5	4	1	4.7	1.0	1.0	3
4	4	1	5.1	1.4	0.6	4
3	4	1	5.7	1.8	0.2	5

ثالثاً– الكشف عن زمر السلفوهيدريل في البروتين المشوَّه:

تكون زمر السلفوهيدريل الخاصَّة بالحمض الأميني السيستئين غالباً (وليس دائماً) جزءاً من الروابط ثنائيَّة الكبريت التي تربط السلاسل الببتيديَّة مع بعضها أو تربط أجزاء سلسلة واحدة مع بعضها؛ مُؤديةً بذلك إلى تثبيت بنية الجزيء البروتيني في الأبعاد الثلاثة؛ ولذلك فإنَّ البروتين الطبيعي غير المشوَّه، مثل ألبومين البيض لا يحتوي على زمر سلفوهيدريل قابلة للكشف. أمَّا عند تشوُّه البروتينات؛ خصوصاً البروتينات المنطوية تتحوَّل إلى بروتينات ذات بنية خطيَّة وتؤدِّي هذه التغيُّرات إلى زوال البنية المنطوية والحلزونيَّة في البروتين؛ و بالتالي يمكن الكشف عن الزمر الفعَّالة مثل زمرة SH- السيستئين وزمرة OH- التيروزين؛ ما يتيح الفرصة للكواشف الخاصَّة بهذه الزمر أن تتفاعل مجموعات السلفوهيدريل مع نتروبروسيد الصوديوم في وسط قلوي مُعطيةً مركَّباً ذا لون بنفسجي غير ثابت؛ وفق المعادلة الآتية:

$$Na_2[Fe(CN)_5NO] + Na_2S \rightarrow Na_3[Fe(CN)_5ONSNa]$$

مُعقَّد مُلوَّن — نترو بروسيد الصوديوم

تجربة (6-19): الكشف عن زمر السلفوهيدريل، التفاعل مع نترو بروسيد الصوديوم

أ– المواد اللازمة:

محلول ألبومين البيض (2%)، محلول الجيلاتين (1%)، محلول هيدروكسيد الصوديوم (5%)، مزيج كبريتات الأمونيوم مع نترو بروسيد الصوديوم (يُحضَّر بسحق في هاون 100 غ من $(NH_4)_2SO_4$ مع 100 غ مغ من نترو بروسيد الصوديوم).

ب- الأدوات اللازمة:

أنابيب اختبار، حامل أنابيب، ملاقط أنابيب، حمَّام مائي، قطَّارة مواد أو ماصَّة.

ب- الإجراء التجريبي:

خذْ أنبوبيْ اختبار وضع في الأول 2 مل من ألبومين البيض (2%) و 0.5 مل من هيدروكسيد الصوديوم (5%)، وضع في الثاني 2 مل من الجيلاتين (1%) و 0.5 من هيدروكسيد الصوديوم (5%). سخِّن الأنبوبين لدرجة الحرارة $70^{o}C$ حتى يتشوَّه البروتين، ثمَّ برِّدهما وأضف إلى كلٍّ منهما 1 غ من مزيج كبريتات الأمونيوم مع نتروبروسيد الصوديوم. لاحظ تشكُّل لون بنفسجي، وسجِّل ملاحظاتك.

6-3-7- اختبار بعض المواد الغذائيَّة

سنقوم فيما يلي بالكشف عن مُركَّبات الحليب من خلال إجراء التجارب الآتية:

تجربة (6- 20): الكشف عن مُركَّبات الحليب

1- ترسيب الكازئين:

خذْ ثلاثة أنابيب اختبار نظيفة ومُجفَّفة جيِّداً، واملأ الأنبوب الأول بالحليب غير المغلي والأنبوب الثاني بالماء المقطَّر والأنبوب الثالث بحمض الخلّ (1%)، ثمَّ قمْ بتفريغ محتوى الأنابيب الثلاثة في بيشر زجاجي واستنتج بوساطة عبَّاد الشمس حموضة المزيج الذي يجب أن تكون ما بين 4-5. يترسَّب الكازئين عند هذه القيمة من الحموضة مع بعض المواد الدسمة على شكل مُعلَّق. دعِ المزيج قليلاً من الوقت (1-2) دقيقة، ثمَّ حرِّكه جيِّداً ورشِّح؛ فإنْ لم تكن الرشاحة صافية؛ أي عديمة اللون أعِد عمليَّة الترشيح ثانيةً حتى تحصل على رشاحة عديمة اللون. احتفظ بالراسب للتجارب اللاحقة.

2- الكشف عن البروتينات والببتيدات عن طريق تشكُّل البيوريت:

خذْ 2ml من رشاحة الكازئين وضعْهما في أنبوب اختبار نظيف، وأضِف إليه ضعف الحجم (4ml) من محلول هيدروكسيد الصوديوم (2N) وثلاث نقاط من محلول كبريتات

النحاس؛ فإذا تشكَّل لون أحمر حتى أحمر بنفسجي فإنَّ ذلك يدلُّ على وجود البروتينات في الحليب.

3- ترسيب الألبومينات:

ضعْ رشاحة الكازئين الحمضيَّة في بيشر، وأضِف إليها قطرتين من كاشف أحمر كلور فينول فيصبح لون المحلول ورديّاً. عدِّل المحلول بوساطة محلول الصودا حتى درجة الحموضة pH = 6 تقريباً؛ فيتغيَّر لون المحلول من اللون الوردي إلى اللون الأصفر الفاتح. سخِّن بعد ذلك المزيج حتى الغليان مُدَّة دقيقتين لترسيب ما تبقَّى من البروتينات. رشِّح المزيج فتحصل عندئذ على رشاحة خالية من البروتينات والمواد الدسمة.

4- الكشف عن الكالسيوم Ca^{2+}:

ضعْ 5ml من رشاحة الكازئين في أنبوب اختبار، وأضِف إليها 5ml من محلول حمَّاضات الأمونيوم (ammonium oxalate) التي صيغتها هي: $(NH_4)_2C_2O_4$، فيترسَّب الكالسيوم على شكل حمَّاضات الكالسيوم (calcium oxalate) ذات الصيغة CaC_2O_4.

5- الكشف عن الفوسفات PO_4^{3-}:

ضعْ قسماً من الراسب في أنبوب اختبار، وأضِف إليه 5ml من محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.1N)، وسخِّن المزيج حتى الغليان عدَّة مرَّات، ثمَّ اتركه يبرد. أضِف 3ml من حمض الآزوت الممدَّد وبعض بلَّورات من ملح موليبدات الأمونيوم الصلب، وسخِّن المزيج حتى الغليان فيترسَّب عندئذٍ الفوسفات على شكل بولي فوسفات غير مُتجانسة بلون أصفر غامق.

6- الكشف عن اللاكتوزات في الحليب (تجربة كوله Cole Test): ضعْ 5ml من الرشاحة وأضِف إليها قليلاً من الصودا اللامائيَّة Na_2CO_3 وثلاث قطرات من

الغليسرول ونقطتين من محلول كبريتات النحاس (0.1N)، ثمَّ رُجَّ المزيج وسخِّن حتى الغليان، فيتشكَّل عندئذٍ هيدروكسيد النحاسي CuOH على شكل مُعلَّق ذي لون أصفر (عمليَّة أكسدة وإرجاع).

7- الكشف عن الآزوت:

ضع القسم الثاني من الراسب (الكازئين) في أنبوب اختبار، وأضِف إليه ثلاثة أضعاف الكميَّة من ناترون كالك (natron kalk)، واخلط المزيج جيِّداً، ثمَّ انقله إلى أنبوب اختبار جاف. بلِّل بعد ذلك قطعةً صغيرةً من ورق عبَّاد الشمس وضعها على حافة الأنبوب العلويَّة وسخِّن الكازئين ببطء حتى التفحُّم، تنطلق عندها غازات الأمونياك وتتلوَّن ورقة عبَّاد الشمس بلون أزرق؛ وهذا دليل على وجود الآزوت في الكازئين.

8- الكشف عن الكبريت:

أضِف إلى الكتلة المتفحِّمة من الكازئين 2ml من حمض كلور الماء الممدَّد، واغمس قطعة صغيرة من ورقة الترشيح في محلول خلات الرصاص والقِ بها في أنبوب اختبار وسخِّن الأنبوب الحاوي على المزيج الحمضي ببطء؛ تتفاعل عندها شوارد الكبريت الناتجة عن حرق الكازئين مع شوارد الرصاص الموجودة على ورقة الرشاحة وتعطي كبريت الرصاص ذا اللون الأسود (أي يصبح لون ورقة عبَّاد الشمس أسود غامقاً).

5-3-7- التحليل الكمّي للبروتينات

نظراً للأهميَّة الكبيرة للبروتينات؛ فإننا سنتطرَّق إلى أهمِّ الطرائق المستخدَمة في تقديرها كميَّاً. إنَّ أكثر هذه الطرائق استخداماً هي الطريقة الطيفيَّة الضوئيَّة والطريقة الكيميائيَّة. ففي طريقة التحليل الطيفي الضوئي يتمُّ تحويل البروتينات إلى مُشتقَّات مُلوَّنة تتناسب شدَّة ألوانها طرداً مع تركيز البروتين؛ حيث يجري تقدير شدَّة ألوان هذه المشتقَّات بأجهزة المطياف الضوئي، ثمَّ مقارنتها مع شدَّة الألوان الناتجة عن محاليل بروتينيَّة معياريَّة (معلومة التركيز)؛ ومن أكثر تلك الطرائق انتشاراً طريقة البيوريت المذكورة سابقاً؛ والتي تعتمد على

تفاعلات الروابط الببتيديَّة. أما طريقة التحليل الكيميائيَّة فتعتمد في معظمها على تقدير الآزوت الكلي للعيِّنة المدروسة. وتُعَدُّ طريقة كيلدال (Kjeldhal) لتقدير الآزوت الكلي من أكثر الطرق الكيميائيَّة انتشاراً؛ حيث يتمُّ تحويل الآزوت إلى نشادر، ثمَّ يُعايَر محلول هيدروكسيد الأمونيوم الناتج؛ ومنه تتمُّ معرفة كميَّة البروتين.

تجربة (6-21): التحليل الكمّي للبروتين الكلي بطريقة البيوريت

تعطي المركَّبات الحاوية على رابطتين ببتيديتين متجاورتين فأكثر مُعقَّداً ذا لونٍ أزرقَ بنفسجي عند تفاعلها مع شوارد النحاس في وسط قلوي؛ ولذلك يمكن اعتماد تفاعل البيوريت لتقدير جميع البروتينات. يُعطي مُعقَّد البيوريت الأزرق– البنفسجي شدَّة امتصاص أعظميَّة في المجال 540– 560 نانو متر، وقد اختير الرقم 550 نانو متر كطول موجة وسطي لقياس الامتصاص الضوئي.

أ– المواد اللازمة: كاشف البيوريت، محلول معياري من الألبومين يحتوي على 2.5 مغ/مل من بروتينات بتراكيز مختلفة.

أ– الأدوات اللازمة:

بالون معايرة سعة 2 ليتر، بيشر سعة 2 ليتر، جهاز الطيف الضوئي، أنابيب اختبار، حامل أنابيب الاختبار، حمَّام مائي.

ج– الإجراء التجريبي:

1- العيِّنة المجهولة:

خذْ حجماً من العيِّنة المجهولة على أن يحتوي على 1– 10 مغ من البروتين في أنبوب الاختبار، وأضِف إليه كميَّة من الماء حتى يصبح الحجم 4 مل، ثمَّ أضِف إليه 3 مل من كاشف البيوريت، سخِّن الأنبوب لدرجة الحرارة $38^{o}C$؛ واتركه مُدَّة نصف ساعة، قِس بعدها عند طول موجة 550 نانو متر (انتظر حوالى 5 دقائق قبل البدء بالقياس)،

واضبط إبرة الجهاز على الصفر مُستعمِلاً عيِّنة خالية، واقرأ شدَّة الامتصاص الضوئي للعيِّنات.

2- تحضير سلسلة معياريَّة لرسم المنحني المعياري:

حضِّرْ خمسة أنابيب زجاجيَّة نظيفة وجافَّة، وضع في الأول 4 مل من كاشف البيوريت، و 4 مل من الماء المقطَّر وضع في الثاني 1 مل من المحلول البروتيني المعياري، و 3 مل من الماء المقطَّر، و 4 مل من كاشف البيوريت، و في الثالث 2 مل من المحلول البروتيني المعياري، و 2 مل من الماء المقطَّر، و 4 مل من كاشف البيوريت وفي الرابع 3 مل من المحلول البروتيني المعياري، و 1 مل من الماء المقطَّر و 4 مل من كاشف البيوريت، وفي الخامس 4 مل من المحلول البروتيني المعياري و 4 مل من كاشف البيوريت. امزج محتويات الأنابيب و دعها في حمام مائي في درجة الحرارة $38^{o}C$ مُدَّة نصف ساعة، اقرأ بعد ذلك شدَّة الامتصاص الضوئي ضدَّ التجربة الخالية (الأنبوب رقم 1). ارسم المنحني البياني الذي يُوضِّح العلاقة بين شدَّة الامتصاص الضوئي و التركيز؛ ومن الخطِّ البياني الذي يجب أن يكون خطاً مستقيماً تحصل على المطلوب.

تجربة (6-22): التحليل الكمّي للبروتين بطريقة كيلدال

تعتمد هذه الطريقة على حرق المادة العضويَّة وإرجاع الآزوت إلى نشادر؛ حيث تحصل عمليَّة أكسدة المادة العضويَّة في أثناء تسخينها مع حمض الكبريت المركَّز إلى ثنائي أوكسيد الكربون، ويُشكِّل النشادر (NH_3) مع حمض الكبريت كبريتات الأمونيوم. يُطلَق على هذه المرحلة من التفاعل عمليَّة الهضم (digestion). يتجلَّى دور حمض الكبريت هنا كنازع للماء، ثمَّ يصبح مُؤكسِداً؛ و يتأكسد الكربون بالتدريج إلى CO_2 والهيدروجين إلى H_2O، وتُرجَع كميَّة مُعيَّنة من حمض الكبريت إلى SO_2. تعمل النواتج الوسطيَّة المتشكِّلة، مثل CO_2 وغيره من المركَّبات الكربونيَّة على إرجاع الآزوت إلى النشادر؛ الذي يتفاعل بدوره مع حمض الكبريت مُشكِّلاً كبريتات الأمونيوم وفق المعادلة:

عملية الهضم H_2SO_4 + مادة عضوية ⟶ $CO_2 + H_2O + SO_2 + (NH_4)_2SO_4$

تجري بعد ذلك عمليَّة تقطير يُطرَد فيها النشادر من كبريتات الأمونيوم، بإضافة هيدروكسيد الصوديوم مع التسخين، ويتمُّ استقبالها في كميَّة مُعيَّنة من محلول حمضي معلوم التركيز، كحمض كلور الماء. يتمُّ تحديد نسبة النشادر عن طريق المعايرة؛ حيث تُعايَر بعد نهاية عمليَّة التقطير الكميَّة الزائدة من الحمض بمحلول قلوي معلوم العيار، ومن الفرق بين كميَّة الحمض الكليَّة والكميَّة الزائدة يُعرَف مقدار ما قد تفاعل منه مع النشادر؛ وبهذا نكون قد حدَّدنا كميَّة النشادر المكافئة لكميَّة الآزوت الحاصلة بالمعامل البروتيني الخاص بالمادة، فنحصل على كميَّة البروتين مُقدَّرةً كنسبة مئوية.

أ– المواد اللازمة: العيِّنة المراد اختبارها، كبريتات البوتاسيوم، كبريتات النحاس، حمض الكبريت المركَّز، حمض كلور الماء (0.1) نظامي ، هيدروكسيد الصوديوم (40%)، هيدروكسيد الصوديوم (0.1) نظامي، كاشف فينول فتالين أو أحمر الميتيل.

ب– الأدوات اللازمة:

دورق، جهاز ميكرو كيلدال (Micro-Kjeldahl)، ورقة ترشيح.

ج– الإجراء التجريبي:

1- زِنْ على ورقة ترشيح صغيرة عيِّنة من المادة الغذائيَّة المراد اختبارها بحدود 200–300 مغ، بعد طحنها وتنعيمها وخلطها بشكل جيِّد كي تكون مُتجانسة.

2- انقل العيِّنة الموزونة كميَّاً إلى دورق الهضم، وأضِف نحو 0.35 غ من كبريتات البوتاسيوم وبضع بلورات من كبريتات النحاس؛ وذلك للمساعدة على عمليَّة الهضم ورفع درجة الغليان.

3- أضِف إلى الدورق حوالي 50 مل من حمض الكبريت المركَّز، وسخِّن الناتج على حامل دوارق كيلدال الخاص بالهضم؛ بحيث تُسحَب الغازات الناتجة بالتفريغ المائي أو

الهوائي. يتمُّ التسخين في البداية على لهب ضعيف؛ وعندما تظهر في الدورق أبخرة بيضاء نزيد من التسخين حتى تبدأ محتويات الدورق بالغليان. استمر بالغليان مع التحريك من وقت لآخر مُدَّة ساعة على الأقل؛ حتى يصبح المزيج رائقاً وعديم اللون أو أزرق خفيفاً؛ ثمَّ أضِف قليلاً من حمض الكبريت المركَّز، وتابع الغليان؛ حتى يصبح المحلول رائقاً وعديم اللون؛ وبذلك تنتهي عمليَّة الهضم. اترك الدورق حتى يبرد.

4- انقل محتويات دورق الهضم إلى دورق التقطير باستخدام قمع زجاجي. يتمُّ النقل كميًّاً بوساطة الماء المقطَّر.

5- تأكَّد من كفاية الماء في دورق توليد البخار (يجب أن يكون 1/3-1/2 سعته ماءً) وأضِف إليه عدَّة قطرات من كاشف أحمر الميتيل؛ وذلك للتأكُّد من أنَّ الوسط حمضي، فإذا لم يكن كذلك أضِف إليه بضع قطرات من حمض الكبريت المركَّز؛ حتى يصبح لونه أحمر. أشعِل اللهب تحت دورق توليد البخار؛ ثمَّ افتح الماء للجريان في المكثِّف.

6- ضعْ 10 مل من محلول حمض كلور الماء (0.1) نظامي في أرلينة وضعْها تحت المكثِّف؛ بحيث تنغمر نهاية المكثِّف في المحلول الحمضي.

7- ضعْ حوالى 15 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم (40%) في مكانها المخصَّص فوق دورق التقطير، وقبل أن يبدأ الغليان في دورق البخار أفسِح المجال لمحلول NaOH بالنزول إلى حوجلة التقطير؛ ثمَّ أغلق السدادة؛ وضعْ قليلاً من الماء المقطَّر مكان الصودا واسمح لها بالنزول إلى الدورق و أغلق السدادة بإحكام. استمر بالتقطير بعد غليان الماء في دورق توليد البخار مُدَّة عشر دقائق على الأقلّ، أو حتى يتضاعف حجم المحلول تقريباً في الحوجلة المخروطيَّة. يمكن التأكُّد من وجود النشادر بواسطة ورقة عباد الشمس؛ حيث نستمرُّ بالتقطير حتى اللحظة التي لا يتغيَّر فيها لون ورقة عباد الشمس الحمراء.

8- أنزِل مستوى الدورق المخروطي، واغسل نهاية المكثِّف الخارجيَّة بقليل من الماء المقطَّر، تستقبلها في الدورق المخروطي نفسه، ثمَّ استمر بالتقطير مُدَّة دقيقتين.

9- افتح السدادة التي أُنزِل منها محلول هيدروكسيد الصوديوم لفتح الجهاز على الضغط الجوي، و أطفئ اللهب تحت دورق البخار، و أغلق مجرى الماء الداخل للمكثِّف.

10- عاير محتويات الأرلينة بمحلول معياري من هيدروكسيد الصوديوم (0.1N) نظامي؛ بوجود كاشف الفينول فتالئين أو أحمر الميتيل.

11- أعِد عمليتيْ الهضم والتقطير مُستخدِماً ورقة ترشيح بدون العيِّنة؛ فتحصل على العيِّنة الخالية. أجرِ المعايرة للعيِّنة الشاهدة، ولاحظ أنه إذا كانت المواد الكيميائيَّة المستخدَمة نقيَّة و خالية من الآزوت؛ فإنَّ نتيجة معايرة العيِّنة الخالية تكون مُساويةً نتيجة مُعايرة 10 مل من حمض كلور الماء مباشرةً بمحلول هيدروكسيد الصوديوم المعياري.

جـ- طريقة الحساب:

يتمُّ حساب كميَّة الآزوت على أساس كميَّة الحمض المرتبطة وفق الآتي:

لنفرض أنَّ:

V_2- حجم هيدروكسيد الصوديوم (0.1N) اللازم لمعايرة العيِّنة الخالية.

V_1- حجم هيدروكسيد الصوديوم (0.1N) اللازم لمعايرة العيِّنة المراد اختبارها.

N- عيار هيدروكسيد الصوديوم الذي يساوي هنا (0.1 N).

فيكون: $N \times V_2$ = عدد ميلي مكافئات حمض كلور الماء في 10 مل من محلول حمض كلور الماء (وهو الحجم المأخوذ للمعايرة).

$N \times V_1$ = عدد ميلي مكافئات حمض كلور الماء الزائدة (التي لم تتفاعل مع النشادر).

$N \times (V_2 - V_1)$ = عدد ميلي مكافئات حمض كلور الماء التي تفاعلت مع كمية النشادر الناتجة عن العيِّنة، وهو يساوي عدد ميلي مكافئات النشادر.

لما كان الميلي مكافئ الواحد من النشادر يحتوي على 14 غ من الآزوت، فإنَّ:

$14 \times N \times (V_2 - V_1)$ = كميَّة الآزوت في العيِّنة مُقدَّراً بالـ مغ **(mg)**.

ولحساب كميَّة البروتين في العيِّنة نضرب كمية الآزوت الناتجة بمعامِل يختلف بحسب نسبة الآزوت في البروتينات، وهي نسبة تتراوح ما بين (15 -18%).

إنَّ متوسِّط كميَّة الآزوت في البروتينات المختلفة هو (16%)؛ وبالتالي يكون المعامِل البروتيني مُساوياً 6.25. يتمُّ بعد ذلك حساب النسبة المئويَّة للبروتين في العيِّنة المدروسة.

ملاحظة:

تكون كميَّة الآزوت في البروتين النباتي كبيرة (16.4- 18.5)؛ ولهذا يكون المعامِل البروتيني فيها أقلَّ من 6.25.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل السابع

الفيتامينات

VITAMINS

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفيتامينات
VITAMINS

7-1- مُقدَّمة عامَّة

الفيتامينات هي مُركَّبات حيويَّة هامَّة ذات وزن جزيئي مُنخفض تنتمي إلى مجموعات مختلفة من المركَّبات العضويَّة، تُصنَع أساساً من قبل النباتات ثمّ تنتقل بعد ذلك إلى الجسم الحي عن طريق الأغذية. تلعب دوراً كبيراً في حياة الإنسان، ويتطلَّبها الجسم البشري ومُعظَم الكائنات الحيَّة بتراكيز مُعيَّنة من أجل النموّ والاستقلاب الطبيعيين؛ علماً بأنَّ الخليَّة الحيوانية لا تستطيع اصطناع الفيتامينات بكميَّات كافية. والفيتامينات مواد فعَّالة يجب تناولها عن طريق الوجبة الغذائيَّة أو عن أي طريق آخر. يعوِّض الجسم الحي حاجته من بعض الفيتامينات عن طريق التصنيع الذاتي، مثل الفيتامين K الذي يُصنَع في الأمعاء من قبل بعض الجراثيم الموجودة هناك، كما يُصنَع الفيتامين D بدءاً من الكولسترول منقوص الهيدروجين الموجود تحت الجلد بتأثير الأشعَّة فوق البنفسجيَّة.

يكمن الدور الحيوي لمعظم الفيتامينات في كونها تدخل في تركيب ما يُسمَّى التمائم الأنزيميَّة (الكوأنزيمات) Coenzymes؛ والتي تُعَدُّ العوامل الرئيسيَّة في تفاعلات الاستقلاب. يؤدِّي نقص الفيتامينات في الغذاء أو سوء امتصاصها من قبل الأحياء إلى اضطراب في استقلاب المواد؛ مُسبِّباً عدداً من الأمراض؛ كما أنَّ تناول كميَّة زائدة من بعض الفيتامينات يؤدِّي إلى اضطراب الاستقلاب الوظيفي في الجسم، وينجم عن ذلك الأمراض المسمَّاة فرط الفيتامينات.

تُقسَم الفيتامينات بحسب إمكانيَّة انحلالها في الدسم أو في الماء إلى مجموعتين رئيسيَّتين، هما:

أولاً– الفيتامينات المنحلَّة في الدسم:

تضمُّ هذه الفيتامينات كلاً من المجموعات الآتية:

1– مجموعة الفيتامين A (Vitamine A)

2– مجموعة الفيتامين D (Vitamine D)

3– مجموعة الفيتامين E (Vitamine E)

4– مجموعة الفيتامين K (Vitamine K)

5– مجموعة الفيتامين F (VitamineF)

ثانياً– الفيتامينات المنحلَّة في الماء:

تضمُّ هذه الفيتامينات كلاً من المجموعات الآتية:

1– مجموعة الفيتامين B (Vitamin B)

2– مجموعة الفيتامين T (Vitamin T)

3– الفيتامين H (Vitamin H)

4– الفيتامين C (Ascorbic Acid)

يؤدِّي نقص أيِّ فيتامين إلى خلل في بعض أعضاء الجسم؛ فإذا كان هذا النقص في حدود مُعيَّنة سُمي نقص الفيتامين هيبوفيتامين Hypovitaminosis. أمَّا إذا كان النقص كبيراً ولم يُغَطَّ من الخارج أدَّى ذلك إلى ما يُسمَّى عوزاً فيتامينيَّاً Avitaminosis. يؤدِّي تناول استهلاك كميَّات فائضة عن الحاجة من الفيتامينات المنحلَّة في الدسم إلى مرض ما يُسمَّى فرط الفيتامينات؛ وتُطرَح الكميَّات الفائضة من الفيتامينات المنحلَّة في الماء عن طريق البول. يبيِّن الجدول (1-7) التركيب الكيميائي والصفات العامَّة لبعض الفيتامينات والحاجة اليوميَّة إليها. سندرس في هذا الفصل أهمَّ الفيتامينات وخواصها؛ وطرائق الكشف عنها:

7-2- الكشف الكيفي عن الفيتامينات المنحلَّة في الدسم

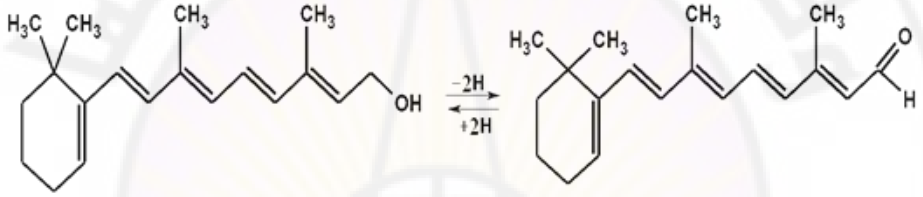
7- 2-1- الفيتامين A أو الرتينول Retinol

الفيتامين A هو فيتامين النموّ، يُوجَد في الطبيعة بشكلين A_1 و A_2؛ وهو موجود في زيت السمك والزبدة الطازجة؛ كما يُوجَد على شكل β- كاروتين (طليعة الفيتامين A) في الخضروات المختلفة، كالفليفلة، البندورة، البطاطا الحلوة الخس، السبانخ والجزر الغني بالكاروتينات. يُوجَد الفيتامين **A** بالشكل الألدهيدي، ويُدعَى الرتينال Retinal أو الغولي؛ ويُدعَى الرتينول Retinol. يتألَّف الرتينول من المركَّب β- أيونون مُرتبطاً مع جذرين من الإيزوبرين، و يتحوَّل عن طريق الأكسدة بثنائي أكسيد المنغنيز في المخبر أو بوساطة الأنزيمات المؤكسِدة في الجسم إلى الرتينال.

الجدول(7-1): التركيب الكيميائي والصفات العامَّة لبعض الفيتامينات و الحاجة اليوميَّة إليها

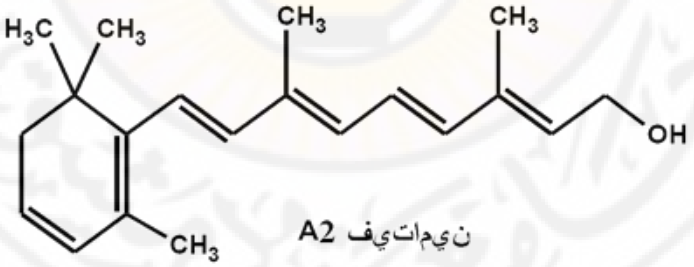
اسم الفيتامين	التركيب الكيميائي	الوضعيَّة عند الحفظ	الحاجة اليومية مغ/يوم
الفيتامين A (الرتينول)	غولات أليفاتية حلقية (β- أيونون+جذر إيزو برين	ثابت ضد الحرارة ولكنه حساس ضدّ الضوء	1.6
الفيتامين D_3 كوليكالسيفرول	مشتق 5،7-كولسترول منقوص الهيدروجين	ثابت نوعاً ما وقابل قليلاً للأكسدة	0.01
الفيتامين E (α-توكوفيرول)	هيكل الكرومان مع سلسة كربونية جانبية ومتفرعة	حساس ضد الضوء وعوامل الأكسدة	10
الفيتامين K α- فيللوكينون	نفثاكينون مع سلسلة جانبية من إيزوبرينويد	ثابت نوعاً ما ولكنه حساس ضد الضوء	3
الفيتامين B_1 (الثيامين)	حلقتان. بيريميدية وتيازولية ترتبطان مع بعضهما عبر زمرة ميثيلينية	غير ثابت ضد الحرارة و ثابت ضد O_2وحساس ضد عوامل الأكسدة	1.8
الفيتامين B_2 (الريبوفلافين)	إيزو الوكسازين مع جذر الريبوز	حساس ضد الضوء	1.8
الفيتامين B_6 البيريدوكسين	بيريدين مع بيريدوكسول وبيريدوكسال وبيريدوكسامين	ثابت نوعاً ما ضد الحرارة وحساس ضد الضوء	1.6
النياسين	أميد حمض النيكوتينيك (β-	ثابت نوعاً ما	15

(النيكوتين أميد P.P)	بيريدين حمض كربوكسيلي)		
حمض البانتوتينيك	ثنائي ببتيد (β-ألانين+ مشتق حمض الزبدة وروابط ببتيدية)	ثابت ضد الحرارة	10
الفيتامين H (البيوتين)	يتألف من حلقتين متغايرتين	ثابت ضد الحرارة	0.1
الفيتامين B_{12} (الكوبالامين)	هيكل تترابيرول مع عنصر الكوبالت كذرة مركزية	ثابت نوعاً ما	0.001
الفيتامين C L- حمض الأسكوربيك	مشتق هكسوزي مع مركب ثنائي الإينول وحلقة لاكتون	سهل الأكسدة و بخاصة عند وجود عناصر ثقيلة. مثل Cu^{2+}, Fe^{3+}	75



رتـ ينول رتـ ينال

تختلف البنية الكيميائيَّة للفيتامين A_2 عن الفيتامين A_1 بوجود رابطة إضافيَّة في حلقة β-أيونون؛ علماً أنَّ فعاليَّة الفيتامين $\mathbf{A_1}$ أكبر من $\mathbf{A_2}$ بنحو 2.5 ضعف.



نيمات يف A2

تجربة (7-1): الكشف عن الفيتامين A؛ التفاعل مع حمض الكبريت

ينزع حمض الكبريت المركَّز الماء من الفيتامين A أو من طليعته (β- كاروتين)، ويتشكَّل لون أزرق بنفسجي غير ثابت يتحوَّل إلى البني.

أ – المواد والأدوات اللازمة:

زيت السمك، زبدة، جزر أو β- كاروتين (طليعة الفيتامين A)، كلوروفورم جاف تماماً، حمض الكبريت المركَّز، أنابيب اختبار جافة.

ب– الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار جاف قطرة واحدة من زيت السمك، و 3 مل من الكلوروفورم الجاف، ثمَّ أضِف بوساطة القطَّارة قطرتين من حمض الكبريت المركَّز. لاحظ تشكُّل لون أزرق بنفسجي سرعان ما يتحوَّل إلى بني مُحمَرّ، ثمَّ إلى بني. دوِّن ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (7-2): الكشف عن الفيتامين A؛ التفاعل مع كلوريد الحديد

أ– المواد والأدوات اللازمة:

محلول زيت السمك (10%) في الكلوروفورم الجاف، محلول كلوريد الحديد $FeCl_3$ (10%)، أنابيب اختبار جافَّة.

ب– الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار 1 مل من محلول زيت السمك (10%) في الكلوروفورم، وأضِف إليه حوالى ثلاث قطرات من محلول كلوريد الحديد. لاحظ ظهور لون أخضر فاتح (زيتوني). دوِّن ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (7-3): الكشف عن الفيتامين A؛ التفاعل مع مُركَّب 1،-2 ثنائي كلوريد هيدرين الغليسرين

أ– المواد والأدوات اللازمة:

محلول زيت السمك (10%) في الكلوروفورم الجاف، 1، 2– ثنائي كلوريد هيدرين الغليسرين، حمض الكبريت المركَّز (أو بلا ماء حمض الخل)، أنابيب اختبار نظيفة جداً وجافة تماماً.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار جاف ونظيف 1 مل من محلول زيت السمك (10%) في الكلوروفورم، و 1 مل من حمض الكبريت المركّز أو بلا ماء حمض الخلّ، و 4 مل من 2،1 - ثنائي كلور هيدرين الغليسرين. اتركْ هذا المزيج لعدَّة دقائق في درجة حرارة الغرفة؛ ولاحظ بعد فترة ظهور لون أزرق ثابت؛ ما يدلُّ على وجود الفيتامين A. سجّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (7-4): الكشف عن الفيتامين A؛ التفاعل مع كبريتات الحديدي

أ- المواد والأدوات اللازمة:

زيت السمك أو محلول الفيتامين A (0.05%) في الكلوروفورم، حمض الخلّ الثلجي، محلول كبريتات الحديدي المشبَع، حمض الكبريت المركّز، أنابيب اختبار نظيفة وجافة تماماً.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار نظيف وجاف قطرتين من زيت السمك أو من محلول الفيتامين A (0.05%) في الكلوروفورم، وأضِف 5- 10 قطرات من كلٍّ من حمض الخلّ الثلجي ومحلول مُشبَع من كبريتات الحديدي $FeSO_4$ و قطرتين من حمض الكبريت المركّز. لاحظ ظهور لون أزرق يتحوَّل تدريجيّاً إلى أحمر وردي، الشيء الذي يدلُّ على وجود الفيتامين **A**. سجّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

ملاحظات:

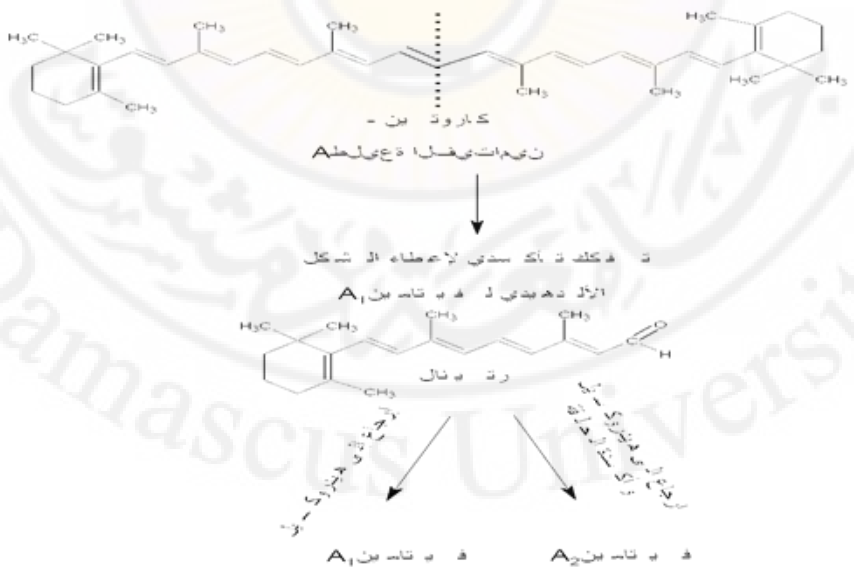
- تعطي الكاروتينات في شروط التفاعل نفسها لوناً أخضر.
- يجب تجفيف الأنابيب في مُجفِّف، وفي حال عدم وجوده تُغسَل بالكلوروفورم الجاف وتُترَك حتى تجفَّ.

تجربة (7-5): الكشف عن الفيتامين A؛ التفاعل مع ثلاثي كلوريد الأنتيموان

أ- المبدأ النظري للتجربة:

يتفاعل الفيتامين A مع ثلاثي كلوريد الأنتيموان $SbCl_3$؛ مُشكِّلاً مُركَّباً ذا لون أزرق؛ نتيجةً لنزع الماء وتشكُّل نواتج تكاثفيَّة مُلوَّنة. يتفكَّك β- كاروتين (طليعة الفيتامين A) في البداية بوساطة الأكسدة الانفصاميَّة؛ مُعطياً الرتينال الذي لا يلبث أن يُرجَع مُعطياً الفيتامين A_1 والفيتامين A_2. يتطلَّب تحقيق هذا التفاعل دقةً خاصَّة؛ حيث إنَّ وجود أيَّة نسبة من الرطوبة -حتى لو كانت ضئيلة جداً- يؤدِّي إلى تشكُّل مُركَّب كلوريد أوكسيد الأنتيموان الذي لا يتفاعل مع الفيتامين A، ويُسبِّب تعكُّر وسط التفاعل؛ ولذلك يجري التخلُّص من الرطوبة بإضافة قطرتين من بلا ماء حمض الخلّ إلى وسط التفاعل (أو إضافة أيَّة مادَّة ماصَّة للرطوبة).

يمكن توضيح التفاعلات الحاصلة بالمعادلات الآتية:



ب- المواد والأدوات اللازمة:

زيت السمك أو β- كاروتين أو عصير الجزر (الفيتامين A)، ثلاثي كلوريد الأنتيموان، كلوروفورم جاف تماماً، أنابيب اختبار جافَّة تماماً.

*** تحضير محلول ثلاثي كلوريد الأنتيموان في الكلوروفورم:**

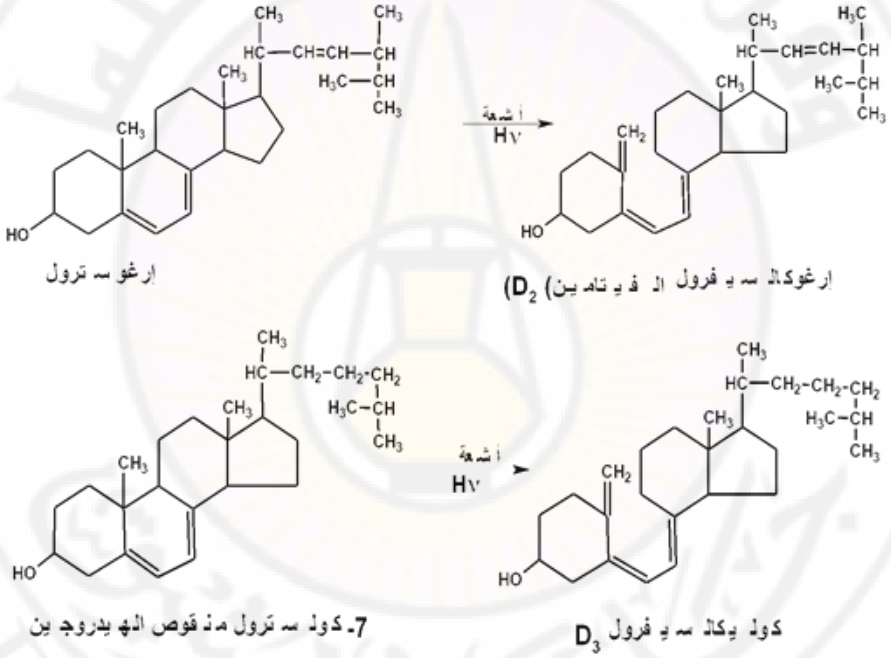
يُغسَل الكلوروفورم مرتين بكميَّة مُضاعفة من الماء المقطَّر، ويُجفَّف بعد الغسل بوساطة كبريتات الصوديوم أو كربونات الصوديوم ويُقطَّر، ثمَّ يُحفَظ في زجاجة ذات لون بني وذات سدادة مُصنفرة (مع إضافة عدَّة بلورات من كربونات البوتاسيوم لامتصاص الرطوبة). تُغسَل بلورات ثلاثي كلور الأنتيموان بالكلوروفورم النقي والجاف تماماً؛ والذي تمَّ تحضيره سابقاً عدَّة مرات حتى يزول أيُّ تلوُّن للكلوروفورم. يُحضَّر محلول مُشبَع من ثلاثي كلوريد الأنتيموان(في درجة الحرارة العاديَّة $20^{o}C$) ويُحفَظ في وعاء زجاجي بني اللون. يكون هذا المحلول جاهزاً للاستخدام بعد حوالي 6- 8 ساعات من تحضيره، وصالحاً لمدَّة خمسة عشر يوماً.

ج- الإجراء التجريبي:

خذْ 3 مل من محلول زيت السمك (10%) في الكلوروفورم الجاف، أو قطرة واحدة من محلول خلات الرتينول في الكلوروفورم وضعْها في أنبوب جاف تماماً. أضِف بعد ذلك 10 مل من محلول ثلاثي كلوريد الأنتيموان في الكلوروفورم، ولاحظ تشكُّل لون أزرق غير ثابت تتناسب شدَّته مع كميَّة الفيتامين A الموجودة في المحلول. أمَّا إذا استخدمتَ الكاروتين في هذا التفاعل فستلاحظ تشكُّل لون أخضر مُزرَق. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي الخاص بك.

7-2-2- الفيتامين D

تُسمَّى هذه المجموعة من الفيتامينات الكالسيفرولات؛ وهي تنتمي إلى الاستروئيدات، وتكمن أهميَّتها الأساسيَّة في فعاليَّة كلٍّ من الفيتامين D_2 (إرغوكالسيفرول) و D_3 (**كوليكالسيفرول**). يُعَدُّ الإرغوستيرول والكولستيرول 7- منقوص الهيدروجين طليعتين للفيتامين D_2 و D_3 على الترتيب، إذ يتحوَّلان إليهما عند تعرُّضهما للشمس أو للأشعَّة فوق البنفسجيَّة بحسب المعادلات الآتية:



إرغوستيرول — إرغوكالسيفيرول (فيتامين D_2)

7-كولستيرول منقوص الهيدروجين — كولكالسيفيرول D_3

يؤدِّي نقص الفيتامين D إلى مرض الكساح عند الأطفال؛ كما يمكن أن يؤدِّي إلى تليُّن العظام عند البالغين. يُعَدُّ الفيتامين D مُركَّباً فعَّالاً ضوئيَّاً يحرف الضوء المستقطب نحو اليمين، ويُمتَصُّ بصورة أعظميَّة في مجال الأشعَّة فوق البنفسجيَّة عند طول الموجة 265 نانومتر. يُعَدُّ السمك، الزبدة، الحليب، صفار البيض وكبد الحيوانات من المصادر الأساسيَّة للفيتامين D بالنسبة للإنسان.

تجربة (7-6): الكشف عن الفيتامين D، التفاعل مع الأنيلين

أ- المواد والأدوات اللازمة:

زيت السمك (الفيتامين D)، الأنيلين، حمض كلور الماء المركَّز، أنابيب اختبار.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار 1 مل من زيت السمك و 2-3 مل من الأنيلين و 0.5 مل من حمض كلور الماء المركَّز.اغلِ المزيج لمدَّة دقيقة واحدة، ولاحظْ انفصال مُستحلَب أصفر ينقلب إلى أخضر فأحمر. انتظرْ عدَّة دقائق تلاحظْ اختفاء المستحلَب مع تشكُّل طبقة سفليَّة بلون أحمر كدليل على وجود الفيتامين D. دوِّن ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (7-7): الكشف عن الفيتامين D، التفاعل مع ثلاثي كلور الأنتيموان

أ- المواد والأدوات اللازمة:

زيت السمك، كلوروفورم جاف، بلاماء حمض الخلّ، محلول ثلاثي كلور الأنتيموان (21%) في الكلوروفورم الجاف، أنابيب اختبار جافَّة.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار نظيف وجاف 2 مل من محلول زيت السمك (10%) في الكلوروفورم الجاف، وعشر قطرات من كلٍّ من بلا ماء حمض الخل ومحلول ثلاثي كلوريد الأنتيموان $SbCl_3$ (21%) في الكلوروفورم الجاف، ولاحظ تلوُّن المحلول بلون أصفر أو أصفر برتقالي، وهذا دليلٌ على وجود الفيتامين D.

تجربة (7-8): الكشف عن الفيتامين D، التفاعل مع البروم

أ- المواد والأدوات اللازمة:

زيت السمك، محلول البروم في الكلوروفورم الجاف (60:1)، زجاجة ساعة.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في زجاجة ساعة ثلاث قطرات من زيت السمك، وثلاث قطرات من محلول البروم في الكلوروفورم الجاف (60:1)، ولاحظْ بعد فترة من الزمن تلوُّن المحلول بلون أخضر أو أخضر مُزرق؛ ما يدلُّ على وجود الفيتامين D. دوِّن ملاحظاتك.

تجربة (7-9): الكشف الكيفي عن الفيتامين D، التفاعل مع مركب 1، 2- ثنائي كلور هيدرين الغليسرين

أ- المواد اللازمة:

محلول الفيتامين D (10%) في الكلوروفورم الجاف، حمض كلور الماء المركَّز، مُركَّب 1، 2- ثنائي كلور هيدرين الغليسرين.

ب- الإجراء التجريبي:

ضع في أنبوب اختبار نظيف و جاف 0.5 مل من حمض كلور الماء المركَّز، و 4 مل من 2,1- ثنائي كلور هيدرين الغليسرين، و 1 مل من محلول الفيتامين D (10%) في الكلوروفورم الجاف؛ و لاحظ بعد فترة ظهور لون أخضر؛ وهذا دليلٌ على وجود الفيتامين D.

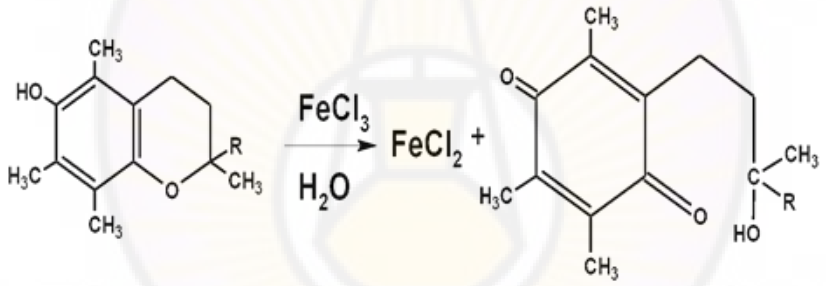
7-2-3- الفيتامين E

تُصنَّف تحت هذه المجموعة سبعة فيتامينات، وتُسمَّى تبعاً لاستبدال الزمرة الميتيليَّة α أو β أو γ أو... إلخ توكوفيرول. يُعَدُّ α- توكوفيرول من أهمِّ الأشكال السابقة؛ وهو يتألَّف من حلقة كرومان (بنزوبيران) وجذر إيزو هكسا ديكيل وأربع زمر ميتيليَّة وزمرة هيدروكسيليَّة واحدة مُرتبطة بحلقة البنزن. يُستخدَم الفيتامين E كمُضاد أكسدة؛ حيث يمنع تشكُّل الجذور الحرَّة في الأغشية الخلويَّة؛ كما يُعَدُّ الفيتامين فيتامينَ التناسل ومانعَ العقم؛ حيث يؤدِّي نقصه إلى ضمور القنوات المنويَّة عند الرجل وعدم حضن البيضة عند الإناث. الفيتامين E زيت عديم اللون، فعَّال ضوئيَّاً، يحرِف الضوء المستقطَب نحو

اليمين، وله قيمة امتصاص أعظميَّة في مجال الأشعَّة فوق البنفسجيَّة عند طول الموجة 297 نانومتر. ينحلُّ الفيتامين E في الشحوم وفي مُحلات الشحوم ولا ينحلُّ في الماء؛ ولا يُؤثِّر تصبُّن الشحوم في وسط قلوي غولي عند الدرجة $35-40^{o}C$ على الفيتامين E. يُستفاد من هذه الخاصيَّة في فصله عن الشحوم مع المواد غير المتصبِّنة. تُوجَد التوكوفيرولات في الزيوت النباتية وبذور الحبوب والتفاح واللحوم والزبدة والبيض.

تجربة (7-10): الكشف عن الفيتامين E، التفاعل مع كلور الحديد

يتأكسد التوكوفيرول بكلوريد الحديد وتتفاعل شاردة الحديدي مع الأورتوفيناترولين، فيتشكَّل مُعقَّد شاردي هو $Fe(C_{12}H_8N_2^{+2})_3$ الذي يُلوِّن المحلول باللون الأحمر وفق المعادلة الآتية:



هيدروكسي ألكيل كينون - توكوفيرول -

أ- المواد والأدوات اللازمة:

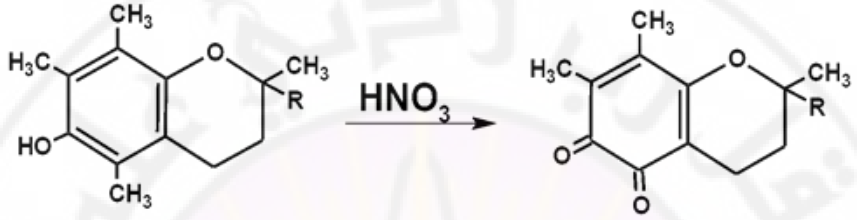
محلول الفيتامين E في الغول (1.5 % مُحضَّر مُسبقاً)، محلول أورتوفينا نترولين، محلول كلور الحديد في الغول (0.2 %)، أنابيب اختبار.

ب- الإجراء التجريبي:

خذْ أنبوب اختبار وضعْ فيه 1- 2 مل من محلول الفيتامين E في الغول و 1 مل من محلول أورتو فينا نترولين، ثمَّ أضف على شكل قطرات محلول كلوريد الحديد (0.2 %) في الغول حتى ظهور اللون الأحمر؛ ما يدلُّ على وجود الفيتامين E.

تجربة (7-11): الكشف عن الفيتامين E، التفاعل مع حمض الآزوت

تتأكسد التوكوفيرولات بسهولة تحت تأثير حمض الآزوت وغيره من المؤكسِدات القويَّة؛ مُعطيةً مُركَّباً كيتونياً هو توكو فيرول الذي يتحوَّل بدوره فيما بعد إلى مُعقَّد ذي لون أحمر مُصفَرّ وفق المعادلة الآتية:



تـ وكوف يرول تـ وكوف يرول

أ- المواد والأدوات اللازمة:

الفيتامين E، غول إيتيلي مطلق، حمض الآزوت المركَّز، أنابيب اختبار.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار نظيف وجاف 1 مل من محلول الفيتامين E (1.5%) في الغول الإيتيلي المطلق؛ وأضِف بحذر 2 مل من حمض الآزوت. رُجَّ الأنبوب فيتلوَّن المحلول خلال دقيقة أو دقيقتين بلون أحمر؛ ما يدلُّ على وجود التوكوفيرول.

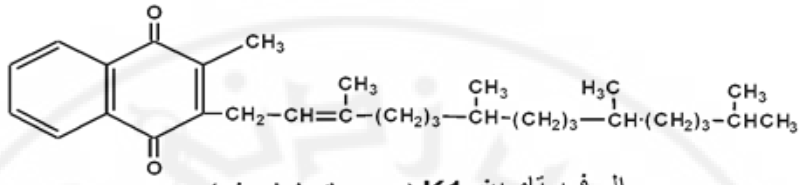
ملاحظة: يحصل هذا التفاعل بعنف؛ لذلك ينبغي إضافة حمض الآزوت على دفعات، ولذلك لابدَّ من إجراء التجربة تحت ساحبة الغازات.

7-2-4- الفيتامين K

يُوجَد الفيتامين K في الطبيعة على شكل مزيج من الفيتامينات K_1, K_2, K_3, وهو عبارة عن بوليمير الإيزوبرين مُرتبط بحلقة نفتوكينون. يُعَدُّ مركَّب الميناديون (Menadione) المركَّب الأساس أو الأم لهذه المجموعة من الفيتامينات؛ وأشهرها

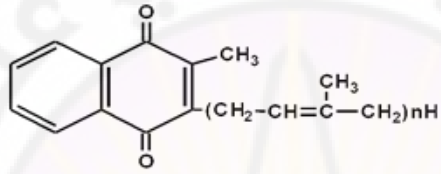
الفيتـــامين K_1 (الفيللوكينـــون Phylloquinone). يبـــيِّن الشـــكل (7-1) صـــيغ **الفيتامينات** K_1، K_2، K_3 على التوالي.

a)-



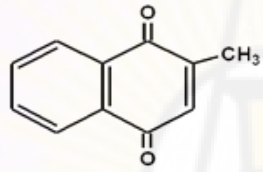
الـ فـ يـ تامـ ين K1 (نوني كول لـ يف)

b)-



الـ فـ يـ تامـ ين K2 (نونبكونراف)

c)-



الـ فـ يـ تامـ ين K2 (نو ي دان يم)

الشكل (7-1): صيغ مجموعة الفيتاميات K

a- الفيتامين K_1، b- الفيتامين K_2، c- الفيتامين K_3

يُسمَّى الفيتامين K فيتامين التخثُّر؛ إذ يحافظ على المستويات السليمة لعوامل تخثُّر الدم. يُوجَد هذا الفيتامين في الزيوت النباتيَّة وأوراق بعض النباتات وكبد الحيوانات؛ كما تقوم بعض الميكروبات المعويَّة باصطناعه، ويؤدِّي نقصه إلى انسداد الشريان الصفراوي وإلى النزيف الدموي.

تجربة (7-12): الكشف عن الفيتامين K، التفاعل مع السيستئين

أ- المواد والأدوات اللازمة:

محلـول الفيتـامين K (0.2%) في الغـول، محلـول السيسـتئين (0.025%)، محلـول هيدروكسيد الصوديوم (10%)، أنابيب اختبار.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار 1 مل من محلول الفيتامين K (0.2%) في الغول وقطرتين من محلول السيستئين (0.025%)، وقطرتين من محلول هيدروكسيد الصوديوم (10%). لاحظ ظهور لون أصفر؛ وهذا دليلٌ على وجود الفيتامين K في المحلول المفحوص.

تجربة (7-13): الكشف عن الفيتامين K، التفاعل مع إستر ثنائي إيتيل حمض المالونيك

أ- المواد والأدوات اللازمة:

محلول من الفيتامين **K** (0.2%)، محلول استر ثنائي إيتيل حمض المالونيك (1%) محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (1%)، أنابيب اختبار.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار جاف 2 مل من محلول الفيتامين K في الغول و 5 مل من محلول إستر ثنائي إيتيل حمض المالونيك، وقطرتين من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (1%). لاحظ ظهور لون بنفسجي مُحمَرّ؛ وهذا دليلٌ على وجود الفيتامين K. سجّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

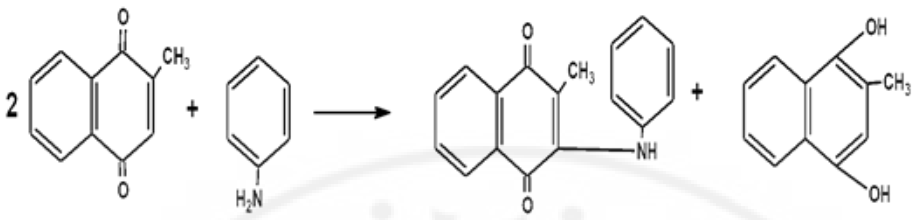
تجربة (7-14): الكشف عن الفيتامين K، التفاعل مع الأنيلين

أ- المواد والأدوات اللازمة:

محلول الفيتامين K (0.2%) في الغول، أنيلين، أنابيب اختبار.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار 2 مل من محلول الفيتامين K في الغول (0.2 %)، و 1 مل من الأنيلين. لاحظْ تلوُّن المزيج الناتج بعد أن تحرِّكه قليلاً بلون أحمر؛ وهذا يدلُّ على وجود الفيتامين K. سجّل ملاحظاتك في دفتر العملي.



7-3- التحليل الكمّي للفيتامينات المنحَلَّة في الدسم

تجربة (7-15): التحليل الكمّي للفيتامين A

أ- المواد والأدوات اللازمة:

العيِّنة المراد فحصها من الفيتامين A، كلوروفورم جاف تماماً، محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (2 نظامي) في الغول، كبريتات الصوديوم، ثلاثي كلوريد الأنتيموان (21%) في الكلوروفورم اللامائي، إيتر نقي ومُجفَّف بكلور الكالسيوم، محلول قياسي من الفيتامين A لتحضير سلسلة محاليل معياريَّة، دورق قاعدي سعته 1000 مل، أنابيب شعريَّة، مُنظِّم حراري، اسطوانة مُدرَّج سعة 10مل، أرلينات، حُجرة تجفيف زجاجيَّة، قمع فصل، أقماع ورق ترشيح، جفنة خزفيَّة، ماصَّات معياريَّة سعة 10مل، ماصَّات مُدرَّجة سعتها 2 مل.

ب- الإجراء التجريبي:

1- تحضير سلسلة المحاليل المعياريَّة وقياس شدَّة الامتصاص الموافقة لها:

رقِّمْ ثمانية أنابيب اختبار جافَّة ونظيفة، وضعْ فيها المحاليل بالكميَّات المحدَّدة في الجدول (7-2)، فتكون بذلك قد حضَّرت سلماً مُتدرِّجاً من المحاليل المعياريَّة من 0.2 – 1.5 مل، بدءاً من محلول معياري مخبري يحتوي كلُّ 1 مل منه على 20 وحدة دولية، ثمَّ أضف

الكلوروفورم كي يصبح الحجم مُتساوياً في كلّ الأنابيب ومقداره 1.5 مل. أضِف الآن 0.4 مل من محلول ثلاثي كلوريد الأنتيموان في الكلوروفورم (21%)، فيظهر تلوُّن أزرق بشدات مختلفة. قِسْ شدَّة الامتصاص الضوئي A (Adsorption) خلال 30 ثانية عند طول موجة (620 nm)، مُستخدِماً الكلوروفورم.

ملاحظات:

– تُقاس شدَّة الامتصاص الضوئي بسرعة لأنَّ اللون يزول تدريجيّاً؛ لذلك يجب أن يُحضَّر كلُّ محلول من المحاليل المعياريَّة بصورة مُنفردة، وتُقرَأ شدَّة الامتصاص مباشرةً؛ كما يجب أن تكون إضافة الكاشف $SbCl_3$ في المرحلة الأخيرة.

– تُعادل الوحدة الدوليَّة من الفيتامين A 0.3 ميكروغرام من خلات الرتنيول أو 0.6 مغ من β- كاورتين.

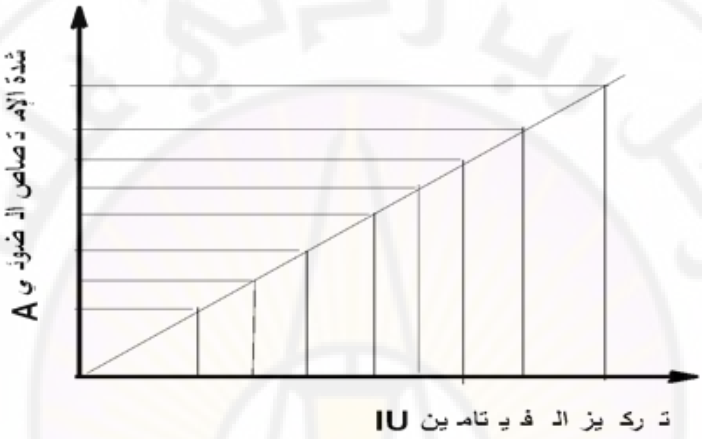
الجدول (7-2) الحجوم اللازمة لتحضير المحاليل المعياريَة

رقم الأنبوب	1	2	3	4	5	6	7	8
المحلول المعياري(مل)	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2	1.4	1.5
محلول الكلوروفورم(مل)	1.3	1.1	0.9	0.5	0.5	0.3	0.1	لاشيء
الحجم النهائي (مل)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
محلول ثلاثي كلور الأنتيموان $SbCl_3$	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	.4
تركيزالمحلول(IU)	4.0	8.0	12.0	16	20.0	24.0	28.0	30.0

2- رسم المنحني البياني:

حدِّد على المحور الأفقي تراكيز الفيتامين A مُقدَّراً بالواحدات الدولية، وعلى المحور الشاقولي النقاط الموافقة للامتصاص الضوئي الذي تمَّ قياسه بواسطة الجهاز. إنَّ كلَّ تركيز على المحور الأفقي تقابله قراءة A على المحور الشاقولي. أقِم من كلِّ نقطة للتركيز على

المحور الأفقي عمودياً يلتقي مع العمود المنشأ على النقطة الموافقة للامتصاص الضوئي لهذا التركيز؛ وبذلك تُحدَّد نقطة التقاء العمودين، وتحصل على نقاط مُتدرِّجة عند الوصل بينهما، وعلى خط مستقيم وفق الشكل الآتي:



3- إجراء الحسابات وتقدير العيِّنة المجهولة:

يجري تقدير العيِّنة المدروسة اعتماداً على علاقة لامبرت-بيير المعروفة التي يكون بيانها الرياضي كما يلي:

$$A = \varepsilon \times b \times c$$

حيث إنَّ :

A : قيمة الامتصاص الضوئي.

I_0 : شدَّة الضوء الذي يدخل إلى عيِّنة المادة (شدَّة الشعاع الابتدائية).

I : شدَّة الضوء الخارج من عيِّنة المادة (شدَّة الشعاع النافذ).

ε : ثابت يمثِّل معامل الانطفاء الجزيئي المميِّز للمادة المدروسة.

b: المسافة التي يقطعها الضوء في محلول العينّة، و تساوي عرض الخليَّة الزجاجية بالسم.

C: تركيز المادة في المحلول مُقدَّراً بالمول/ ل.

إنَّ شدَّة الامتصاص **A** تتناسب مع التركيز **C**؛ وبالتالي فإنَّ:

حيث إنَّ:

$\mathbf{A_1}$:شدَّة الامتصاص الضوئي للعينّة مجهولة التركيز.

$\mathbf{A_2}$: شدَّة الامتصاص للعينّة المعيارية (معلومة التركيز).

$\mathbf{C_1}$: تركيز العيِّنة المجهولة.

$\mathbf{C_2}$: تركيز العيِّنة المعياريَّة.

ومنه نستنتج:

يجري حساب محتوى الفيتامين A مُقدَّراً بالوحدات الدوليَّة في 100 مل (X) من المادة الحاوية على الفيتامين A وفق العلاقة الآتية:

حيث إنَّ:

$\mathbf{C_1}$: هو تركيز الفيتامين A المحسوب وفق العلاقة السابقة.

V: حجم المادة المأخوذة للتحليل مُقدَّراً بالمل.

تجربة (7-16): التحليل الكمّي للفيتامين D

يعتمد التحليل الكمّي للفيتامين D على تفاعله مع ثلاثي كلوريد الأنتيموان في الكلوروفورم؛ حيث يعطي لوناً برتقاليّاً أصفر.

أ- المواد و الأدوات اللازمة:

مقياس اللون، حمَّام مائي، قمع فصل سعة 300 مل (عدد 2)، دورق سعة 200 مل مُصنفَرة، ماصة معايرة، زبدة الحليب، إيتانول (96%)، محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (50%)، الإيتر الإيتيلي، كبريتات الصوديوم اللامائية، كلوروفورم (مغسول بالماء ومُجفَّف بواسطة كبريتات الصوديوم اللامائية ومُقطَّر حديثاً)، محلول ثلاثي كلوريد الأنتيموان ذو التركيز (23%-21) في الكلوروفورم اللامائي (يُنصح بحفظ هذا المحلول في زجاجة عاتمة؛ وضمن مُجفِّف زجاجي فوق حمض الكبريت الكثيف)، كلور الأسيتيل، محلول كالسيفرول معياري.

* تحضير محلول معياري من الكالسيفرول:

يُحَلُّ 10 مغ من الكالسيفرول في 100 مل من الإيتانول؛ وهذا يعادل 400 ألف وحدة دوليَّة من الفيتامين D. ثمَّ تُحضَّر محاليل معياريَّة بتراكيز 200 وحتى 1000 وحدة دوليَّة من الكالسيفرول في 1 مل.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ 10 غ من زبدة الحليب و 40 مل من الإيتانول (96%) و 8 مل من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم ذي التركيز (50%) في دورق مُجهَّز بمبرِّد هوائي مُرتد طوله 80 سم. سخِّن الدورق لمدَّة 50 دقيقة على حمَّام مائي مُسخَّن للدرجة $90^{o}C$. بعد انتهاء عمليَّة التصبُّن انقل محتوى الدورق كميَّاً إلى قمع الفصل واستخلصه ثلاث مرات بالإيتر الإيتيلي (تجري عمليَّة الفصل باستخدام 50 مل من الإيتر الإيتيلي على مرحلتين، 25

مل ثمَّ 25 مل). اجمع الأطوار الإيتريَّة في كلِّ مرة في قمع فصل ثان؛ واغسلها بعدة دفعات من الماء حتى زوال القلوية تماماً (استخدم الفنول فتالئين كمُشعِر للتأكُّد من زوال القلوية). أضِف للمُستحضَر الإيتري 7 غ من كبريتات الصوديوم اللامائية وجفِّفه حتى تمام الشفافية (15–20 دقيقة). رشِّح بعد ذلك بواسطة ورقة الترشيح وبخِّر الإيتر من المستحضَر على حمَّام مائي (مُسخَّن سابقاً) حتى يجفَّ بصورة تامَّة، ثمَّ حُلَّ الراسب المتشكِّل في 5 مل من الكلوروفورم؛ وخذْ منها 1 مل و أضِف 3 قطرات من كلور الأسيتيل و 6 مل محلول ثلاثي كلور البيزموت. بعد مرور أربع دقائق قِس الامتصاصية بوساطة مقياس الطيف المرئي عند طول الموجة 500 نانومتر؛ بالمقارنة مع المزيج المؤلَّف من 1 مل من الكلوروفورم؛ و 6 مل من محلول ثلاثي كلور البيزموت؛ وثلاث قطرات من كلور الأسيتيل. تُقدَّر كميَّة الفيتامين D بوساطة رسم المنحني المعياري وتجري الحسابات وفق العلاقة:

حيث إنَّ:

C: كميَّة الفيتامين D في 1 غ من الدسم، مُقدَّرةً بالوحدة الدوليَّة.

X: كميَّة الفيتامين التي تمَّ تحديدها على المنحني المعياري في 1 مل من المحلول؛ مُقدَّرةً بالوحدة الدوليَّة.

V: مقدار التمديد مُقدَّراً بالمل.

a: وزن المادة الدسمة؛ مُقدَّراً بالغرام.

d: كثافة الدسم؛ مُقدَّرةً بـ (غ/ل).

تجربة (7-17): التحليل الكمّي للفيتامين E

تعتمد طريقة التحليل الكمّي للفيتامين D على أكسدة α- توكوفيرول إلى α- توكوفيريل كينون ذي اللون الأحمر أو الأصفر المحمَرّ؛ وقياس شدَّة الامتصاص في عيِّنة التجربة مقابل محلول المقارنة بوساطة مقياس اللون.

أ- المواد و الأدوات اللازمة:

حليب، محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (60%)، إيتانول (96%)، إيتر إيتيلي، كبريتات الصوديوم اللامائيَّة، إيتانول مُطلق، حمض الآزوت (d=1.4)، مجموعة محاليل غولية معيارية من α- توكوفيرول ذات تراكيز متزايدة من 100- 400 ميكروغرام في 1 مل، مقياس اللون، حمَّام مائي، قمع فصل سعة 200 مل، دورق قاعدي سعة 100 مل وآخر سعة 250 مل (مُجهَّزان بمبرِّد هوائي)، دورق مُعايرة سعة 25 مل، اسطوانة مُدرَّجة سعة 25 (عدد 4)، ماصَّة مُعايرة.

ب- الإجراء التجريبي:

صُبَّ في دورق مُزوَّد بمبرِّد هوائي 100 مل من الحليب و 25 مل من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (60%) و 20 مل من الإيتانول (96%). سخِّن الدورق لمدَّة ساعتين على حمام مائي بدرجة الغليان، ثمَّ برِّد حاصل الحلمهة الناتج ومدِّدد بـ 20 مل من الماء؛ وانقله كميَّاً إلى قمع الفصل. أجرِ عمليَّة استخلاص α- توكوفيرول بوساطة الإيتر الإيتيلي الذي يُضاف إلى القمع على ثلاث دفعات مُستقلَّة (50 و 25 و 25)، اجمع كميَّات الإيتر الثلاث معاً واغسل بوساطة الماء المقطَّر ثلاث إلى أربع مرات في قمع الفصل حتى زوال قلويَّة الوسط (استخدم لذلك مُشعر الفينول فتالئين للتأكُّد من زوال القلويَّة).

جفِّف المستحضَر الإيتيلي الناتج بواسطة كبريتات الصوديوم اللامائيَّة (5-7 غ) حتى تمام شفافيَّة السائل، ثمَّ رشِّحه في دورق (سعة 100 مل) واغسل الراسب على القمع بوساطة قليل من الإيتر تجري إضافته إلى الكميَّة الأصليَّة. بخِّر الإيتر على حمَّام مائي

مُسخَن مُسبقاً، ثمَّ حُلَّ الراسب الناتج في 5 مل من الإيتانول المطلق، وأضِف إليه 1 مل من حمض الآزوت المركَّز، وأوصِله بعد ذلك إلى دورق بمبرِّد هوائي وسخِّنه على حمَّام مائي يغلي لمدَّة ثلاث دقائق لأكسدة α- توكوفيرول. خذ للمقارنة 5 مل من الإيتانول المطلق الذي يُضاف إليه 1 مل من حمض الآزوت المركز؛ واغلِه أيضاً على حمَّام مائي لمدَّة ثلاث دقائق. برِّد الدورقين واتركهما لمدَّة 15 دقيقة في الظلام من أجل تشكُّل المعقَّد الملوَّن وانقل محتوى كلٍّ من العيِّنتين، التجريبية والمقارنة (الخالية) إلى دورقيْ مُعايرة سعة 25 مل، ومدِّدهما بالإيتانول المطلق حتى الحجم 25 مل. قِس شدَّة الامتصاص في عيِّنة التجربة مقابل محلول المقارنة باستخدام مُرشِّح اللون المقابل لطول الموجة 470 نانومتر؛ وقارن كميَّة الفيتامين E في العيِّنة بوساطة منحني المعايرة.

لرسم منحني المعايرة تتمُّ أكسدة 5 مل من محاليل α- توكوفيرول المعياريَّة في الغول المطلق بوساطة ميلي ليتر من حمض الآزوت المركَّز؛ بغليها على حمَّام مائي لمدَّة ثلاث دقائق؛ ثمَّ تُعامَل تماماً كما في حالة عيِّنة التجربة، ويُرسَم على المنحني بأخذ تراكيز الفيتامين المتزايدة على محور السينات وشدَّة الامتصاص على محور العينات.

تجري الحسابات انطلاقاً من العلاقة الآتية:

حيث إنَّ :

C: كميَّة الفيتامين E في غرام واحد من المادة المدروسة ؛ مُقدَّرةً بالميلي غرام.

X: كميَّة الفيتامين E التي تمَّ إيجادها على المنحني في ميلي ليتر من المحلول؛ مُقدَّراً بالميكروغرام.

V: الحجم النهائي للمحلول المدروس مع حساب جميع التمديدات؛ مُقدَّراً بالميلي ليتر.

d: كثافة الحليب المدروس.

a: وزن الحليب؛ مُقدَّراً بالغرام.

1000: مُعامِل التحويل من الميكروغرامات إلى ميلي غرامات.

ملاحظة: تُحضَّر المحاليل المعياريَّة بتراكيز مُعيَّنة يختارها الطالب، أو يُحدِّدها له الأستاذ المشرف على جلسة العملي.

تجربة (7-18): التحليل الكمّي للفيتامين K

تعتمد طريقة الكشف الكمّي للفيتامين K على قدرته على ستشكيل مُركَّب مُلوَّن مع إستر ثنائي إيتيل المالونيك في وسط قلوي. تتناسب شدَّة تلوُّن المركب الناتج مع كميَّة الفيتامين K؛ حيث يمكننا مُعايرته كميَّاً بتحضير محاليل معياريَّة وقياس شدَّة اللون.

أ- المواد و الأدوات اللازمة:

مقياس اللون حمَّام مائي، قمع بوخنر بقطر 11 سم، أرلينة للترشيح تحت الفراغ، هاون بورسلان بقطر 11 سم، دورق معياري سعة 10 مل (عدد 2)، ماصَّة مُعايرة (عدد 4)، جزر، بشَّارة جزر، رمل الكوارتز، الإيتر الإيتيلي، كلوروفورم جاف ومُقطَّر حديثاً، كربونات الصوديوم اللامائيَّة، كبريتات الصوديوم اللامائيَّة، محلول الإستر الإيتيلي لحمض المالون (1%) في الإيتانول، محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (1%)، محلول معياري من الفيتامين K ذي التركيز (0.04 ميكروغرام في 1 مل).

ب- الإجراء التجريبي:

اسحقْ حوالى 10- 15 غ (موزونة بدقَّة) من مبشور الجزر في هاون بورسلان مع قليل من رمل الكوارتز وبوجود كميَّة قليلة من كربونات الصوديوم، ثمَّ صُبَّ في الهاون 10 مل من الإيتر الإيتيلي وتابع السحق. انقل المزيج المتجانس إلى قمع بوخنر ورشِّح، ثمَّ اغسل الهاون مرتين بكميَّة قليلة من الإيتر. اجمع كميَّات الرشاحة الإيترية وجفِّفها بواسطة كبريتات الصوديوم اللامائية، ثمَّ بخِّر الإيتر على حمَّام مائي مُسخَّن مُسبقاً وحُلَّ الراسب المتشكِّل في 5 مل من الكلوروفورم الجاف. أضِف إلى المحلول الناتج 1 مل من المحلول

الغولي للإستر الإيتيلي لحمض المالونيك و 0.2 مل من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم؛ ومدَّد الحجم النهائي في الدورق المعياري حتى 10 مل. تجري في الوقت نفسه مُعالجة المحاليل المعياريَّة للفيتامين K، ويتمُّ قياس شدَّة اللون في جميع هذه العيِّنات بوساطة مقياس اللون عند طول الموجة 425 نانومتر.

تُحسَب كميَّة الفيتامين K من العلاقة الآتية:

حيث إنَّ:

C : كميَّة الفيتامين K مُقدَّرةً بالميكروغرام %.

a : كتلة المادة المدروسة مُقدَّرةً بالغرام.

E1: شدَّة الامتصاص في العيِّنة المدروسة.

E2 : شدَّة الامتصاص في المحلول المعياري.

7-4- الكشف الكيفي عن الفيتامينات المنحلَّة في الماء

7-4-1- الفيتامين B

ينتمي إلى مجموعة الفيتامينات B عددٌ من الفيتامينات المنحلَّة في الماء أهمُّها:

1- الثيامين أو الفيتامين B_1 وهو المادة المضادة للمرض المعروف بـ (Beri-beri)؛ أي الهزال الرزي؛ كما أنَّه مُضاد التهاب الأعصاب.

2- الريبوفلافين أو الفيتامين B_2، يدخل في تركيب الأنزيمات الفلافونيَّة.

3- البيريدوكسين أو الفيتامين B_6 ويدخل في تركيب الأنزيمات البيريدوكساليَّة.

4- النياسين أو حمض النيكوتين أو الفيتامين B_3 و يُسمَّى عامل غولدبيرغير (Goldberger Factor).

5- حمض البانتوتينيك.

6- حمض الليبوئيك (Lipoic Acid)؛ الذي هو مُشتق ثنائي الكبريت لحمض التيوأوكتانيك.

7- مجموعة حمض الفوليك.

8- الإينوزيتول (Inositol).

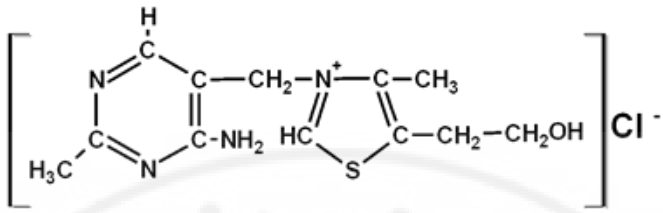
9- حمض بارا- أمينوبنزويك.

10- السيانوكوبالامين أو الفيتامين B_{12}

تُسهِم هذه المجموعة من الفيتامينات على نطاق واسع في تشكيل الكوأنزيمات (Coenzymes) ذات الدور الهام في تفاعلات الاستقلاب ضمن الكائن الحي. يتأثَّر عمل كلٍّ منها بوجود الفيتامينات الأخرى؛ ولهذا فهي تُباع في الأسواق على شكل مزيج (B-Complex). سندرس فيما يلي خواصَّ بعض فيتامينات هذه المجموعة مع طرائق الكشف عنها.

7-4-1-1- التيامين أو الفيتامين B_1 (Thiamine)

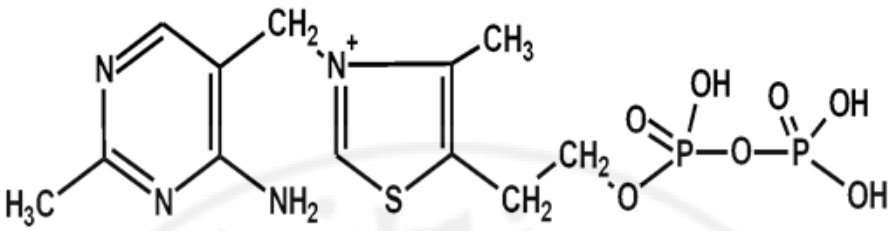
تمَّ اكتشاف هذا الفيتامين من قبل العالم البولندي فونك (Funk) الذي قام بفصله ودراسته عام 1912م. يوضِّح الشكل (7-2) البنية الكيميائيَّة لهذا الفيتامين، والذي سُمي التيامين نظراً لاحتوائه إضافةً إلى المجموعة الأمينيَّة على ذرة كبريت. يُوجد الفيتامين B_1 على شكل ملح أمونيوم رابعي (كلوريد التيامين) في الوسط الحمضي؛ أمَّا في الوسط المعتدل أو القلوي فتأخذ بنيته الشكل التيولي.



الشكل (7-2) البنية الكيميائيَّة للفيتامين B_1

يُعَدُّ الفيتامين B_1 أول فيتامين بلوري أُمكِن الحصول عليه في المخبر؛ وهو كناية عن بلورات صغيرة عديمة اللون ذوَّابة في الماء وذات طعم مُرّ. تكون المحاليل الحمضيَّة للفيتامين B_1 ثابتة؛ وتتحمَّل التسخين لدرجة مرتفعة ويتحلَّل بسرعة في الأوساط المعتدلة والقلويَّة، مُتحوِّلاً عند أكسدته إلى التيوكروم؛ وهو مُركَّبٌ أزرق زاهٍ له خاصيَّة الفَلْوَرَة في الأشعَّة فوق البنفسجيَّة. تتلخَّص آليَّة عمل الفيتامين B_1 في أنَّ مُشتقَّه الفوسفاتي والمسمَّى تيامين بيروفوسفات TPP. يدخل في بنية الأنزيمات التي تنشِّط تفاعل الكربوكسيل التأكسدي من الحموض α- كيتونيَّة؛ خصوصاً حمض البيروفيك؛ وذلك بمساهمة خمسة من الكوأنزيمات التي تضمُّ في بنيتها خمسة فيتامينات هي:

اسم الكوأنزيم	اسم الفيتامين الحاوي عليه
TPPالتيامين بيروفوسفات	B_1 (التيامين)
LA حمض الليبوئيك	حمض الليبوئيك
CoA—SH الكوأنزيم–A	البانتين
FADريبوفلافين–أدينين ثنائي النوكليوتيد	B_2 (الريبوفلافين)
NAD نيكوتين أميد–أدينين ثنائي النوكليوتيد	B_3(النياسين)

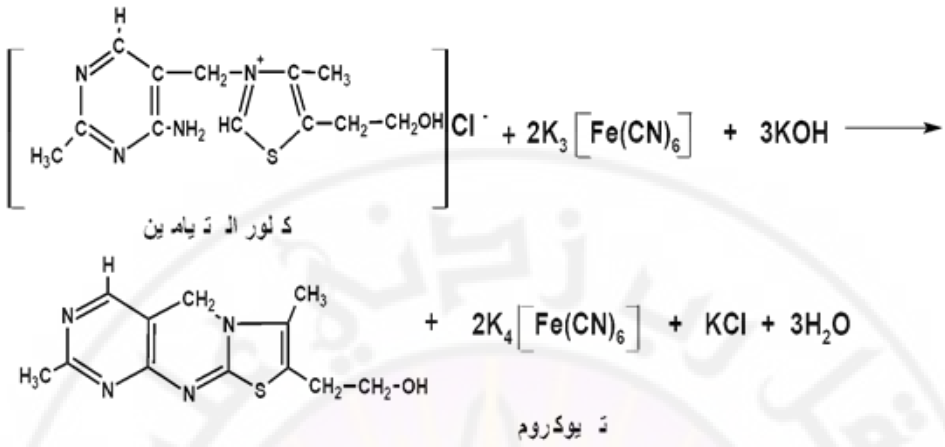


الشكل (7-3) التيامين بيروفوسفات TPP

ينتشر الفيتامين B_1 في الأغذية ذات المنشأ النباتي؛ مثل الرز غير المقشور، الطحين الحاوي على الطبقة الخارجية لحبِّ القمح والحمُّص. كما يُوجَد بكميَّات كبيرة في خميرة البيرة وفي الكبد والكليتين وفي داخل العضلات والدماغ. يتمُّ امتصاص التيامين عن طريق الأمعاء، وقد تبيَّن أنَّ التيامين يمكن أن يكون عاملاً مُساعداً في العلاج من المرض المسمَّى الهزال الرزي (Beri-beri) وفي العلاج من مرض التهاب الأعصاب الكحولي (Alcoholic Neuritis) والتهاب الأعصاب الحملي (Pregancy Neuritis) والبيلاغرا (Pellagra) التي تُسبِّب خشونة الجلد. لا يُختزَن الفيتامين B_1 في الجسم، إذ إنَّ أيَّة زيادة في تناوله تؤدِّي إلى زيادة طرحه مع البول؛ وبالتالي ليس هناك من خطورة التسمُّم بهذا الفيتامين.

تجربة (7-19): الكشف الكيفي عن الفيتامين B_1 عن طريق أكسدته

يتمُّ الكشف عن الفيتامين B_1 بالطرائق الكيميائيَّة والبيولوجيَّة. تعتمد الطرائق الكيميائيَّة على تحوُّل التيامين إلى مُركَّب يتألَّق (Fluorescence) تحت تأثير الأشعَّة فوق البنفسجيَّة عن طريق أكسدة وتشكيل التيوكروم تبعاً للمعادلة الآتية:



كلور الثيامين

ثيوكروم

يمكن تقدير الفيتامين B_1 كميّاً بوساطة استخدام جهاز قياس التفلور الضوئي **(Photofluorimeter)**.

أ- المواد والأدوات اللازمة:

محلول التيامين (20 مغ/مل)، حديد سيانيد البوتاسيوم **$K_3[Fe(CN)_6]$ (5%)**، بوتانول نظامي، إيتانول مُطلق (96%)، هيدروكسيد الصوديوم (2N)، حمَّام مائي، جهاز الأشعَّة فوق البنفسجيَّة.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار نظيف 5 مل من محلول التيامين المخضَّر مُسبقاً (كلور التيامين)، وأضِف إليها 2 مل من هيدروكسيد الصوديوم (2N)، وعدَّة قطرات من محلول حديد سيانيد البوتاسيوم (5%) المخضَّرطازجاً. أضف بعد ذلك إلى محتوى الأنبوب 5 مل من البوتانول النظامي، ورُجَّ الأنبوب عدَّة مرات خلال دقيقتين إلى ثلاث دقائق.

أجرِ في الوقت نفسه التجربة الخالية (أي دون إضافة محلول التيامين)، ولاحظ بعد فترة تشكُّل طبقتين إحداهما طبقة البوتانول النظامي التي يجب أن تُفصَل بهدوء وحذر، وتُنقَل

إلى أنبوب اختبار ثانٍ نظيف؛ وكذلك الأمر نفسه بخصوص التجربة الخالية. في حال كون محلول البوتانول النظامي غير نقي أضف إلى محتوى الأنبوب 1 مل من الغول الإيتيلي ليصبح نقياً، ثمَّ ضعْه تحت مصباح الأشعَّة فوق البنفسجيَّة، وضعْ مُستخلَص البوتانول النظامي الناتج عن التجربة الخالية، ولاحظ الفرق بينهما؛ حيث إنَّه يجب أن يظهر معك تحت مصباح الأشعَّة فوق البنفسجيَّة ضوء متألِّق أزرق نتيجةً لتشكُّل مُركَّب التيوكروم الناتج عن أكسدة التيامين.

تجربة (7-20): الكشف الكيفي عن الفيتامين B_1، التفاعل مع أملاح البيزموت

يتفاعل الفيتامين B_1 مع أملاح البيزموت، مُشكِّلاً مُعقَّدات أو رواسب مُلوَّنة.

أ- المواد اللازمة:

محلول التيامين (1مغ/مل)، كاشف البيزموت.

ب- الإجراء التجريبي:

* تحضيركاشف البيزموت:

يُذاب 2 غ من نترات البيزموت $Bi(NO_3)_3$ في 500 مل من يود البوتاسيوم (5%). اترك الكاشف بضع ساعات، ثمَّ رشِّح المحلول قبل الاستخدام. أضِف حوالى 2 مل من محلول التيامين (1مغ/مل) إلى 10 مل من كاشف البيزموت في يوديد البوتاسيوم؛ ولاحظ تشكُّل الراسب الملوَّن الذي يدلُّ على وجود حلقة التيازول.

تجربة (7-21): الكشف عن الفيتامين B_1؛ التفاعل مع كاشف ديازو

يعتمد هذا التفاعل على أنَّ التيامين يُشكِّل في الوسط القلوي مع كاشف ديازو مُركَّبات مُعقَّدة مُلوَّنة.

أ- المواد اللازمة:

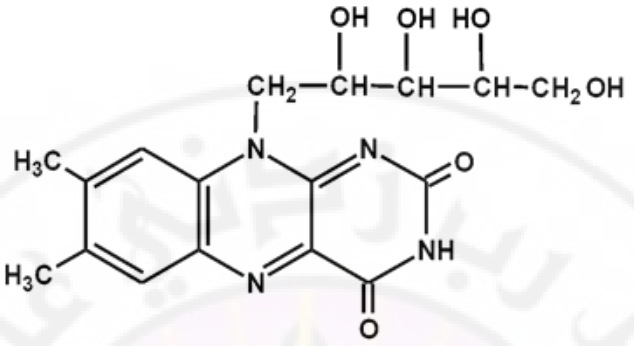
كاشف ديازو، مسحوق التيامين (يُؤخَذ بوساطة قضيب زجاجي أو بواسطة المِلوق أو Spatula)، محلول ثنائي كربونات الصوديوم (10%).

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار كاشف ديازو المكوَّن من 5 قطرات من حمض السلفانيك (1%)، و 5 قطرات من محلول نتريت الصوديوم (5%)؛ وأضِف إليها كميَّة قليلة من بودرة التيامين، ثمَّ أضِف بعد ذلك وبحذر على جدران الأنبوب 5-7 قطرات من محلول ثنائي كربونات الصوديوم (10%). لاحظْ ظهور حلقة ذات لون برتقالي على السطح الفاصل بين الطبقتين. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

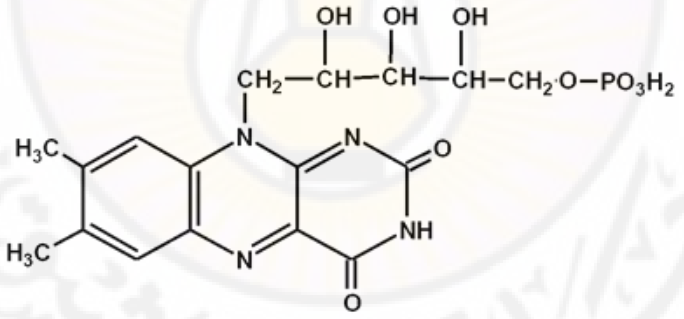
7-4-1-2- الريبوفلافين (الفيتامين B_2)

تمَّ فصل الريبوفلافين بالشكل النقي في عام 1932. يتكوَّن هذا الفيتامين من بنية حلقيَّة غير مُتجانسة تُسمَّى إيزواللوكسازين (Isoalloxazine)، يتَّصل معها جذر رباعي الهيدروكسيل، ويتألَّف من خمس ذرات كربون يُدعَى الريبيتول (الشكل 7-8). يدخل الريبوفلافين في بنية الأنزيمات الريبوفلافينيَّة (Flavoenzymes)، أو البروتينات الفلافينيَّة (Flavoproteins) التي تُنشِّط تفاعلات الأكسدة والإرجاع من خلال نقل الإلكترونات بين المركَّبات الحيوية؛ وهو يُسهِم بدوره بأحد شكلين، أولهما عند ارتباطه مع الفوسفات مُشكِّلاً كوأنزيم الريبوفلافين أحادي النوكليوتيد، ويُرمز له بـ FMN (الشكل7-9)، وثانيهما عندما يرتبط FMN مع الأدينوزين أحادي الفوسفات؛ ليشكِّل كوأنزيم الريبوفلافين- أدينين- ثنائي النوكليوتيد ويُرمَز له بالرمز: FAD (الشكل 7-4).



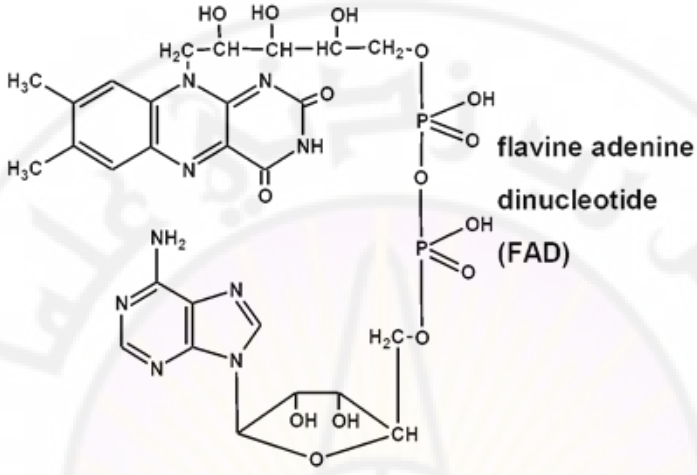
حلقة إيزوالوكساريين

الشكل (7-4): البنية الكيميائيَّة للريبوفلافين



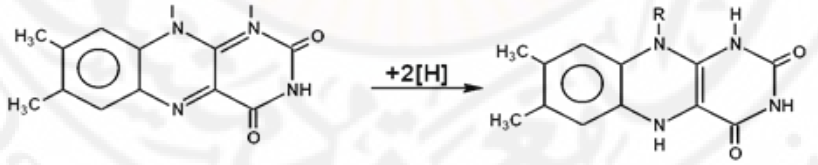
(FMN) flavine mononcleotide

الشكل (7-5): الريبوفلافين أحادي النوكليوتيد FMN



الشكل (7-6): الريبوفلافين ثنائي النوكليوتيد FAD

تُمثِّل قابليَّة الريبوفلافين للتأكسد والإرجاع بسهولة أهميَّة خاصَّة؛ إذ تُعَدُّ هذه الخاصَّية أساس الفعل البيولوجي لهذا الفيتامين؛ حيث تنضمُّ ذرتا الهيدروجين المنتزعتان في أثناء تأكسده إلى ذرتي الآزوت في جزيئة الإيزوالوكسازين لتتشكَّل الحالة المرجعة للريبوفلافين؛ والتي يُرمَز لها أثناء التفاعلات الأنزيميَّة بـ $FMNH_2$ أو $FADH_2$ تبعاً للمعادلة الآتية:



الشكل المرجع للريبوفلافين عديم اللون

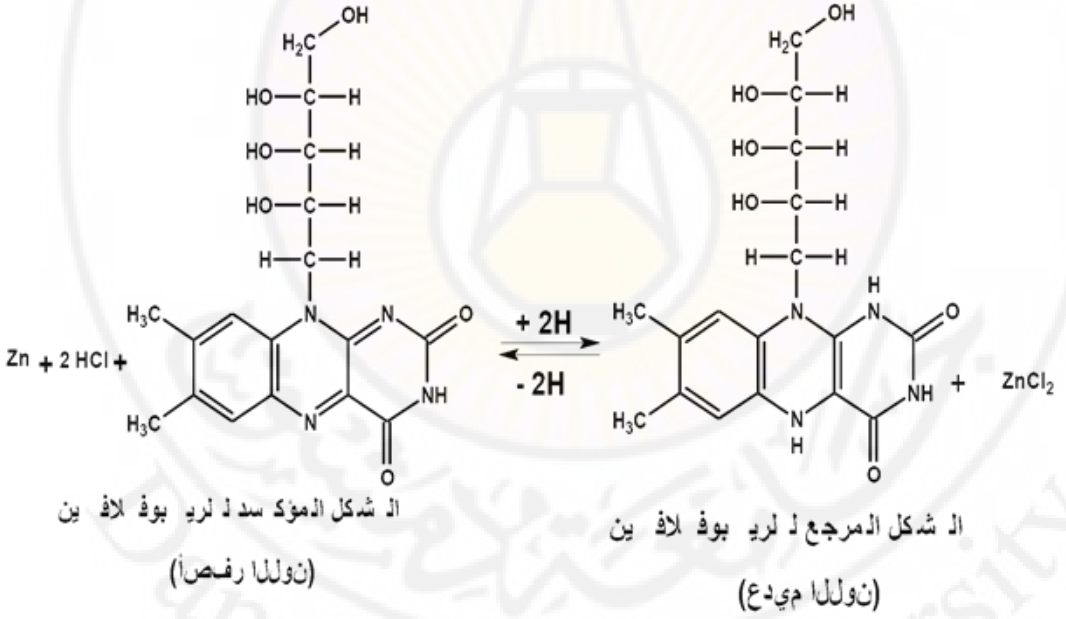
الشكل المؤكسد للريبوفلافين في الورقة الخضراء

يمكن اصطناع الريبوفلافين من قبل جميع النباتات وعدد من الكائنات الدقيقة (المجهرية)، ولكن لا يمكن اصطناعه من قبل الإنسان. تُعَدُّ النباتات الخضراء من المصادر الأوليَّة لهذا الفيتامين؛ كما يُوجَد في جنين الحبوب واللحم والكبد والكليتين والحليب وفي بعض

الخمائر. يؤدّي نقص الفيتامين B_2 إلى ظهور أعراض مرضيَّة تتجلَّى عند الإنسان على صورة توقُّف النمو وسقوط الشعر وإصابة الأغشية المخاطيَّة، والتهاب الشفتين وتشقُّقهما في زوايا الفم والتهاب اللسان والإرهاق السريع للبصر، وانخفاض القدرة على العمل واختلال الاصطناع الحيوي للهيموغلوبين (خضاب الدم) ونشوء تغيُّرات مرضية في الجهاز العصبي وغير ذلك؛ علماً بأنَّ هذه الأعراض تزول بعد تناوله مع الفيتامينات الأخرى.

تجربة (7-22): الكشف الكيفي عن الفيتامين B_2، التفاعل مع تيوكبريتات الصوديوم

يعتمد تفاعل الكشف عن الفيتامين B_2 على إرجاعه، وتغيُّر لون المحلول من أصفر مُخضَرّ إلى عديم اللون وفق المعادلة الآتية:



أ- المواد اللازمة:

ريبوفلافين (الفيتامين B_2)، تيوكبريتات الصوديوم ($Na_2S_2O_3$).

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ عدَّة بلورات من الريبوفلافين في أنبوب اختبار نظيف، وأضِف إليها 10 مل من الماء المقطَّر حتى الانحلال، ثمَّ أضف بعد ذلك عدَّة بلورات من تيوكبريتات الصوديوم $Na_2S_2O_3$، ورُجَّ الأنبوب حتى ظهور اللون الأَصفر المخضَرّ الذي يتألَّق تحت مصباح الأشعَّة فوق البنفسجيَّة. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (6-23): الكشف عن الفيتامين B_2، التفاعل مع حمض كلور الماء والزنك المعدني

يعتمد هذا التفاعل على تفاعل الزنك مع حمض كلور الماء وانطلاق الهيدروجين الذي يقوم بإرجاع الفيتامين B_2 وتحويله من اللون الأصفر المخضَرّ (الشكل المؤكسَد) إلى لون وردي خفيف (مُركَّب انتقالي) فعديم اللون (الشكل المُرجَع).

أ- المواد والأدوات اللازمة:

حمض كلور الماء المركَّز، زنك معدني (مسحوق أو قطع) محلول الفيتامين، أنابيب اختبار.

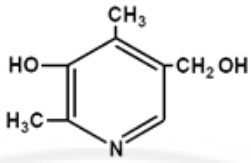
ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار نظيف عشر قطرات من محلول التيامين (0.25%)، وأضِف إليها خمس قطرات محلول حمض كلور الماء المركَّز وقطعة من الزنك المعدني. لاحظْ تحرُّر فقاعات الهيدروجين وتلوُّن السائل تدريجياً باللون الوردي، ثمَّ اختفاء اللون.

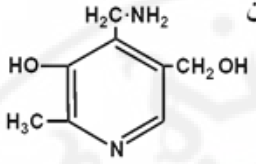
7-4-1-3- البيريدوكسين أو الفيتامين B_6

البيريدوكسيدين هو كناية عن بلورات عديمة اللون ذات طعم مُرّ، وتذوب جيِّداً في الماء والغول.تكون محاليل البيريدوكسين ثابتة عند تسخينها مع الحموض والأسس؛ ولكنَّها تفقد فعاليَّتها الحيويَّة تحت تأثير الضوء.

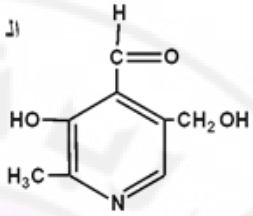
يُعَدُّ البيريدوكسين أساساً لمجموعة من المشتقَّات البيريدوكسينيَّة التي تلعب دور الكوأنزيم في التفاعلات الحيويَّة (انظر الشكل 7-7).



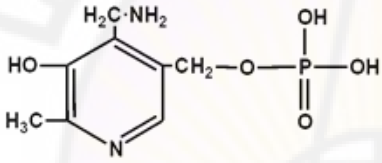
الـ بـ يريـ دوكـ سـ ين



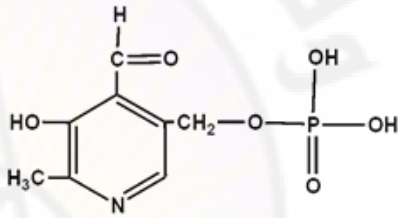
الـ بـ يريـ دوكـ سامـ ين



الـ بـ يريـ دوكـ سال



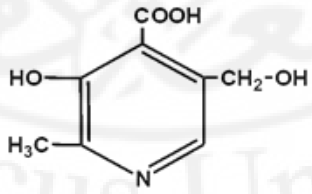
الـ بـ يريـ دوكـ سامـ ين فـ و سـ فات



الـ بـ يريـ دوكـ سال فـ و سـ فات

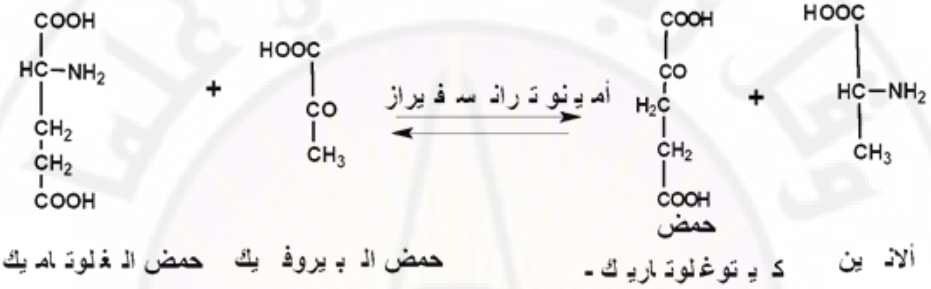
الشكل (7-7): البيرودكسين ومُشتقَّاته

إنّ المستقلَب الرئيسي (Metabolite) للفيتامين B_6 ولكلّ مُشتقَّاته المستهلكَة مع الغذاء، والتي تُطرَح مع البول هو حمض هيدروكسي ميتيل البيريدين.



الشكل (7-8): حمض 4- بيريدوكسيك

يُسهِم الفيتامين B_6 بوظيفته الحيويَّة على شكل مُشتقَّات للبيريدوكسال أو البيريدوكسامين؛ ويحصل ذلك في الأنزيمات البيريدوكساليَّة التي تقوم بنقل الزمرة الأمينيَّة بين الحموض ألفا- كيتونيَّة وألفا- أمينيَّة، إضافةً إلى وظائف أخرى. نعرض فيما يلي المثال الآتي على تفاعل الزمرة الأمينيَّة:



إنَّ لهذا التفاعل أهميَّة خاصَّة؛ حيث إنَّه يحتلُّ المكان المركزي في تحوُّلات الحموض الأمينية، ويضمن الاحتياطي اللازم في اصطناع البروتينات في الجسم. يؤدِّي نقص البيريدوكسين إلى اختلال شديد في استقلاب البروتينات؛ كما يؤدِّي إلى فقر دم شديد وظهور أنواع مختلفة من الالتهابات الجلدية؛ إضافةً إلى اعتلال عصبي أو التهابات عصبيَّة وتوقُّف نموِّ الحيوانات الصغيرة. تزول هذه الأعراض بتناول الفيتامين B_6. إنَّ المصادر الأساسيَّة للفيتامين B_6 هي اللحم البقري، الأسماك، الحمُّص، صفار البيض، الأجزاء الخضراء من النباتات، الذرة، الحليب، الكبد وبعض الخمائر؛ إضافةً إلى أنَّ الجراثيم المعويَّة قادرة على تركيب هذا الفيتامين، ما يُؤمِّن جزءاً من احتياجات الجسم.

تجربة (7-24): الكشف عن الفيتامين B_6، التفاعل مع كلوريد الحديد

يتفاعل محلول كلوريد الحديد مع الفيتامين B_6 (البيريدوكسين)، ويتشكَّل نتيجة ذلك مُركَّب ذو لونٍ أحمر.

أ- المواد اللازمة:

محلول الفيتامين B_6 (3%)، محلول كلوريد الحديد (3%).

ب- الإجراء التجريبي:

ضع في أنبوب اختبار نحو 0.5 مل من محلول الفيتامين B_6 (3%)، و أضف إليها كميَّة مُساوية لها من محلول كلوريد الحديد (3%). رُجَّ الأنبوب من أجل مزج المحلولين، ولاحظ تشكُّل تلوُّن أحمر. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

7-4-1-4- النياسين أو الفيتامين B_3 أو P.P

تجدر الإشارة إلى أنَّ كلمة النياسين أو الفيتامين B_3 أو P.P مُشتقَّة من كلٍّ من الكلمتين الإنكليزيَّتين (Pellagra Preventive)؛ اللتين تعنيان تجنُّب الإصابة بخشونة الجلد. يُوجَد الفيتامين B_3 على شكل حمض النيكوتين وأميده (النيكوتين أميد)؛ وهما مُركَّبان ثابتان. يحتوي الجسم عادةً على الشكل الأميدي الذي يدخل في بنية NAD و NADP اللذين يتمتَّعان بحركيَّة استقلاب عالية؛ حيث يتفكَّكان ويُصنعان بسرعة كبيرة. ينتشر النياسين انتشاراً واسعاً في النباتات والحيوانات؛ إذ إنَّ البروتينات الحاوية على التربتوفان، كاللحوم والأطعمة التي تحتوي على حمض النيكوتين والحليب والحبوب والخضار ذات الأوراق، تُعَدُّ من المصادر الأساسيَّة لهذا الفيتامين؛ كما أنَّ القمح والكبد والكلى الحيوانية والبطاطا تُعَدُّ من المصادر المهمَّة أيضاً لهذا الفيتامين بالنسبة للإنسان الذي يحتاج إلى نحو 20 مغ منه يومياً.

تجربة (7-25): الكشف الكيفي عن النياسين (الفيتامينB_3)

أ- المواد اللازمة:

محلول كربونات الصوديوم Na_2CO_3 (10%)، تيوكبريتات الصوديوم $Na_2S_2O_3$ (5%) مُحضَّر حديثاً، مسحوق من الفيتامين B_3.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار 100 مغ من مسحوق الفيتامين B_3 وأضِف إليها حوالي 1.5 مل من محلول كربونات الصوديوم (10%) وامزجْها جيِّداً، ثمَّ أضف حوالي 1.5 مل من محلول تيوكبريتات الصوديوم (5%)؛ ولاحظْ تشكُّل اللون الأصفر.

تجربة (7-26): الكشف الكيفي عن حمض النيكوتين؛ التفاعل مع خلات النحاس

أ- المواد اللازمة:

محلول حمض النيكوتين (1%)، محلول حمض الخل (20%)، محلول خلات النحاس (5%).

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار 2 مل من محلول حمض النيكوتين (1%)، وأضِف إليها 1 مل من محلول حمض الخل (20%). سخِّن المزيج حتى الغليان، وأضِف بعد ذلك نحو 2 مل من محلول خلات النحاس (5%)، ولاحظ ظهور عكر أزرق في الأنبوب؛ يليه تساقط راسب من نيكوتينات النحاس ذات اللون الأزرق.

تجربة (7-27): الكشف الكيفي عن حمض النيكوتين؛ التفاعل مع خلات الصوديوم اللامائيَّة

يتفاعل حمض النيكوتين مع خلات الصوديوم اللامائيَّة بالتسخين، وتنطلق نتيجة ذلك رائحة كريهة هي رائحة البيريدين.

أ- المواد و الأدوات اللازمة:

جفنة خزفيَّة، قضيب زجاجي أو مِلوق (Spatula)، مصباح بنزن، مسحوق النيكوتين، خلات الصوديوم اللامائيَّة CH_3COONa.

ب- الإجراء التجريبي:

زِنْ 50 مغ من مسحوق النيكوتين وضعْها في جفنة خزفيَّة نظيفة، وأضف إليها 100 مغ من خلات الصوديوم اللامائيَّة، وسخِّن الجفنة على مصباح بنزن. لاحظْ انطلاق رائحة كريهة خاصَّة بالبيريدين. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (7-28): تفريق حمض النيكوتين عن النيكوتين أميد

ينطلق غاز النشادر عند تسخين النيكوتين أميد في محلول هيدروكسيد الصوديوم؛ وبذلك يمكن التفريق بين حمض النيكوتين والنيكوتين أميد.

أ-المواد اللازمة:

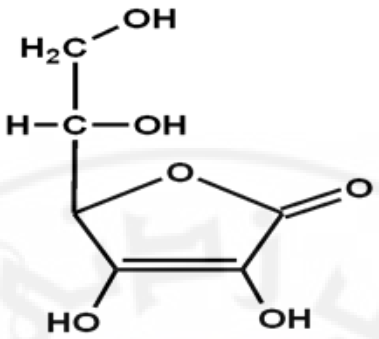
مسحوق النيكوتين أميد، حمض النيكوتين، محلول هيدروكسيد الصوديوم (40%).

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار كميَّة قليلة من مسحوق النيكوتين أميد؛ وأضِف إليها 2 مل من الماء المقطَّر و 1 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم (40%)، وسخِّن الأنبوب لمدَّة خمس دقائق في حمام مائي. لاحظ انطلاق غاز النشادر الذي تستطيع تمييزه برائحته أو عن طريق استخدام ورقة عباد الشمس الرطبة؛ حيث ينقلب لونها من الأحمر إلى الأزرق. أعِد التجربة مُستخدِماً حمض النيكوتين هذه المرَّة بدلاً من النيكوتين أميد، ولاحظ عدم انطلاق غاز النشادر. سجِّل ذلك في دفتر العملي.

7-4-2- حمض الأسكوربيك أو الفيتامين C

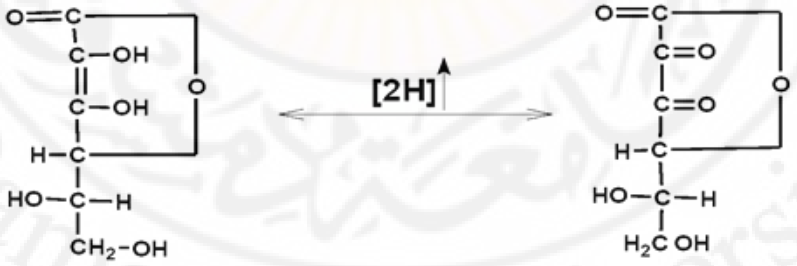
تشبه البنية الكيميائيَّة لحمض الأسكوربيك بنية السكريَّات الأحاديَّة. يُبيِّن الشكل (7-14) صيغة حمض الأسكوربيك



الشكل (7-14): صيغة حمض الأسكوربيك

ينحلُّ الفيتامين C في الماء بصورة جيِّدة ويشكِّل محلولاً حمضياً، ويتأكسد بسهولة بصورة عكوسة فاقداً ذرتيْ هيدروجين، ومُتحوِّلاً إلى حمض الأسكوربيك منزوع الهيدروجين؛ علماً أنَّ كلتا الصيغتين فعَّالة فيزيولوجيَّاً وتمتلك فعاليَّة الفيتامين؛ حيث تشترك في هذا الفعل الفيزيولوجي الزمرة الإنديوليَّة (Endiol Group) لحمض الأسكوربيك، ويُستفاد من الخواص الإرجاعيَّة لحمض الأسكوربيك في التقدير الكيميائي لهذا المركَّب.

توضِّح المعادلة الآتية أكسدة الفيتامين C.



يستطيع الفيتامين C مُقاومة التجمُّد؛ إلاَّ أنه يتفكَّك بسرعة كبيرة تحت تأثير المؤكسِدات في الأوساط المعتدلة أو القلوية، بالتسخين أو بوجود آثار من أملاح المعادن الثقيلة (Fe^{3+},Cu^{2+})؛ ولهذا السبب تضيع نسبة كبيرة منه أثناء طبخ الطعام، أو حفظ وتعليب

الخضار والفواكه. يؤدّي نقص الفيتامين C إلى ما يُسمَّى مرض الأسقربوط؛ ويظهر هذا المرض على صورة زيادة نفاذيَّة وهشاشة الأوعية؛ الأمر الذي ينجم منه حدوث نزيف دموي تلقائي، إضافةً إلى حدوث تغيُّرات ملحوظة في العظام والأسنان (نزف لثوي وتأخُّر في شفاء الجروح وخلل في تكوين العظام وسرعة قابليَّتها للكسر إلى جانب نزوف نخريَّة)؛ وبذلك فإنَّ تقديم هذا الفيتامين في الأغذية يُخفِّف هذه الأعراض المرضية.

تُعَدُّ الحمضيَّات، التوت، البندورة، الفليفلة الخضراء، الملفوف النيء، الخضار ذات الأوراق والبطيخ من المصادر الرئيسيَّة للفيتامين C.

7-4-2-1- الكشف الكيفي عن الفيتامين C

تجربة (7-29): الكشف عن الفيتامين C اعتماداً على خواصه الإرجاعيَّة

يعتمد الكشف عن الفيتامين C على الخواص الإرجاعيَّة القوية له؛ حيث يُرجِع أكاسيد المعادن العليا إلى الأكاسيد الأدنى، ويحدث هذا في الأوساط القلوية، فعلى سبيل المثال يمكن له أن يُرجِع أملاح النحاس و الزئبق والذهب إلى المعادن الحرَّة. تضعف الصفات المرجعة في الأوساط الحمضيَّة، إذ إنَّ حمض الأسكوربيك يكون أكثر ثباتاً في مثل هذه الأوساط. يُستفاد من هذا التفاعل في عمليَّة الكشف عن وجود الفيتامين C في المواد الغذائيَّة. يعطي الفيتامين C تفاعلاً إيجابيَّاً مع أغلب كواشف السكريَّات (تفاعل موليش، تفاعل فهلنغ، تفاعل تولانز.. إلخ)؛ إضافةً إلى التفاعلات الخاصة المميِّزة لهذا الفيتامين.

أ- المواد اللازمة:

حمض الأسكوربيك (1%) أو عصير البرتقال، محلول نترات الفضة (1%)، حمض الخلّ (2N)، محلول مائي من مُركَّب 2، 6- ثنائي كلورو فينول أندوفينول (4 مغ في 100

مل ماء)، محلول حديد سيانيد البوتاسيوم (1%)، محلول كلوريد الحديد (1%)، بيكربونات الصوديوم، كاشف كولة (انظر الفصل الخاص بالسكريّات).

ب- الإجراء التجريبي:

1- إرجاع النحاس من Cu^{+2} إلى Cu^{+1}:

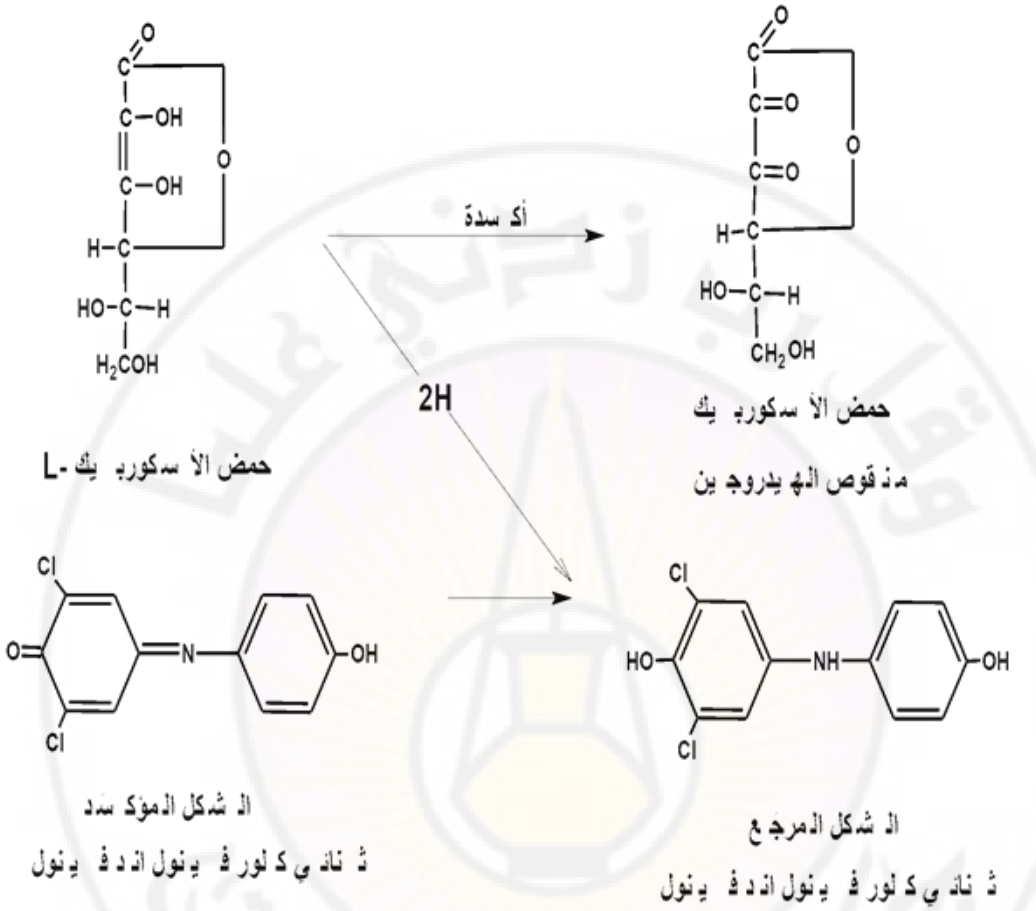
ضعْ بضع ميلي غرامات من حمض الأسكوربيك (أو 5 مل من عصير البرتقال) و 3 مل من الماء في أنبوب اختبار؛ وأضِف إليها 2 مل من كاشف كولة، ولاحظْ مباشرةً وبدون التسخين تشكُّل راسب أصفر مُحمَرّ من هيدروكسيد النحاسي Cu(OH).

2- إرجاع الفضة من الشكل الشاردي إلى معدن الفضَّة:

ضعْ في أنبوب اختبار 3 مل من محلول حمض الأسكوربيك (1%)، وأضِف إلى ذلك 3-5 قطرات من حمض الخلّ، ثمَّ أضِف بعد ذلك 1 مل من محلول نترات الفضَّة ذي التركيز (1%)؛ وتبعاً لتركيز حمض الأسكوربيك ونظافة أنبوب الاختبار يتشكَّل مُعلَّق الفضة المرجَع ذو اللون المحمَرّ؛ أو يترسَّب بلون بني غامق حتى الأسود، أو يمكن أن تتشكَّل مرآة فضية على جدران الأنبوب.

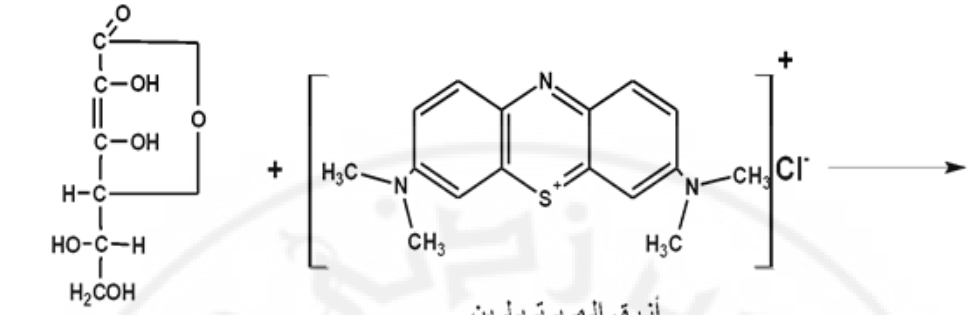
3- إرجاع مُركَّب 2، 6 ثنائي كلورو فينول- أندوفينول ذي اللون الأزرق إلى الشكل عديم اللون (Leuco Base):

خذْ أنبوبيْ اختبار وضعْ في كلٍّ منهما 3 مل من محلول مُركَّب ثنائي كلورو فينول- أندوفينول المحضَّر مُسبقاً، وأضِف إلى الأنبوب الأول عدَّة قطرات من حمض الخل وإلى الأنبوب الثاني عدَّة بلورات من البيكربونات. أضِف بعد ذلك إلى مُحتوى كلّ أنبوب عدَّة قطرات من محلول حمض الأسكوربيك (1%)، ولاحظ مباشرةً اختفاء الألوان في الأنبوبين؛ دلالةً على تكوُّن الشكل المرجَع (Reduced) لمركَّب ثنائي كلورو فينول أندوفينول (Leuco Form) وفق المعادلة الآتية:



4- إرجاع أزرق الميتيلين:

ضعْ في أنبوب اختبار 2 مل من حمض الأسكوربيك أو عصير البطاطا، وأضِف إليها ثلاث قطرات من محلول أزرق الميتيلين (0.01%)، وثلاث قطرات من محلول الصود الكاوي (5%). لاحظْ زوال لون أزرق الميتيلين والذي يدلُّ على إرجاعه بوساطة الفيتامين C.

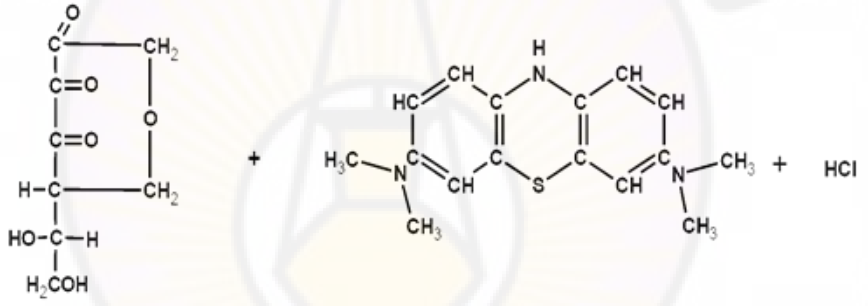


حمض الأسكوربيك

الشكل المرجع

أزرق المثيلين

(قارن)



حمض الأسكوربيك متزوع الهيدروجين

(ديهيدروأسكوربيك)

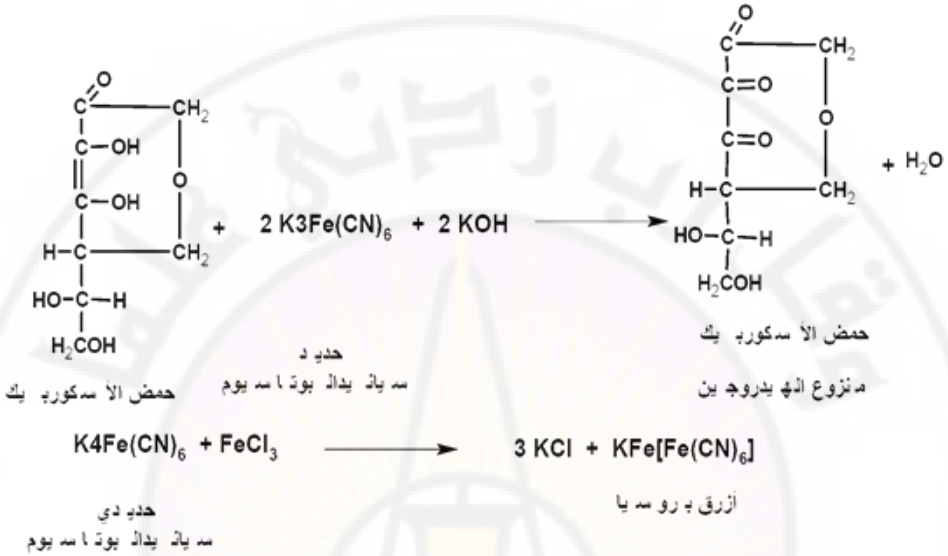
لوكو أزرق المثيلين

(نوللا هيدع)

5- إرجاع حديد سيانيد البوتاسيوم Potassium Ferricyanide (FeIII)

ضعْ في أنبوب اختبار 2 مل من عصير البطاطا أو الملفوف الطازج، وأضِف إليها أربع قطرات من محلول الصود الكاوي (5%)؛ ثمَّ أضف أربع قطرات أيضاً من محلول حديد سيانيد البوتاسيوم $K_3Fe(CN)_6$ (5%) ورُجَّ أنبوب الاختبار جيداً. أضِف بعد ذلك حوالى عشر قطرات من محلول حمض كلور الماء (10%)؛ وأربع قطرات من محلول كلوريد الحديد (1%)، ولاحظْ تشكُّل راسب أزرق بروسيا الذي يدلُّ على وجود حمض

الأسكوربيك في عيِّنة العصير المدروسة. أعِد التجربة مُستخدِماً ماءً مُقطَّراً بدلاً من الفيتامين C (التجربة الخالية)، وقارنْ بين النتيجتين. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.



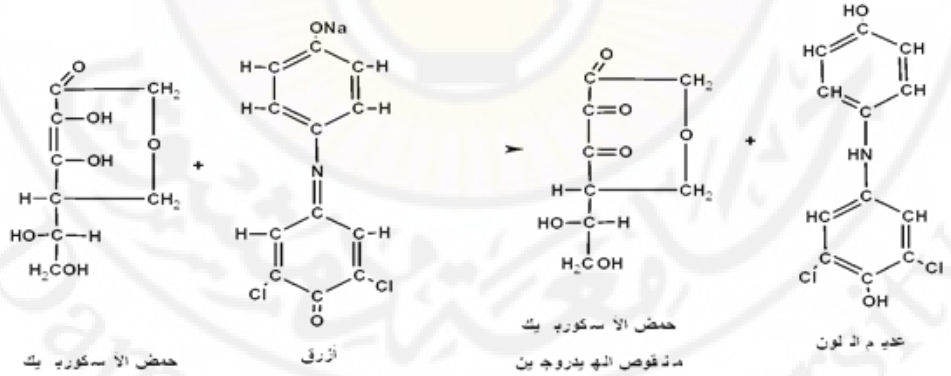
7-4-2-2- التحليل الكمّي للفيتامين C

تُوجَد طرائق متنوِّعة للتحليل الكمي للفيتامين C وأغلبها يستند إلى القدرة الإرجاعيَّة القويَّة لهذا الفيتامين. من هذه الطرائق طريقة المعايرة بواسطة محلول اليود المستخدَمة فقط في حال وجود محلول نقي من حمض الأسكوربيك. وكذلك طريقة المعايرة بواسطة 2، 6 – ثنائي كلوروفينول أندوفينول الذي يعمل على أكسدة حمض الأسكوربيك منزوع الهيدروجين؛ أمَّا هو فيتحوَّل إلى الشكل المرجَع، وطريقة المعايرة بوساطة محلول أزرق الميتيلين. إضافةً إلى ذلك تُستخدَم الطرائق الكيميائيَّة الفيزيائيَّة؛ مثل التحليل الضوئي اللوني والكروماتوغرافيا.

يعتمد التحليل الضوئي اللوني على تقدير كميَّة الفيتامين C الموجودة في العيِّنة المدروسة من خلال قياس شدَّة اللون الناتج بعد التفاعل المعني؛ في حين تُستخدَم الكروماتوغرافيا الظواهر الفيزيائيَّة؛ كالامتزاز (الادمصاص) لفصل الفيتامين، ثمَّ تحديد نسبته كميَّاً.

تجربة (7-30): تقدير الفيتامين C بوساطة كاشف 2، 6- ثنائي كلوروفينول أندوفينول

يمكن للمُركَّب الصبغي 2، 6- ثنائي كلوروفينول أندوفينول أن يُرجَع بكميَّة مُكافئة من حمض الأسكوربيك في وسط حمضي؛ مُعطياً الشكل المرجَع للمركَّب الصبغي والذي يُسمَّى (Leuco Base) و كون عديم اللون. ويلزم من أجل تحديد حمض الأسكوربيك كميَّاً تفاعل المركَّب الصبغي المذكور مع كاشف آخر معلوم في وسط قلوي، أو من خلال التفاعل البطيء للكاشف مع المركَّب. يتلوَّن المركَّب الصبغي 2، 6- ثنائي كلوروفينول أندوفينول (كاشف تيلمانس) بلون أزرق في الوسط القلوي وبلون أحمر وردي في الوسط الحمضي وفق المعادلة الآتية:



أ- المواد و الأدوات اللازمة:

حمض الأسكوربيك (أو عصير الفواكه)، محلول حمض كلور الماء (1%)، محلول حمض الخمَّاض (1%)، محلول حمض الكبريت (2%)، محلول النشاء (1%)، محلول يودات

البوتاسيوم (0.001N)، كاشف تيلمانس (الملح الصوديومي لـ:2، 6- ثنائي كلورو فينول أندوفينول (0.001N)، سحاحة سعة 10 مل، بالون معايرة سعة 100 مل، بالون معايرة سعة 200 مل، بالون مُعايرة سعة 1000 مل، سحاحة ميكروئيَّة سعة 1 و 5 مل، أرلينة سعة 50 مل، أرلينة سعة 100 مل، ميزان تحليلي، هاون بورسلان.

*** تحضير محلول يودات البوتاسيوم (0.001N):**

يُوزَن بدقَّة 35.68 غ من يودات البوتاسيوم KIO_3 النقيَّة والمجفَّفة مُدَّة ساعتين في درجة الحرارة 100^oC. تُنقَل بعد ذلك إلى دورق حجمي سعة 1 ليتر، و يضاف إليها 900 مل من الماء و يُحرَّك حتى تمام الانحلال، ثمَّ يُتمَّم بالماء حتى الحجم المحدَّد. يُؤخَذ بوساطة ماصَّة معياريَّة 10 مل من المحلول الناتج، ويُمدَّد بالماء حتى 1 ليتر و يُمزَج.

*** تحضير كاشف تيلمانس:**

يُؤخَذ 65 مغ من الكاشف الجاف ويُوضَع في بالون معايرة سعة 200 مل، ثمَّ يُحلُّ بـ 100 مل من الماء المقطَّر، ويُضاف إليها 4- 5 قطرات من محلول الصود الكاوي (0.01N) ويُرجُّ البالون حوالي 15 دقيقة، ثمَّ يُترك لمدَّة 6- 8 ساعات. يُمدَّد المحلول بعد ذلك حتى 200 مل ويُرشَّح على ورقة ترشيح في وعاء زجاجي مُعتِم. يُحفظ المحلول في مكان مُظلِم أو في البرَّاد، ويكون صالحاً للاستعمال لمدَّة أسبوع.

*** حساب مكافئ محلول 2، 6- ثنائي كلوروفينول أندوفينول من حمض الأسكوربيك:**

يُحَلُّ حوالي 1.5 مغ من بلورات حمض الأسكوربيك في 50 مل من محلول حمض الكبريت (2%)، ويُؤخَذ 5 مل من هذا المحلول بوساطة ماصَّة ميكروئيَّة، وتُعدَّل بوساطة السحاحة بمحلول (0.001N) من محلول 2، 6- ثنائي كلور فينول أندوفينول حتى بداية ظهور اللون الوردي. يُؤخَذ مرَّةً أخرى وبالماصَّة الميكروئيَّة نفسها 5 مل من محلول حمض

الأسكوربيك، ويُضاف إليها عدَّة بلورات من يود البوتاسيوم KI و 3 قطرات من محلول النشاء (1%)، ثمَّ تُعدَّل بمحلول يودات البوتاسيوم (0.001N) حتى بدء ظهور اللون الأزرق.

يتمُّ حساب مكافئ محلول 2، 6- ثنائي كلوروفينول أندوفينول من حمض الأسكوربيك من العلاقة الآتية:

$$\frac{T \times 0.088}{A - B}$$

حيث إنَّ:

T– مُكافئ محلول 2، 6- ثنائي كلوروفينول أندوفينول من حمض الأسكوربيك مُقدَّراً بالميلي لتر.

0.088– وزن حمض الأسكوربيك بالميلي غرام المكافئ لميلي ليتر واحد من محلول KIO_3 (0.001N).

A– كميَّة يودات البوتاسيوم (0.001N) اللازمة لتعديل حمض الأسكوربيك مُقدَّرةً بالميلي لتر.

B– كميَّة ثنائي كلوروفينول أندوفينول اللازمة للتعديل مُقدَّرةً بالميلي لتر.

وبذلك نستطيع معرفة عدد ميلي غرامات حمض الأسكوربيك المكافئة لميلي لتر واحد من محلول 2، 6- ثنائي كلوروفينول أندوفينول المحضَّر.

ب– الإجراء التجريبي:

خذْ مقاطع طويلة من النبات المراد دراسته (بندورة، بطاطا)؛ بحيث يحتوي على أجزاء من كلِّ النبتة. واسحقْها بصورة جيِّدة في هاون بورسلان. زِنْ بوساطة ميزان حسَّاس وزنتين

مُتساويتين من المسحوق، وضعْ كلَّ واحدة منهما على زجاجة ساعة؛ ثمَّ قم بإنجاز الخطوات الآتية على كلِّ وزنة:

اسحق العيِّنة الموزونة مع 20 مل من محلول حمض كلورالماء (1%) حتى تشكيل مُعلَّق مُتجانس. انقل المعلَّق المتجانس بوساطة قضيب زجاجي إلى بالون مُعايرة سعة 100 مل، ثمَّ أكمِل الحجم إلى 100 مل بوساطة محلول حمض الحمَّاض (1%)، ورُجَّ البالون بصورة جيِّدة لمدَّة دقيقتين. اتركها لمدَّة عشر دقائق، ورشِّح بعد ذلك محتوى بالون المعايرة على ورقة ترشيح أو ثفِّل بوساطة المثفِّلة الكهربائيَّة. يكمن دور كلٍّ من حمض كلور الماء وحمض الحمَّاض في استخلاص حمض الأسكوربيك من مسحوق النسج النباتيَّة وفي زيادة ثباته في المستخلص. ضعْ في أرلينة سعة (50 مل)، 10 مل من المستخلَص الرائق، وعايِر بوساطة السحاحة المكروئيَّة بمحلول 2، 6- ثنائي كلوروفينول أندوفينول حتى ظهور اللون الوردي وثباته لمدَّة دقيقة. يُفضَّل إجراء مُعايرات مُتتالية لكميَّات مُتساوية من المستخلَص من أجل الدقَّة. قمْ في الوقت نفسه بإجراء التجربة الخالية (الشاهد) لتحديد القدرة الإرجاعيَّة لمحلول حمض الحمَّاض وحمض كلور الماء اللذين جرى استخدامهما في استخلاص الفيتامين C. احسب كميَّة الفيتامين C في المستخلَص؛ مُقدَّرةً بالميلي غرامات في كلِّ 100 غ من المادة النباتيَّة من العلاقة الآتية:

حيث إنَّ:

X: كميَّة حمض الأسكوربيك في المادة المأخوذة (غ).

A: كميَّة 2، 6- ثنائي كلوروفينول أندوفينول المستخدَمة في مُعايرة الأسكوربيك التجريبيَّة؛ مُقدَّرةً بالميلي ليتر (mL).

a: كميَّة محلول 2، 6- ثنائي كلوروفينول أندوفينول المستخدَمة في مُعايرة التجربة الشاهدة؛ (التي تُسمَّى القيمة التصحيحيَّة)؛ مُقدَّرةً بالميلي ليتر (mL).

T: مُكافئ محلول 2، 6- ثنائي كلوروفينول أندوفينول من حمض الأسكوربيك؛ مُقدَّراً بالميلي غرام (mg).

B: الحجم النهائي لمستخلَص حجم الأسكوربيك (100 مل).

H: وزن المادة النباتية المأخوذة (غ).

M: الحجم المأخوذ لإجراء المعايرة (10 مل).

تجربة (7-31): التحديد الكمّي للفيتامين C في البول

ضعْ عيِّنة من البول مقدارها 25 مل في أرلينة 250 مل، وأضِف فوقها 5 مل من حمض الخل الثلجي (في حال عدم تحميضها مُسبقاً)، وعايرها بمحلول 2، 6- ثنائي كلوروفينول أندوفينول (0.01N) المحضَّر مُسبقاً (كاشف تيلمانس) حتى ظهور اللون الوردي الذي لا يدوم سوى دقائق، يختفي بعدها. ثمَّ قم بإجراء التجربة الشاهدة (التجربة الخالية)؛ وذلك باستخدام حجوم المحاليل نفسها الآنفة الذكر، ولكن دون استخدام البول؛ حيث يظهر اللون الوردي بوضوح.

تُحسَب كميَّة حمض الأسكوربيك التي يطرحها الإنسان يوميَّاً كما يأتي:

لنفترض أنَّنا استهلكنا من كاشف تيلمانس لمعايرة عيِّنة من البول التي حجمها 25 مل كميَّة مقدارها 5.5 مل؛ عندها سيكون مُكافئ الكاشف لحمض الأسكوربيك مُساوياً 0.82mgLmL؛ وبذلك ستكون كميَّة حمض الاسكوربيك الموجودة في هذه العيِّنة مُساويةً:

$$0.45mg = 0.082 \times 5.5.$$

إذا نسبنا هذه الكميَّة من حمض الأسكوربيك إلى كميَّة البول التي يطرحها الإنسان خلال 24 ساعة والتي تُعادل 1200mL، نحصل على كميَّة حمض الأسكوربيك التي يطرحها الإنسان يوميَّاً؛ والبالغة:

ملاحظة:

يجب أن نقوم بعمليَّة المعايرة في أقلَّ من دقيقتين فقط؛ حيث يمكن لحمض الأسكوربيك فقط الموجود في البولة أن يتأكسد دون تأكسد المواد الأخرى الموجودة في البول.

تجربة (7-32): التحديد الكمّي للفيتامين C في المواد الغذائيَّة

خذْ 10- 20 غ من المواد الغذائيَّة المراد تحديد كميَّة الفيتامين C فيها كالبرتقال أو الليمون، وأضِف إليها 25 مل من مزيج ميتا حمض الفوسفور وحمض الخلّ والماء بنسبة: 100:10:4، وقليلاً من الرمل البحري واجرش المزيج؛ واستقبل الرشاحة في اسطوانة مُدرَّجة واغسل الراسب مرتين، وفي كلّ مرَّة بوساطة 5 مل من المزيج الحمضي. مدِّد الرشاحة بالماء المقطَّر حتى الحجم 50 مل. خذْ من هذا المستخلَص عيِّنة بحجم 10 مل واجرِ عليها عمليَّة المعايرة. إذا كانت العيِّنة تحتوي على عصير الليمون، فإنَّه يُفضَّل أخذ 1 مل فقط من المستخلَص بسبب وجود حمض الأسكوربيك فيه بتراكيز عالية. قمْ بعمليَّة المعايرة بالطريقة نفسها التي تُجرَى فيها مُعايرة البول.

يتمُّ حساب كميَّة الفيتامين C وفق الآتي:

لنفترض أنَّنا استهلكنا 6.2 مل مثلاً من كاشف تيلمانس لمعايرة 1 مل من عصير الليمون؛ عندها سيكون مكافئ الكاشف لحمض الأسكوربيك مُساوياً 0.09 مغ؛ وتكون كميَّة حمض الأسكوربيك في العيِّنة مُساويةً:

$$X = 0.09 \times 6.2 = 0.56 \text{ mg}$$

ولما كانت الليمونة الواحدة تُعطي تقريباً 20 مل من العصير، فإنَّه بالإمكان حساب كميَّة الفيتامين C فيها؛ وتكون وفق هذه المعطيات مُساويةً:

$$0.56 \times 20 = 11.2 \text{ mg}$$

أي أنَّ كلَّ ليمونة تحتوي على 11.2 mg

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل الثامن

الهرمونات

HORMONES

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الهرمونات
HORMONES

8-1- مُقدَّمة

تنتمي الهرمونات إلى المركَّبات الكيمائيَّة الفعَّالة حيويَّاً؛ حيث تؤدِّي مقادير صغيرة منها إلى استجابات كبيرة في العضويَّات الحيَّة. تُصطَنع الهرمونات في خلايا مُعيَّنة؛ لتقوم بتحقيق وظائفها في خلايا أخرى؛ حيث تلعب دوراً مُهمَّاً في تنظيم الاستقلاب الخلوي فيها، ويتمُّ إفرازها من قبل الغدد الصم؛ علماً بأنَّ إفرازها يتأثَّر بعوامل كثيرة؛ منها العوامل النفسيَّة والعوامل المرضيَّة والصدمات؛ إضافةً إلى تأثير الهرمونات الأخرى. الغدد الصمُّ صغيرة الحجم والوزن، تتوضَّع في أنحاء مُتفرِّقة من الجسم، وتفرز هرمونات لها تأثير كبير على صحَّة الأحياء ونموِّهم وحياتهم؛ فإذا زاد إفرازها أو نقص أدَّى إلى أمراض كثيرة قد تكون نهايتها الوفاة بعد مرو الزمن. يكون تأثير الهرمونات نوعيَّاً؛ حيث تؤثِّر على استقلاب مواد مُعيَّنة دون غيرها؛ فمثلاً يؤثِّر هرمون جارات الدرق على الأنسجة العظميَّة والكليتين؛ بينما يؤثِّر هرمون الدرق تأثيراً عامَّاً على كلِّ خلية في الجسم؛ وتنظِّم هرمونات القسم الأمامي للنخامة العلاقة بين الغدد الصم؛ كما يؤثِّر الأنسولين على استقلاب السكريَّات والأنسجة الشحميَّة؛ ويُبدي هرمون النمو تأثيراً على اصطناع بروتينات الجسم. يكون تأثير الهرمونات شاملاً؛ حيث تؤثِّر على غشاء الخلايا ومُحتوياتها، وتؤثِّر على الأنزيمات بأشكال مُتعدِّدة فهي تؤثِّر على فعاليَّة الأنزيمات واصطناعها الحيوي وسرعة تفكُّكها. تكون فعاليَّة الهرمونات مُثلى في الوسط الذي يحتوي على شوارد الكالسيوم والصوديوم والبوتاسيوم. إنَّ الهرمونات كثيرة العدد؛ وقلَّما تنجو حادثة استقلابيَّة من تأثير الهرمونات.

تُبدي الهرمونات تأثيراً كبيراً على الجسم وفي مختلف الشروط؛ فعندما يحدث أيُّ خلل أو تغيُّر في الوسط الداخلي للجسم تُحرّض غدَّة تحت سرير المخ على إنتاج مادة خاصَّة تؤثِّر على الجسم النخامي، لتساعده على اصطناع هرموناته. تدخل الهرمونات المصنَّعة إلى الدم وتؤثِّر مباشرةً على الغدد ذات الإفراز الداخلي داعيةً إلى تنشيطها؛ مُؤدِّيةً إلى زيادة اصطناع هرموناتها التي تُطرَح في الدم، وتصل إلى الخلايا المعنيَّة في أعضاء الجسم وأنسجته. أمَّا المكان الثاني الذي يظهر فيه تأثير الهرمونات فهو الخليَّة؛ حيث يمكننا القول إنَّ الهرمونات تُنظِّم وظائف الخلايا التي تؤثِّر على مراحل الاستقلاب؛ وعلى مختلف أشكال النشاط الحيوي.

تُصنَّف الهرمونات بحسب بنيتها الكيميائيَّة، وتُقسَم إلى الأنواع الآتية:

1- الهرمونات الببتيديَّة: مثل فازوبرسين واكسي توسين.

2- الهرمونات البروتينيَّة: مثل هرمون النمو والأنسولين.

3- الهرمونات الستروئيديَّة: هي الهرمونات التي لها بنية ستروئيديَّة، كهرمونات قشر الكظر وهرمونات الغدد الجنسيَّة.

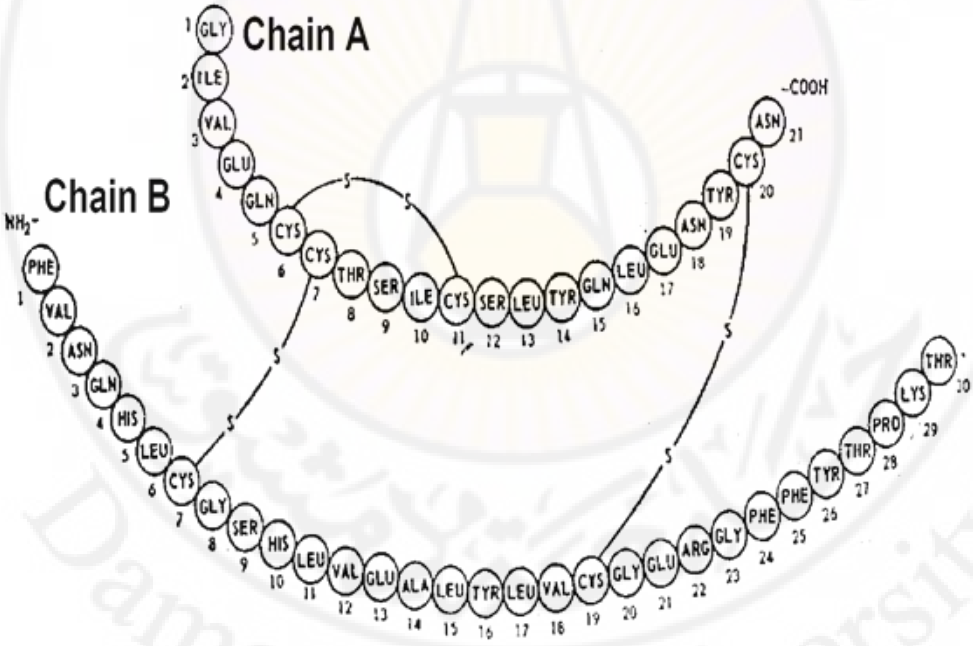
4- الهرمونات الأمينيَّة: هي من مُشتقَّات الحموض الأمينيَّة؛ وينتمي إليها الأدرينالين والتيروكسين. يكون انتقال الهرمونات في الدم إمَّا بصورة حرَّة؛ ومثال ذلك الهرمونات الببتيديَّة أو بصورة مُرتبطة؛ ومثال ذلك الهرمونات الاستروئيديَّة وهرمون الغدَّة الدرقيَّة. تكون فعاليَّة الهرمونات مُثلى في الوسط الذي يحتوي على شوارد الكالسيوم والصوديوم والبوتاسيوم.

2-8- الكشف الكيفي عن الهرمونات

من الضرورة والأهميَّة بمكان التعرُّف إلى بعض التفاعلات الكيميائيَّة التي يتمُّ بوساطتها الكشف الكيفي عن الهرمونات؛ لذلك سندرس في هذا الفصل طرائق الكشف عن بعض هذه الهرمونات.

8-2-1- الأنسولين (Insulin)

يلعب الأنسولين دوراً مُهمَّاً وجوهريَّاً في تحوُّلات أو استقلاب المادَّة من خلال زيادة تخزين الغليكوجين وزيادة اصطناع الحموض الدسمة وتمثيل أو استيعاب (Assimilation) الحموض الأمينيَّة واصطناع البروتينات؛ لذلك يُعَدُّ من الهرمونات البنَّاءة. إضافةً إلى ذلك يقوم الأنسولين بدور المنبِّه لعمليَّة التحلُّل السكري. تتألَّف جزيئة الأنسولين من سلسلتين موصولتين بجسرين كبريتيين S-S؛ وهاتان السلسلتان هما السلسلة A؛ وتحتوي على 21 حمضاً أمينيَّاً والسلسلة B؛ وتحتوي على 30 حمضاً أمينيَّاً. يبيِّن الشكل (8-1) بنية الأنسولين البشري.



الشكل (8-1) بنية الأنسولين البشري

تجربة (8-1): الكشف عن الأنسولين؛ التفاعل مع هيدروكسيد الصوديوم الممدَّد

أ- المواد اللازمة:

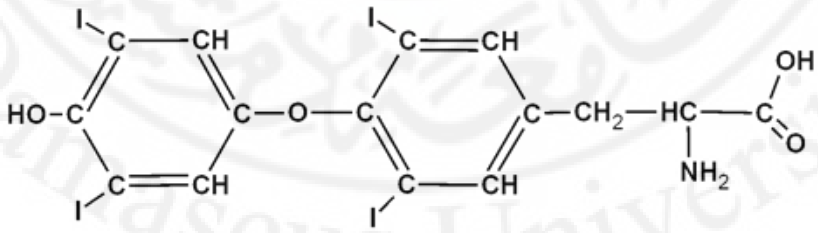
محلول الأنسولين (أمبولات)، محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.1%)، محلول حمض الخل **(0.5%)**.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار عشر قطرات من محلول الأنسولين، وأضِف إليه قطرةً قطرةً من محلول هيدروكسيد الممدَّد (0.1%) حتى تلاحظ تشكُّل راسب قطني. يمكن حلُّ هذا الراسب من خلال تحميض وسط التفاعل بحمض الخل (0.5%) حتى درجة الحموضة pH =2.5 – 3.5.

8-2-2- التيروكسين (Thyroxine)

التيروكسين هو هرمون الغدَّة الدرقيَّة، يرِد إلى الدم منه حوالى ميلي غرام واحد يوميًّا (1mg/day). يؤدِّي نقصه إلى البلاهة وتوقُّف النموّ العقلي والجسماني عند الأطفال؛ أمَّا زيادة إفرازه فتؤدِّي إلى الزيادة الكبيرة في استقلاب المواد، وإلى تسرُّع نبضات القلب؛ وهبوط الوزن وجحوظ العينين. يبيِّن الشكل (8-2) بنية التيروكسين.



الشكل (8-2) بنية التيروكسين

تجربة (8-2): الكشف عن التيروكسين بالحلمهة الحمضيَّة

يجري الكشف عن التيروكسين بحذف (elimination) حمض يوديد الهيدروجين منه وتحويله إلى اليوديد الحرّ I_2؛ ويتمُّ ذلك من خلال الحلمهة الحمضيَّة. يُستخلَص اليوديد بوساطة الكلوروفورم الذي يتلوَّن باللون البنفسجي.

أ- المواد والأدوات اللازمة:

حمض الآزوت المركز، كلوروفورم، يودات البوتاسيوم (1%)، مُستحضَر ستيروئيدي.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار حبَّة من التيروئيدين، وعشر قطرات من حمض الآزوت المركَّز. سخِّن محتوى الأنبوب بحذر من أجل إجراء عمليَّة الحلمهة على نار هادئة لمدَّة دقيقة أو دقيقتين. أضف بعد فترة من الزمن إلى الأنبوب عشرين قطرة من محلول يودات البوتاسيوم (1%)، ثمَّ رُجَّ الأنبوب وبرِّده. تؤكسِد يودات البوتاسيوم حمض يود الهيدروجين؛ مُحوِّلةً إياه إلى اليود الحرّ، وفق المعادلة الآتية:

$$KIO_3 + 5HI + HNO_3 \longrightarrow 3I_2 + KNO_3 + 3H_2O$$

أضِف إلى الأنبوب حوالى 2 مل من الكلوروفورم؛ ورُجَّ الأنبوب جيِّداً، ثمَّ اتركه بعد ذلك ليرقد؛ ولاحظ تلوُّن طبقة الكلوروفورم السفليَّة بلون اليود البنفسجي.

8-2-3- الأدرينالين Adrenaline

يُعَدُّ الأدرينالين أحدَ الهرمونات الهامَّة التي تُصطنَع في الغدَّة الكظريَّة؛ ولذلك فقد كان من أوائل المركَّبات الهرمونيَّة التي عُرِفت وصُنِّعت مخبريّاً من قبل العالم تاكامين Takamin عام 1904. يُوجَد هذا الهرمون في نقي الغدَّة الكظريَّة وفي الأنسجة الكرومافينيَّة بكميَّات جيِّدة، ويُخزَّن في الميتوكوندريا بكميَّات تُعادل تراكيزها نحو (0.16N)؛ كما تحتوي أنسجة الغدَّة الكظريَّة على كميَّات منه من الأمينات المشابهة

تُعادل (0.1 -10mg/g) من وزنها الرطب، ومن خلال حلمهة هذه الأنسجة حلمهة حمضيَّة نستطيع استخلاص الأدرينالين بصورة حرَّة؛ ثمَّ الكشف عنه. يلعب حمض الأسكوربيك دوراً مُهمَّاً في تثبيت التركيز الطبيعي للأدرينالين في الكظر؛ حيث يُحوِّل الشكل المؤكسَد للهرمون (أدرينالين منقوص الهيدروجين) إلى الشكل المرجَع؛ بوضع ذرات الهيدروجين. محلول الأدرينالين عديم اللون أو سائل أصفر خفيف شفَّاف، يُستعمَل في بعض الوصفات الدوائيَّة لمعالجة حالة الكآبة.

تجربة (8-3): الكشف عن الأدرينالين؛ التفاعل مع كلوريد الحديد $FeCl_3$

أ- المواد والأدوات اللازمة:

محلول الأدرينالين (يُحَلُّ مُحتوى الأمبولة في 100 مل من الماء)، محلول كلوريد الحديد ذو التركيز (3%)، محلول هيدروكسيد الأمونيوم (10%)، أنابيب اختبار.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار 0.5 مل من محلول الأدرينالين، وأضِف إليه 2 مل من الماء المقطَّر وقطرة واحدة من محلول كلور الحديد (3%). لاحظْ تلوُّن الأنبوب بلون أخضر زمرُّدي نتيجةً لتشكُّل مينولات الحديد بالزمرة الهيدروكسيليَّة. يتحوَّل اللون إلى أحمر كرزي، ثمَّ إلى بني بعد إضافة قطرة واحدة من محلول هيدروكسيد الأمونيوم (10%).

تجربة (8-4): الكشف عن الأدرينالين؛ التفاعل مع نيتريت الموليبدن

أ- المواد والأدوات اللازمة: محلول الأدرينالين (يُحَلُّ محتوى الأمبولة في 100 مل من ماء)، محلول حمض كلور الماء (5%)، كاشف نتريت الموليبدن، محلول هيدروكسيد الصوديوم (10%)، حمض كلور الماء المركَّز، أنابيب اختبار.

* **تحضير نتريت الموليبدن**: يُحَلُّ 5 غ من نتريت الموليبدن و 5 غ من موليبدات الصوديوم في 50 مل من الماء المقطَّر.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار 1 مل من محلول الأدرينالين، وأضِف إليها 1 مل من محلول حمض كلور الماء (5%)، و 1 مل من كاشف نتريت المولبيدن. حرِّك المزيج، ولاحظ ظهور لون أصفر برتقالي يتحوَّل إلى أحمر غامق بعد إضافة عدَّة قطرات من محلول هيدروكسيد الصوديوم (10%)، وإلى الأصفر بعد إضافة عدَّة قطرات من حمض كلور الماء المركَّز. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (8-5): الكشف عن الأدرينالين، التفاعل مع الديازو

أ- المواد والأدوات اللازمة:

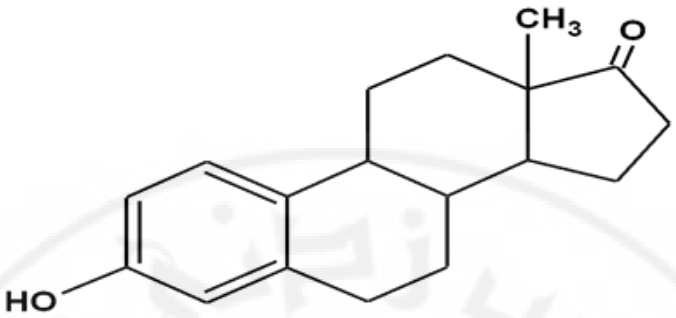
محلول الأدرينالين، محلول كربونات الصوديوم (10%)، كاشف ديازو، أنابيب اختبار.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار 1 مل من محلول حمض السلفانيليك (1%)، و 1 مل من محلول نتريت الصوديوم (5%)، وأضِف إليها 2 مل من محلول الأدرينالين، و 1 مل من محلول كربونات الصوديوم (10%). لاحظ تشكُّل مُركَّب ذي لون أحمر. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

8-2-4- الفولليكولين (الاسترون) Folliculin, Estrone

يحتوي الاسترون على حلقة فينوليَّة؛ ولذلك فهي تُعطي مجموعة من التفاعلات المميزَّة للزمرة الفينوليَّة.



الـ فولـ لـ يكولـ ين أوالا سـ ترون

تجربة (8- 6): الكشف عن الفوللليكولين (الاسترون)؛ تفاعل ديازو

أ – المواد والأدوات اللازمة:

هيدروكسيد الصوديوم (30%)، محلول ميتانتروبنزول (2%) في الإتانول، حمض الكبريت المركّز، كاشف فولين، كاشف ديازو، كربونات الصوديوم (10%)، محلول الفوللليكولين في الغول (يُصَبُّ في قمع الفصل 100 مل من الإيتانول ومحلول زيتي للفوللليكولين، من 10 أمبولات، يتمُّ استخلاص الفوللليكولين بوساطة الإيتانول بالرجّ وطرح الطبقة السفليَّة الزيتية وتُستخدَم الطبقة العليا الغوليَّة)، حمَّام مائي، قمع فصل، أنابيب اختبار، حامل أنابيب الاختبار.

ب– الإجراء التجريبي:

خذْ 3 مل من محلول الفوللليكولين في الغول، وأضف إليها 2 مل من محلول كربونات الصوديوم (10%)، و 3 مل من كاشف ديازو؛ ولاحظْ ظهور لون أبيض مُصفَرّ في الأنبوب (يظهر اللون تدريجيًّا). سجّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (8-7): الكشف عن الفوللليكولين (الاسترون)؛ التفاعل مع حمض الكبريت المركَّز

أ- المواد والأدوات اللازمة:

محلول الفوللليكولين في الغول الإتيلي، حمض الكبريت الكثيف، أنابيب اختبار،حامل أنابيب اختبار، حمَّام مائي.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار 1 مل من محلول الفوللليكولين في الغول، وضعْها في حمَّام مائي بدرجة الغليان لمدَّة 5- 10 دقائق؛ كي يتبخَّر الإيتانول. أضِف إلى الفوللليكولين المتبقِّي 1 مل من حمض الكبريت الكثيف؛ وضعْ الأنبوب مُجدَّداً في الحمَّام المائي؛ ولاحظ مع استمرار التسخين تحوُّل اللون إلى البرتقالي ذي الفَلْوَرة الزرقاء. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

تجربة (8-8): التفاعل مع هيدروكسيد الصوديوم وتشكُّل فينولات الفوللليكولين

أ- المواد اللازمة:

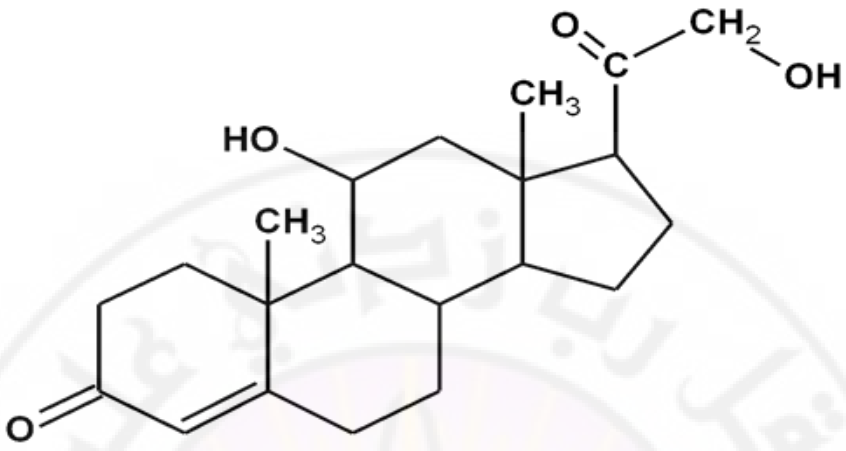
فوللليكولين، هيدروكسيد الصوديوم، أنابيب اختبار، حامل أنابيب اختبار.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوبيْ اختبار جافين نحو 1 مل من الفوللليكولين، وأضِف إلى الأنبوب الأول 2 مل من الماء، وإلى الأنبوب الثاني الكميَّة نفسها من محلول هيدروكسيد الصوديوم(30%) ولاحظ تشكُّل مُستحلَب في الأنبوب الأول فقط. علِّل ذلك.

8-2-5- الكورتيزون Cortisone

لا يحتوي الكورتيزون على حلقة فينوليَّة؛ لذلك لا يعطي التفاعلات الخاصَّة بالاسترون، غير أنَّه يحوي زمراً كيتونيَّة وهيدروكسيليَّة تفيد في الكشف عنه.



الـ كورتـ يزون

تجربـة (8-9): الكشـف عـن الكـورتيزون؛ التفاعـل مـع محلـول فينيـل هيدرازين في حمض الكبريت

أ- المواد والأدوات اللازمة:

محلول فينيل هيدرازين، غول ميتيلي، خلات الكورتيزون، أنابيب اختبار، حمَّام مائي.

ب- الإجراء التجريبي:

ضعْ في أنبوب اختبار 1 مغ من خلات الكورتيزون، وحُلَّها في 1 مل من الميتانول، وأضِف إليه 5 مل من محلول فينيل هيدرازين في حمض الكبريت؛ وسخِّن على حمَّام مائي. لاحظ بعد عدَّة دقائق ظهور لون أصفر ناجم من تشكُّل فينيل هيدرازون، وبعد ذلك الأوزازون؛ وذلك بسبب وجود الزمرة الكربونيليَّة في الكورتيزون. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي الخاص بك.

تجربة (8-10): الكشف عن الكورتيزون؛ التفاعل مع كاشف فهلنغ

أ- المواد والأدوات اللازمة:

خلات الكورتيزون، غول ميتيلي، كاشف فهلنغ، أنابيب اختبار، ماصَّة، حمَّام مائي.

ب- الإجراء التجريبي:

حُلَّ 10 مغ من خلات الكورتيزون في 1 مل من الميتانول، ثمَّ أضف 1 مل من كاشف فهلنغ؛ وسخِّن على حمَّام مائي. لاحظ تشكُّل راسب أحمر برتقالي من أوكسيد النحاسي. سجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

8-3- التحليل الكمّي للهرمونات

سيقتصر التحليل الكمّي للهرمونات على تقدير الأدرينالين كميّاً؛ والذي يعتمد على قياس شدَّة اللون الأزرق الذي يظهر عند تفاعل الأدرينالين مع كاشف فولين بوساطة مقياس الطيف اللوني (Colorimeter)؛ ثمَّ تحديد تركيز الأدرينالين.

تجربة (8-11): تقدير للأدرينالين

أ- الأدوات والمواد اللازمة:

مقياس الطيف اللوني، أنابيب اختبار معياريَّة مُعلَّمة لسعة 10 مل (عدد 2)، ماصَّة مُدرَّجة سعة 1 مل (عدد 3) و5 مل (عدد 2)، دورق معياري سعته 25 مل، دورق كروي سعته 1000 مل، محلول كربونات الصوديوم (10%)، محلول الأدرينالين، كاشف فولين.

*** تحضير المحلول المعياري للأدرينالين:**

يُقاس 1 مل من مُستحضَر الأدرينالين، ويُصَبُّ في دورق معياري سعة 25 مل، ثمَّ يُتمَّم الحجم بالماء المقطَّر حتى العلامة؛ فنحصل على محلول يحتوي على 1 مل منه 0.04 مغ من الأدرينالين.

*** تحضير كاشف فوللين:**

يُحَلُّ 100 غ من $NaWO_4.H_2O$ و 25 غ من $Na_2MoO_4.2H_2O$ في 700 مل من الماء المقطَّر في دورق سعته 1000 مل مُجهَّز بمبرِّد ليبيغ، ويُضاف إلى الدورق 50 مل

من محلول حمض الفوسفور (85%)، و 100 مل من حمض كلور الماء المركَّز، ويُلقَى فيها عدَّة أنابيب شعريَّة. يُغلَى المزيج مُدَّة عشر ساعات ويُضاف بعد ذلك 150 غ من كبريتات الليتيوم و 50 مل من الماء وعدَّة قطرات من البروم. يُغلَى محتوى الدورق بدون استعمال المبرِّد المرتد مُدَّة 15 دقيقة لطرد الزيادة من البروم (يتمُّ إجراء التجربة تحت ساحبة الغازات). يُبرَّد المزيج ويُتمَّم الحجم حتى 1000 مل بالماء المقطَّر، ويُرشَّح بواسطة مُرشِّح زجاجي. يُحفَظ الكاشف في زجاجة عاتمة.

ملاحظة: يجب أن تكون كلُّ الكواشف المستعمَلة لتحضير كاشف فولين نقيَّة كيميائيًّا؛ كما يجب أن يكون لون الكاشف في كلِّ مراحل التحضير أصفر؛ وقبل الاستعمال يُتمَّم الحجم بالماء المقطَّر؛ حتى تصبح درجة الحموضة موافقة لمحلول حمض كلور الماء (1N) نظامي.

ب- الإجراء التجريبي:

خذْ أنبوبيْ اختبار معياريين مُعلَّمين لسعة 10 مل؛ وأضِف بوساطة الماصَّة إلى الأنبوب الأول 1 مل من محلول الأدرينالين المعياري، وإلى الأنبوب الثاني 1 مل من المحلول المراد تحليله. أضِف إلى كلا الأنبوبين 4 مل من محلول كربونات الصوديوم (10%) المحضَّر حديثاً، و 0.5 مل من كاشف فولين. رُجَّ الأنبوبين ولاحظ بدء ظهور لون أزرق تدريجيًّا، يصل خلال خمس دقائق إلى شدَّته الأعظميَّة. أتمِم الحجم في كلا الأنبوبين حتى 10 مل بمحلول كربونات الصوديوم (10%). رُجَّ محتوى الأنبوبين من أجل مزجهما، ثمَّ قِس شدَّة الامتصاص في المحلول المدروس بوساطة مقياس الطيف اللوني؛ وقارنها مع شدَّة امتصاص المحلول المعياري. يُحسَب تركيز الأدرينالين من العلاقة الآتية:

$$C1 = \frac{C_2 x E_1}{E_2}$$

حيث إنَّ :

C_1 : تركيز الأدرينالين في المحلول المراد تحليله.

C_2 : تركيز الأدرينالين في المحلول المعياري.

E_1 : الشدَّة اللونية للمحلول المراد تحليله.

E_2: الشدَّة اللونية للمحلول المعياري.

Damascus University

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل التاسع

الإنزيمات

ENZYMES

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الإنزيمات

Enzymes

9-1- مُقدَّمة عامَّة

تُحفِّز مُعظَم التفاعلات الكيميائيَّة في الكائنات الحيَّة بنوع من البروتينات يُدعَى الإنزيمات، وتتميَّز هذه البروتينات بنوعيَّة عالية؛ في تفاعلاتها فهي قادرة على تحفيز تفاعلات تحتوي على مُركَّبات تستطيع التأثير فيها وتُسمَّى هذه المركَّبات الركائز substrate. تُصطنَع الإنزيمات في داخل الخليَّة، وتتوسَّط كعوامل مُساعدة التفاعلات الكيميائيَّة التي تحدث ترموديناميكيَّاً؛ كما أنَّ الإنزيم لا يُعدِّل من ثابت التوازن وتغيُّرات الطاقة الحرَّة ΔG للتفاعل الذي يرعاه. ونظراً لأنَّ الإنزيمات هي بروتينات؛ فإنَّها تفقد فعاليَّتها كعوامل مُساعدة تحضُّ على تفاعل المواد الكيميائيَّة التي تعمل عليها، عندما تتعرَّض لأحد العوامل التي تُخرِّب البنية المنظَّمة للبروتينات كالحرارة والحموض والقلويَّات وسائر العوامل الأخرى التي تُخرِّب البروتينات وتُشوِّهها.

تتَّصف الإنزيمات بالخصائص الآتية:

1- تزيد الإنزيمات من سرعة حدوث التفاعلات التي ترعاها، كما أنَّها كعوامل مُساعدة لا تُستهلَك خلال التفاعل؛ فجزيءٌ واحدٌ من الإنزيم يُحوِّل ما بين 10^2 و 10^6 من مادة التفاعل في الدقيقة الواحدة. والدليل على سرعة التفاعل الإنزيمي هو أنَّ إنزيم كاتالاز Catalase الذي يرعى تفكُّك فوق أوكسيد الهيدروجين (الماء الأوكسجيني) H_2O_2، قادر على تحويل خمسة ملايين جزيء من H_2O_2 في دقيقة واحدة؛ أي أنَّ ذلك يُمثِّل زيادة في سرعة التفاعل مقدارها 10^{14} مرَّة فيما لو جرى التفاعل بدون الإنزيم.

2- إنَّ الإنزيمات قادرة على التفريق بين مواد تفاعل مُتشابهة في بنياتها، وتُعرَف هذه الصفة النوعيَّة بتخصُّص الإنزيمات؛ وتعود هذه الصفة إلى كون الإنزيمات ذات طبيعة بروتينيَّة؛ حيث إنَّ البنية البروتينيَّة في الإنزيمات عالية التعقيد، وهي التي تُهيِّئ البنية الملائمة للتفاعلات الإنزيميَّة حتى تجري وفق آليَّة خاصَّة؛ حيث يوجَد الموقع الذي يرتبط فيه الإنزيم بمادة التفاعل المحدَّدة، والذي يُعرَف بالمركز الفعَّال.

3- تقوم بعض الإنزيمات بالمساعدة على التحكُّم بسرعة التفاعلات التي ترعاها؛ وهو نوع من التحكُّم يُسمَّى التحكُّم في مستوى الإنزيم وتقوم به فئة من الإنزيمات المهمَّة تُسمَّى الإنزيمات المنظِّمة؛ حيث يمكن لهذه الإنزيمات أن تُسرِّع التفاعل أو تُخفِّضه؛ مُؤدِّية بذلك إلى التحكُّم في سرعة تدفُّق نواتج التفاعل الإنزيمي في المسارات الاستقلابيَّة.

تُسمَّى الأنزيمات بإحدى طريقتين هما:

1- باسم الركيزة التي يعمل عليها مع إضافة النهاية ase؛ مثل الإنزيم الذي يعمل على البولة يُسمَّى البولاز urease، والإنزيم الذي يعمل على النشاء يُسمَّى النشواز أو الأميلاز amylase.

2- يُشتَقُّ من اسم الوظيفة التي يقوم بها؛ مثل إنزيمات الأكسدة تُسمَّى أكسيداز.

2-9- تصنيف الأنزيمات

تُصنَّف الإنزيمات تبعاً لتركيبها إلى:

1- إنزيمات بسيطة مُؤلَّفة من حموض أمينيَّة فقط؛ مثل الببسين pepsin، التريبسين trypsin، الكيموتريبسين chemotrypsin.

2- إنزيمات مُعقَّدة تتألَّف من جزء بروتيني يُدعَى الصميم apoenzyme، وجزء عضوي أو لاعضوي يُسمَّى التميم coenzyme. يُشتَقُّ الجزء العضوي عادةً من الفيتامينات (B_1,B_2,B_6,B_{12})، أو من خضاب الدم أو النكليوتيدات.

أمَّا الجزء اللاعضوي فغالباً ما يكون شاردة معدنيَّة. يؤدِّي اتحاد الصميم والتميم إلى تشكُّل ما يُسمَّى العميم holoenzyme؛ وهو الشكل الفعَّال للإنزيم.

أمَّا تصنيف الإنزيمات تبعاً لأفعالها فتُقسَم إلى الأنواع الآتية:

1- إنزيمات الأكسدة والإرجاع Oxidoreductases:

تتوسَّط هذه الإنزيمات التفاعلات المنتجة للقدرة في الخلايا الحيَّة؛ منها إنزيمات الأكسدة الهوائيَّة واللاهوائيَّة وإنزيمات الجملة السيتوكروميَّة.

2- إنزيمات النقل Transferasees :

تتوسَّط هذه الإنزيمات نقل الذرات والزمر من مُركَّب إلى آخر أو إنَّ الانتقال يحدث بين الجزيئات.

3- إنزيمات الحلمهة hydrlases:

تتوسَّط تفاعلات تفكُّك روابط الركيزة في مواضعَ مُعيَّنة؛ ويتمُّ ذلك عن طريق استعمال الماء وربط عناصره مع المركَّب المتفكِّك.

4- إنزيمات التفكُّك Lyases:

تتوسَّط هذه الإنزيمات تفكُّك الركيزة بدون تدخُّل الماء؛ ويتمُّ ذلك بنزع زمر مُعيَّنة من الركيزة، منها إنزيمات نزع الكربوكسيل.

5- إنزيمات التماكب Isomerase:

تتوسَّط هذه الإنزيمات تشكيل المتماكِبات وتحوُّلات ضمن الجزيئة.

6- إنزيمات الاصطناع (التركيب) Ligases, Synthetases

تتوسَّط هذه الإنزيمات تفاعلات الاصطناع والتركيب للمركَّبات المختلفة الجارية في الخلايا الحيَّة. تجري هذه التفاعلات على حساب الطاقة الناتجة من تفكُّك ATP أو الجزيئات ثلاثيَّة الفوسفات المشابهة. إنَّ كلَّ زمرة من الزمر السابقة تُقسَم بدورها إلى أنواع كثيرة.

9-3- العوامل المؤثِّرة على سرعة التفاعل الإنزيمي

تؤثِّر على سرعة التفاعل الإنزيمي العوامل الآتية:

1- درجة الحرارة: من المعلوم أنَّ ارتفاع درجة الحرارة يزيد من سرعة التفاعل الكيميائي؛ إلا أنَّه عند درجة حرارة مُعيَّنة يُفقِد الإنزيم فعاليَّته؛ لذلك تزداد سرعة التفاعل الإنزيمي في البداية مع ارتفاع درجة الحرارة حتى تبلغ درجة الحرارة المثلى؛ وهي درجة الحرارة التي يبلغ فيها فعل الإنزيم أقصاه؛ وذلك قبل أن يبدأ فعل الحرارة المخرِّبة للبروتين؛ وبعد ذلك تهبط فعاليَّته بسرعة، كما في الشكل الآتي:

هناك العديد من الإنزيمات التي تُظهِر فعاليَّتها العظمى عند درجة حرارة مُنخفضة؛ فمثلاً يمكن إجراء وساطة إنزيميَّة عند درجة حرارة تتراوح ما بين $0^{\circ}C$ و $10^{\circ}C$.

تتعلَّق سرعة التفاعل بالحرارة التي لا تؤدِّي إلى زيادة حركة الجزيئات فحسب؛ وإنَّما تؤدِّي أيضاً إلى زيادة الاحتكاك بين هذه الجزيئات. إنَّ ذلك ينطبق أيضاً على الإنزيمات التي تُسرِّع المراحل الكيميائيَّة بسبب قدرتها على تشكيل عدد كبير من الجزيئات النشيطة من خلال تخفيض طاقة التنشيط؛ فمثلاً يلزم لحلمهة السكروز بوجود الحمض 32 كيلو حريرة/للجزيء، ولكن بوجود الإنزيم يلزم للحلمهة فقط 9.4 كيلو حريرة/ للجزيء.

2- درجة الحموضة pH: إنَّ الإنزيمات حسَّاسة جداً تجاه تبدُّلات pH؛ حيث تُنزَع فعاليَّة الإنزيم عندما يكون الوسط حمضيَّاً شديداً أو قلويَّاً شديداً؛ وهي غير قابلة للعكس. يُبدي تغيُّر pH الوسط تأثيراً كبيراً على ألفة الإنزيم إلى الركيزة؛ وكلُّ إنزيم يقوم بعمله على أحسن وجه في مجال محدود لـ pH، يُعرَف بـ pH الأمثل.

إنَّ السبب في تأثير pH الوسط على سرعة التفاعل الإنزيمي هو احتواء الإنزيم على زمر كثيرة؛ لها خاصَّة التشرُّد (مثل α- زمرة الكربوكسيل، α- زمرة الأمين، SH- السيستئين، حلقة ايميدأزول الهيستيدين، OH- السيرين ...).

إنَّ تغيُّر الوسط يؤثِّر على الحالة التشرُّديَّة لهذه الزمر؛ وهذا يؤدِّي إلى تغيُّر الوضع الفراغي للسلسلة الببتيديَّة في جزيئة الإنزيم الذي يرافقه قرب أو بعد عدَّة زمر وظيفيَّة.

3- تركيز الإنزيم: تتناسب سرعة التفاعل الإنزيمي طرداً مع تركيز الإنزيم في حدود مُعيَّنة؛ أي:

$$V = K[E]$$

حيث إنَّ:

K: ثابت سرعة التفاعل

E: تركيز الإنزيم

تتفاعل جُزيئة الإنزيم مع جُزيئة الركيزة؛ فيحصل أولاً تشكيل المعقَّد إنزيم- ركيزة، يلي ذلك تشكُّل منتوج التفاعل والإنزيم الذي يعود إلى حالته الأصليَّة. يمكن لجزيئة الإنزيم أن تدخل في التفاعل مرَّة ثانيةً وثالثةً إذا وجِد مقدار كافٍ من الركيزة.

4- تركيز الركيزة: تتعلَّق سرعة التفاعل بتركيز الركيزة عندما يكون تركيزها مُنخفضاً حتى إشباع جميع الجزيئات الإنزيميَّة. أمَّا إذا ازداد التركيز فيما بعد فلن تكون أيَّة علاقة لتركيز الركيزة. إنَّ تركيز الركيزة في الجسم الحيوي أقلُّ من اللازم؛ لذلك يمكن القول إنَّه في الشروط الفيزيولوجيَّة لا يتعلَّق التأثير الإنزيمي بتركيز الإنزيم ويتناسب تقريباً مع تركيز الركيزة. رأى كلٌّ من ميكائليس Mechaelis ومنتن Menten عام 1913 أنَّ الإنزيمات هي وسائط بيولوجيَّة يجب أن تكون بتماس مع الركيزة التي تؤثِّر فيها مدَّة مُعيَّنة؛ مُشكِّلة معها مُركَّباً غير ثابت (إنزيم-ركيزة)؛ أي:

$$ES + S \leftrightarrow ES$$

حيث إنَّ:

E: الإنزيم

S: الركيزة

ES: المعقَّد أنزيم- ركيزة

يتفكَّك بعد ذلك المعقَّد السابق إلى إنزيم ونواتج التفاعل وفق المعادلة:

$$ES \leftrightarrow E + A + B$$

5- **تأثير النوعيَّة**: من أكثر خواص الإنزيمات وضوحاً هي نوعيَّتها؛ أي أنَّ الإنزيم يؤثِّر في ركيزة واحدة أو في عدد من المركَّبات القريبة جداً في بنيتها من ركيزته، ولا يمكن أن ينتظم استقلاب المواد ولا الحياة بدون هذه النوعيَّة. تكون النوعيَّة مُطلقة أو نسبيَّة أو فراغيَّة. ينتمي إلى النوعيَّة المطلقة إنزيم السكَّر (آنفريتاز) الذي يحطم فقط السكَّر الثنائي السكروز؛ ويؤثِّر المالتاز على المالتوز واللاكتاز على اللاكتوز؛ ورغم أنَّ هذه السكَّريَّات الثنائيَّة الثلاثة لها الصيغة نفسها ($C_{12}H_{22}O_{11}$)، إلا أنَّها تتحطَّم تحت تأثير ثلاث خمائر مُختلفة تختلف باختلاف السكَّريَّات الأحاديَّة الداخلة في تركيبها.

أمَّا بخصوص الزمرة النوعيَّة النسبيَّة فينتمي إليها إنزيم الببسين الذي يُفكِّك مُختلف البروتينات الموجودة في الأغذية، مثل بروتينات اللحم والحليب والنباتات. يُفكِّك إنزيم الببسين الروابط الببتيديَّة في المواد البروتينيَّة؛ مُعطياً زمرة كربوكسيليَّة حرَّة للحموض الأمينيَّة العطريَّة؛ فهو بذلك إنزيم نوعي نسبي.

أمَّا فيما يتعلَّق بالنوعيَّة الفراغيَّة فيمكن أن نذكر النوعيَّة الناتجة عن التوضُّع الفراغي للإنزيمات التي تُفكِّك أحد المتماكبات α أو β؛ وينتمي إلى هذه الإنزيمات α و β غليكوزيداز. إنَّ أغلب الإنزيمات يتمتَّع بنوعيَّة مُطلقة ومحصورة جداً؛ أي أنَّها تُسرِّع تفاعلاً واحداً فقط. إضافةً إلى هذه التأثيرات هناك تأثيرات أخرى على سرعة التفاعل الإنزيمي، نذكر منها تأثير الإشعاع وتأثير الأكسدة.

9-4- وحدة الفعاليَّة للإنزيم Unit of Enzyme Activity

اتَّخذت لجنة الإنزيمات التي انبثقت عن الاتحاد العالمي للكيمياء الحيويَّة عام 1961 قراراً بخصوص وحدة الفعاليَّة الإنزيميَّة؛ حيث عدَّت وحدة الفعاليَّة (U) أنَّها كميَّة الإنزيم التي

تؤثِّر على ميكرو جزيء غرامي واحد (Micromol) من الركيزة في دقيقة واحدة، في الشروط المعطاة مع وجوب الحفاظ على درجة حرارة ثابتة ($25^{o}C$). يمكن استخدام واحدات أخرى مثل ميلي واحدة (mU)؛ وهي تعادل (1/1000) من الوحدة أو كيلو وحدة؛ وهي تعادل (1000) وحدة؛ وذلك عندما تكون الفعاليَّة الإنزيميَّة صغيرة جداً أو عالية جداً.

9-5- مُنشِّطات الإنزيمات ومُثبِّطاتها

يمكن تنشيط المراحل التخمُّريَّة في الأنسجة أو تثبيتها بإضافة بعض المواد. تُسمَّى المواد التي تُسرِّع التفاعل الإنزيمي المنشِّطات، والمواد التي تُخمِّد التفاعل الإنزيمي المثبِّطات.

يمكن أن نذكر على سبيل المثال حمض كلور الماء الذي يُنشِّط مولِّد الببسين في العصارة المعدية (مُنشِّط)؛ في حين يُعَدُّ هذا الحمض مُثبِّطاً لأميلاز اللعاب الذي يبدأ بحلمهة النشاء في الفم. كذلك فإنَّ الكثير من الشوارد الموجبة وبعض الشوارد السالبة تؤثِّر على فعاليَّة الإنزيمات تأثيراً نوعيَّاً؛ فمثلاً تُنشِّط الإنزيمات بوساطة كلٍّ من شوارد المغنزيوم والمنغنيز والتوتياء والبوتاسيوم والكوبالت وشاردة الكلور.

المثبِّطات هي مُركَّبات تستطيع أن تتَّحد بالإنزيم بصورة تمنع الاتحاد بين الإنزيم والركيزة؛ أي بعبارة أخرى هي المركَّبات التي تعرقل التفاعل الإنزيمي؛ وكمثال على ذلك فإنَّ سيانيد البوتاسيوم عند تأثيره على الإنزيم سيتوكروم أكسيداز، يُلاحظ إخماد الفعاليَّة الإنزيميَّة بسبب تخريب سلسلته التي تؤدِّي إلى موت الأحياء.

تلعب المثبِّطات دوراً مُهمَّاً عند دراسة آليَّة التفاعلات الإنزيميَّة، وعند تعيين الزمر الوظيفيَّة للإنزيم؛ لأنَّ هناك مُركَّبات لها خاصيَّة ربط زمر مُعيَّنة في جُزيئة الإنزيم؛ حيث تؤدِّي إلى تحطيم التفاعل الإنزيمي وتعطي النتيجة الزمر الداخلة في المركز الفعَّال للإنزيم. يُصنَّف تثبيط الإنزيم إلى عكوس reversible أو لاعكوس irreversible. ترتبط المثبِّطات اللاعكوسة بالإنزيم ارتباطاً وثيقاً بروابط تكافؤيَّة أو غير تكافؤيَّة؛ ما يجعلها تنفكُّ عن

الإنزيم ببطء شديد جداً؛ في حين يتميَّز التثبيط العكوس عن اللاعكوس بسرعة تفكُّك المعقَّد إنزيم-مُثبِّط (EI)؛ ويُصنَّف بدوره إلى نوعين هما:

1- تثبيط تنافسي Competitive inhibition: وفيه يرتبط الإنزيم بالركيزة ليشكِّل مُعقداً إنزيم- ركيزة (ES) أو إنزيم-مُثبِّط (EI)؛ ولا يُشكِّل كليهما في الوقت نفسه (ESI). تشبه المثبِّطات التنافسيَّة الركائز عادةً وترتبط بالمركز الفعَّال للإنزيم؛ مانعةً بذلك الركيزة من الارتباط بهذا المركز الفعَّال. يقوم المثبِّط التنافسي بإنقاص سرعة التفاعل الإنزيمي؛ ويتمُّ ذلك بإنقاص كميَّة الركيزة المرتبطة بالإنزيم. يمكن الحدُّ من تأثير التثبيط التنافسي بزيادة تركيز الركيزة.

2- تثبيط لاتنافسي Non competitive inhibition: يقوم المثبِّط والركيزة في هذه الحالة بالارتباط معاً بالإنزيم، وتعمل المثبِّطات اللاتنافسيَّة على تخفيض السرعة التي يتفارق فيها الإنزيم عن الناتج؛ علماً أنَّه على العكس من التثبيط التنافسي لا يمكن الحدُّ من التثبيط اللاتنافسي بزيادة تركيز الركيزة.

تجربة (9-1): تأثير إنزيم الأميلاز على النشاء (تحلُّل النشاء بالأميلاز)

أ- المبدأ النظري:

يتحلَّل النشاء بتأثير مجموعة إنزيمات الأميلاز الموجودة في اللعاب وعصارة البنكرياس بصورة رئيسيَّة ويعطي النشاء بصورة عامَّة مزيجاً من ديكسترينات ومالتوز وتختلف هذه المشتقَّات في سلوكها تجاه محلول اليود. فالنشاء يعطي لونا أزرق أمَّا الديكسترينات فتعطي ألواناً مُختلفة بين البنفسجي والأصفر والأحمر؛ أمَّا المالتوز فإنَّه يتفكَّك إلى جُزيئتين من الغلوكوز بتأثير المالتاز، ويمكن دراسة الخواص الإرجاعيَّة للسكريَّات باستخدام تفاعل فهلنغ أو بندكت. إنَّ إنزيم الأميلاز موجود في اللعاب ومحلول التخمُّر والبول.

أ- المواد المستخدَمة:

محلول اللعاب (يُمدَّد اللعاب بمقدار عشرة أضعاف حجمه من الماء المقطَّر)، محلول

النشاء (1%)، محلول اليود في يوديد البوتاسيوم، محلول فهلنغ أو بندكت.

ب- الأدوات المستخدَمة:

أنابيب زجاجيَّة، حمَّام مائي، ماصَّات زجاجيَّة، ترمومتر لضبط درجة حرارة 37°C الحمَّام المائي، دورق زجاجي، دورق عياري.

جـ- الإجراء التجريبي:

- أحضِر أربعة أنابيب اختبار ثمَّ قمْ بترقيمها من 1-4
- ضعْ في كلِّ أنبوب اختبار 1 مل من اللعاب الممدَّد.
- أضِف إلى كلِّ أنبوب من الأنابيب الأربعة 1 مل من محلول النشاء الممدَّد.
- ضعْ كلاً من أنابيب الاختبار في حمَّام مائي درجة حرارته 37°C مُدَّة 30 دقيقة.
- بعد أول عشر دقائق اخرج الأنبوب الأول والثاني بعد 15 دقيقة وأضِف إلى كلِّ أنبوب 2 مل من هيدروكسيد الصوديوم (1.5%) لإيقاف التفاعل.
- قمْ بإجراء تفاعل اليود وتفاعل فهلنغ على محتويات كلٍّ من الأنبوبين.
- قمْ بعد 20 دقيقة بإجراء اختبار فهلنغ واليود على الأنبوب الثالث بعد إيقاف التفاعل بإضافة 2 مل من هيدروكسيد الصوديوم.
- قمْ بعد 30 دقيقة بإجراء اختبار فهلنغ واليود على الأنبوب الرابع بعد إيقاف التفاعل بإضافة 2 مل من هيدروكسيد الصوديوم.
- لاحظ درجة الشفافيَّة للمحلول وسجِّل ملاحظاتك في دفتر العملي.

ملاحظة: من المفترض أن يكون تفاعل اليود سلبيَّاً وتفاعل فهلنغ إيجابيَّاً؛ وذلك بالتدريج من الأنبوب الأول وحتى الأنبوب الرابع

1- تفاعل اليود:

إنَّ هذا التفاعل خاص بالنشاء؛ إلا أنَّه سلبي مع السكريَّات الأحاديَّة والثنائيَّة. أمَّا مبدأ التفاعل فيعتمد على تفاعل شوارد اليود مع سلاسل جزيئة النشاء (الأميلوز)، لتتكوَّن

مُعقَّدات ذات لون أزرق.

أ- المواد المستخدَمة:

محلول النشاء، محلول اليود (يُحضَّر بإذابة 2 غ من يوديد البوتاسيوم في كميَّة من الماء ثمَّ يُذاب 1 غ من اليود ويُتمَّم الحجم الى 100 مل) .

ب- طريقة العمل:

يوضَع في أنبوب اختبار 3 مل من محلول النشاء ويُضاف إليها قطرة من محلول اليود، وعندما يُمزجان يلاحظ لون أزرق غامق يزول بالتسخين المعتدل ويعود بالتبريد.

2- تفاعل فهلنغ:

ترتبط قدرة الكربوهيدرات على الإرجاع بوجود مجموعة الألدهيد أو مجموعة الكيتون، ويمكن التمييز بين السكريَّات الأحاديَّة المرجِعة والنشاء (سكريَّات مُتعدِّدة) غير المرجِعة بتفاعل فهلنغ (راجع بحث السكريَّات).

أ- المواد والأدوات المستخدَمة:

محلول فهلنغ A ومحلول فهلنغ B، حمَّام مائي، ماصَّات زجاجيَّة، أنابيب زجاجيَّة، حمَّام مائي.

ب- طريقة العمل:

- امزج كميَّتين مُتساويتين من محلول فهلنغ A ومحلول فهلنغ B (1 مل لكلٍّ منهما
- أضِف 1 مل من المحلول المائي للمادَّة الكربوهيدراتيَّة (السكريَّة).
- سخِّن المحلول لدرجة الغليان مُدَّة دقيقة أو دقيقتين.
- إذا تكوَّن راسب أحمر من أوكسيد النحاسي كان هذا دليلاً على وجود مادَّة كربوهيدراتيَّة ذات قدرة على الإرجاع .
- يعطي هذا الاختبار نتيجة إيجابيَّة مع السكريَّات الأحاديَّة والثنائيَّة عدا السكروز؛ ولا يعطي مع عديدة التسكَّر (السكريَّات المتعدِّدة).

تجربة (9-2): تأثير تغيُّرات (pH) الوسط على نشاط إنزيم الأميلاز

أ- المبدأ النظري:

لكلِّ إنزيم درجة مُثلى من حموضة الوسط يبلغ عندها نشاطه الأقصى، وتنخفض فعاليَّة الإنزيم كلَّما ازدادت حموضة الوسط أو قلَّت عن القيمة المثلى. تؤثِّر حموضة الوسط على شحنة السلاسل الجانبيَّة للحموض الأمينيَّة الحامضيَّة أو القاعديَّة؛ خصوصاً على مستوى المركز الفعَّال للإنزيم فتتغيَّر بنيته، وبذلك يتأثَّر نشاط الإنزيم. إنَّ درجة الحموضة المثلى لإنزيم البيبسين هي ما بين 1.5-2.5، ولإنزيم الأميلاز اللعابي ما بين 6.8-7 ولإنزيم التربسين 7.8 ..... وهكذا.

أ- المواد المستخدَمة:

محلول اللعاب المخفف في الماء (1:100)، محلول النشاء (0.5%)، محلول اليود، محلول حامض الستريك (0.1 مول) ويُحضَّر بإذابة 19.2 غ من بلورات الحمض النقيَّة في لتر من الماء المقطَّر، محلول كلوريد الصوديوم (1%)، محلول فوسفات الصوديوم الحمضيَّة (0.2 مول)؛ ويُحضَّر بإذابة 36.6 غ من الملح المذكور في ليتر من الماء.

ب- الأدوات المستخدَمة:

حمَّام مائي، ميزان حراري، أنابيب اختبار زجاجيَّة، ماصَّات زجاجيَّة.

جـ- طريقة العمل:

نضع في خمسة أنابيب اختبار الكميَّات المحدَّدة في الجدول من محلول فوسفات الصوديوم الحامضيَّة ومحلول حامض الستريك لكي نحصل على محاليل درجة حموضتها تقع بين 5.6 و 8، ثمَّ يُضاف إلى كلِّ أنبوب 10 قطرات من محلول اللعاب المخفف (100:1) و 1 مل من محلول النشاء 0.5%. تُمزَج المحتويات بصورة جيِّدة.

نتائج التجربة

رقم الأنبوب	حجم محلول حامض الستريك	حجم محلول فوسفات الصوديوم الحامضيَّة	قيمة pH للمزيج
1	0.42	0.58	5.6
2	0.31	0.69	6.4
3	0.13	0.87	7.2
4	0.06	0.94	7.6
5	0.03	0.97	8

- توضعَ الأنابيب مُدَّة 10 دقائق في حمَّام مائي درجة حرارته $37^{o}C$.
- تُخرَج وتُبرَّد بسرعة
- يُضاف إلى كلٍّ منها قطرة من محلول اليود.
- يُرَجُّ المحلول.
- يُلاحظ ظهور لون بين الأصفر والأصفر الداكن للتعرُّف إلى درجة الحموضة المناسبة للفعل الإنزيمي على النشاء. تُدوَّن في دفتر العملي النتائج التي تمَّ الحصول عليها مع الملاحظات من قبل الطلاب القائمين بالتجربة.

أولاً– مقارنة بين تأثيري الأميلاز و السكراز:

أ– الأجهزة المطلوبة: ميزان حرارة– حمام مائي

تعتمد هذه التجربة على دراسة خواص انزيمين من انزيمات الحلمهة والمتخصصة بالغليكوزيدات (الأميلاز و السكراز). يتوسَّط الأميلاز تفاعلات حلمهة النشاء وأنواع مختلفة من الدكسترينات بينما يتوسط السكراز تفاعل حلمهة السكروز ليتشكل الغلوكوز و الفروكتوز.

يعتمد التفاعل المدروس (Thrommer reaction) على تشكُّل نواتج تفاعل تمتلك زمراً وظيفيَّة مختلفة (مجموعات كيتونيَّة ومجموعات ألدهيديَّة) وقابليَّة إرجاع الألدهيدات

للشوارد المعدنيَّة مثل Cu^{2+}؛ حيث يتمُّ في هذه الحالة الإرجاع أولاً إلى Cu^{+} على شكل راسب أصفر من CuOH وتالياً بالتسخين إلى راسب أحمر من Cu_2O.

ب- طريقة العمل:

يتمُّ تحضير أربعة أنابيب اختبار نظيفة وتُرقَّم من 1 وحتى 4

توضَع الأنابيب في حمام مائي درجة حرارته 38°C.

تُضاف المواد إلى الأنابيب الأربعة بحسب الجدول الآتي:

Nr	Starch	Sucrose	Amylase	Sucrase	Results of the Trommer reaction
1	10 drops		5 drops		
2	10 drops			5 drops	
3		10 drops	5 drops		
4		10 drops		5 drops	

تُترَك الأنابيب بدرجة الحرارة السابقة مُدَّة عشر دقائق.

توضَع الأنابيب السابقة في حمام مائي عند درجة الغليان ثمَّ تُضاف خمس نقاط من من NaOH 10% و نقطتان من $CuSO_4$ 1% ويُنتظَر حتى تشكُّل اللون الأصفر أو اللون الأحمر.

ملاحظة: لا تترك الأنابيب مُدَّة طويلة في الحمام المائي ولا تضِفْ كميَّة فائضة من كبريتات النحاس، لأنَّ أوكسيد النحاس الأسود CuO يمكن أن يغطِّي على النتيجة الايجابيَّة للتفاعل.

ثانياً– تحديد نسبة الغلوكوز في الدم بطريقة غلوكوز–أكسيداز:

أ– المبدأ النظري:

يعتمد مبدأ التجربة على أنَّ انزيم غلوكوز– أكسيداز يتوسَّط تفاعل أكسدة الغلوكوز إلى الغلوكونولاكتون الذي يتحلمه تالياً في الوسط الحمضي إلى حمض الغلوكونيك

بحسب التفاعل السابق تتشكَّل جزيئة واحدة من الماء الأوكسجيني والتي تتفكَّك بوساطة إنزيم البيروكسيداز لإعطاء جزيئة واحدة من الأوكسجين الوليد والتي تؤكسِد جزيئة أورثو تولويدين فتحوِّلها من مُركَّب عديم اللون إلى مركَّب أزرق فاتح أو أزرق غامق. إنَّ درجة اللون تحدِّد كميَّة الأوكسجين الوليد المتشكِّلة، وبالتالي كميَّة الغلوكوز في العيِّنة المدروسة. تُقاس الكثافة الضوئيَّة للعيِّنة المدروسة وتُقارن مع الكثافة الضوئيَّة لعيِّنة عياريَّة معروف فيها تركيز الغلوكوز بدقَّة.

ب– الأجهزة المطلوبة: مُثفِّلة– جهاز قياس امتصاصيَّة ضوئيَّة.

جـ– طريقة العمل:

ضع في انبوب مُثفِّلة 0.4 مل من $5\%ZnSO_4$ و 0.4 مل من NaOH عيارها (0.3N) يحتوي على 0.1 مل دم و 1 مل محلول فيزيولوجي. امزج بحذر محتويات الانبوب. ثفِّل مُدَّة 10 دقائق بسرعة 1500 دورة/ثانية من أجل ترسيب البروتينات الموجودة. انقل السائل الطافي بعد التثفيل إلى انبوب آخر.

خذ من السائل السابق 1 مل وانقلها إلى نبوب نظيف وأضِف اليه 3 مل من كاشف الغلوكوز (Glucose Reagent). يحتوي هذا الكاشف على انزيم الغلوكوز-أكسيداز و انزيم البيروكسيداز و أورثو تولويدين.

خلال 5 دقائق قس الامتصاصية الضوئية عند طول الموجة 670 n.m .

بنفس الوقت وبخطوات مشابهة حضر و قس امتصاصية المحلول العياري ولكن عوضاً عن تحضير العينة يوضع 0.1 مل من الغلوكوز بتركيز 5.5mM/L .

الحسابات:

تُحسَب كميَّة الغلوكوز الموجودة في العينة من العلاقة:

$$X = Dx.. 5.5/Dst$$

حيث إنَّ:

Dx : قيمة الامتصاصيَّة الضوئيَّة للعيِّنة المجهولة.

Dst : قيمة الامتصاصيَّة الضوئيَّة للعيِّنة العياريَّة.

ثالثاً- معايرة الأميلاز بطريقة Phadepase

أ- المبدأ النظري:

يقوم الأميلاز بحلمهة الروابط الغليكوزيدية α 1-4 في السكريات المتعدِّدة بصورة متتالية حتى الوصول إلى الناتج النهائي. في الواقع يتمُّ الحصول بالتدريج على مُركَّبات مختلفة من عديدات السكريدات (الدكسترينات) تتميَّز بأوزان جزيئيَّة مختلفة تتناقص بمرور الزمن وفي الوقت نفسه تزداد خاصيَّتها الارجاعيَّة.

يحلمه الأميلاز النشاء المعلَّق ويشكِّل القسم غير المحلمه من النشاء مع اليود مُعقَّداً أزرق اللون، وكلَّما كانت شدَّة اللون أقلَّ كلَّما كانت الفعاليَّة أكبر.

ب- الأجهزة المطلوبة: جهاز قياس امتصاصيَّة ضوئيَّة.

$$X = \frac{D_s - D_w}{D_s - D_{ss}} \cdot 100$$

الفصل التاسع

بعض التطبيقات العمليَّة

في التحليل الكروماتوغرافي

Some of applications in Chromatographic Analysis

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

بعض التطبيقات العمليَّة في التحليل الكروماتوغرافي

10-1- مُقدَّمة عامَّة

الكروماتوغرافيا هي طريقة لفصل المواد الكيميائيَّة وتنقيتها من مزائجها. نشأت فكرة الكروماتوغرافيا على يد عالم النبات الروسي تسفيت في العام 1906 عندما حاول فصل الصبغات النباتيَّة الملونة؛ وقد سمَّاها آنذاك التحليل الامتزازي الكروماتوغرافي Chromatographic Adsorption Analysis؛ أي الفصل اللوني والآن تُستخدَم هذه الطريقة بنجاح في فصل جميع المواد غير الملونة من مزائجها سواء الصلبة أو السائلة أو الغازية. فقد قام هذا العالم آنذاك بصنع عمود زجاجي ملأه بحبيبات كلوريد الكالسيوم وسكب مُستخلَص النبات وسكب فوقه مُحِلاً مناسباً، فلاحظ بعد مرور فترة من الزمن ظهور عدَّة مناطق مُلوَّنة في العمود. من هنا تمَّت ولادة كلمة الكروماتوغرافيا من الكلمة اليونانيَّة كروماتس؛ التي تعني التمايز اللوني. تطوَّر علم الكروماتوغرافيا بصورة سريعة فيما بعد، واستفادت من ذلك مُختلف فروع العلوم؛ ومنها الكيمياء الحيويَّة حتى أصبح في وقتنا الراهن من الصعب فصل أيِّ مزيج من المركَّبات الحيويَّة (بروتينات أو سكريدات أو ليبيدات. إلخ)؛ إلا باستخدام طرائق الفصل الكروماتوغرافيَّة المختلفة؛ حيث تفيدنا هذه الطرائق في الأمور الآتية:

1- إمكانيَّة فصل مزيج مُعقَّد من المواد المختلفة عن بعضها بوساطة طرائق بسيطة وسهلة وغير مُكلفة، ودراسة خواصها الفيزيائيَّة والكيميائيَّة.

2- فصل المواد المختلفة مهما كانت كميَّتها قليلة (بضع ميلي غرامات في الليتر).

3- تنقية المواد الحيويَّة والطبيَّة بصورة كاملة من الشوائب.

4- الحصول على مواد بتراكيز عالية من محلول مُمدَّد.

5- التحليل الكمّي لمزيج من المركّبات المختلفة.

يعتمد مبدأ التحليل الكروماتوغرافي بالدرجة الأساسيَّة على اختلاف القدرة الامتزازيَّة للمركّبات الكيميائيَّة، وعلى توزُّع المواد في مزائجها بين طورين هما:

1- الطور المتحرّك: (Mobile phase): يمارس هذا الطور فعل الطرد والتحريك؛ وهو إمَّا أن يكون سائلاً (الكروماتوغرافيا السائلة) أو غازاً (الكرماتوغرافيا الغازية).

2- الطور الساكن: (Stationary phase): يمارس هذا الطور فعل الاحتجاز والتأخير؛ وهو إمَّا أن يكون مادة صلبة أو غازية أو مُغطَّاة بطبقة من مادة بوليميريَّة تعطيها صفة ساكنة كالسيليكا او الألومينا (اوكسيد الألمنيوم

10-2- الفصل والتحليل الكروماتوغرافي

يعتمد مبدأ التحليل الكروماتوغرافي على اختلاف عامل الانتشار أو الامتصاص لمركّب كيميائي بين طورين؛ حيث يكون الطور الأول ثابتاً أو مُثبَّتاً على حامل؛ ويُدعَى الطور الثابت، و يكون الطور الثاني مُتحرّكاً؛ ويكون في العادة غازاً أو سائلاً مؤلَّفاً من مزائج عضويَّة أو غير عضويَّة. تعتمد سرعة انتشار أو توزُّع مُركّب كيميائي ما على مدى إلفته لكلٍّ من الطور الثابت والطور المتحرّك؛ فإن كان ميَّالاً للطور الثابت أكثر من الطور المتحرّك؛ فإنَّه يتأخَّر بعمليَّة الفصل (يخرج مُتأخِّراً)؛ و بالعكس إذا كان ميَّالاً للطور المتحرّك أكثر فإنَّه سيخرج أولاً وينفصل قبل غيره. اعتماداً على ذلك فإنَّ لكلِّ مُركّب كيميائي يخضع لعمليَّة الفصل الكروماتوغرافي عامل انتشار أو عامل امتزاز أو عامل توزُّع مُعيَّن يُرمز له بـ R_f؛ وهو حاصل تقسيم المسافة التي قطعها المركّب بدءاً من نقطة تحميله على المسافة التي قطعها المذيب والتي تُسمَّى جبهة المحل؛ وطبعاً فإنَّ حاصل القسمة هذا (R_f) دائماً أصغر من الواحد. وبالنتيجة فإنَّ عمليَّة الفصل الكروماتوغرافي تحتاج إلى طورين غير قابلين للامتزاج يُدعَى الطور الأول الطور الساكن و الطور الثاني الطور

المتحرِّك. يقوم الطور المتحرِّك بجرف الحلالات المختلفة، أما الطور الساكن فيقوم بدور التأخير؛ ما يؤدِّي إلى فصل مُكوِّنات المزيج عن بعضها.

10-3- تصنيف طرائق الفصل الكروماتوغرافي

تُصنَّف طرائق الفصل الكروماتوغرافي في ثلاث مجموعات أساسيَّة؛ حيث يعتمد التصنيف الأول على الظواهر المستخدَمة في عمليَّة الفصل، أما التصنيف الثاني فيعتمد على طبيعة الأطوار المستخدَمة، في حين يعتمد التصنيف الثالث على نوعيَّة وحدة الفصل.

9-3-1- التصنيف بحسب الظواهر المستخدَمة في عمليَّة الفصل

يحدث في العمليَّة الكروماتوغرافيَّة بصورة دائمة تأثيرٌ مُتبادَل بين المواد المراد فصلها (الحلالات) و الطور الساكن؛ و تبعاً لطبيعة التأثير نستطيع تقسيم الكروماتوغرافيا إلى عدَّة أنواع نذكر فيما يلي أهمَّها:

10-3-1-1- كروماتوغرافيا الامتزاز

تعتمد هذه الطريقة على مدى تعلُّق المادة المراد فصلها بسطح الطور الساكن، ويحدث الارتباط بسبب نشوء روابط هيدروجينيَّة أو من نوع قوى فاندرفالس أو كليهما معاً في مواقع مُعيَّنة من الطور الساكن. تتنافس مُركَّبات المزيج الكيميائي على شغل هذه المواقع؛ و بالتالي فإنَّ المركَّب الذي يُشكِّل قوَّة امتزاز أكبر مع الطور الساكن سيبقى لفترة أطول؛ ولكنَّه سيخرج في النهاية بسبب التنافس مع جُزيئات الطور المتحرِّك؛ والذي يُوجد بكميَّات كبيرة ويُمتَزُّ هو الآخر على مواقع الطور الساكن الفعَّالة. تُقسَم المواد المازَّة إلى نوعين أساسيين؛ هما المواد المازَّة اللا قطبية، مثل مسحوق الفحم المنشَّط والمواد المازَّة القطبيَّة، مثل أوكسيد الألمنيوم Al_2O_3 و أوكسيد السيليس SiO_2.

10-3-1-2- كروماتوغرافيا الانتشار أو (التوزُّع)

تعتمد هذه الطريقة على مبدأ التوزُّع أو التجزئة بين سائلين لا يمتزجان كلياً؛ وتتمُّ عملية الفصل نتيجةً لاختلاف انحلالية المركَّبات الكيميائية المكوِّنة للمزيج المراد فحصه، فالمركَّب الأكثر انحلالاً في الطور الساكن سيخرج آخراً. إنَّ ما يُميِّز هذه الطريقة هو أنَّ كلا الطورين المتحرِّك و الساكن عبارة عن سائل.

10-3-1-3- كروماتوغرافيا التبادل الشاردي

تُستخدَم هذه الطريقة لفصل المركَّبات القابلة للتشرُّد بعكس كروماتوغرافيا الامتزاز وكروماتوغرافيا التوزُّع اللتين تُستخدَمان لفصل المواد، وهي بحالتها الجزيئيَّة غير المتشرِّدة. تُستخدَم في هذه الطريقة المركَّبات الراتنجية كطورٍ ثابت وفي الآونة الأخيرة جرى استخدام السيليكا المطعَّمة بمجموعات وظيفيَّة قابلة للتشرُّد للغرض نفسه. تعتمد هذه الطريقة على التبادل الشاردي بين مُكوِّنات المزيج الكيميائيَّة و المواقع الفعَّالة الموجودة على سطح المادة الصلبة و المحمَّلة بزمر مُختلفة؛ و يعود ذلك إلى نوعيَّة الشوارد المراد فصلها؛ و لذلك فإنَّ الأطوار الثابتة في هذه الطريقة تُقسَم إلى قسمين أساسيين هما:

أ- طور ساكن ذو تبادل شاردي مصعدي: يقوم بالتبادل مع الشوارد الموجبة؛ وهو يُحمَّل عادةً بالوظائف الآتية: جذر حمض السلفونيل، الجذور الفينيليَّة.

ب- طور ساكن ذو تبادل شاردي مهبطي: يقوم بالتبادل مع الشوارد السالبة؛ وهو يُحمَّل عادةً بالوظائف الآتية: جذور الأمينات أو جذر السيانيد.

تجري عمليَّة الفصل وفق هذه الطريقة بحسب قوة الرابطة الشارديَّة؛ فكلَّما كانت أضعف كان خروج المركَّب الكيميائي مُتأخِّراً أكثر.

10-3-1-4- كروماتوغرفيا الزوج الشاردي

يُطبَّق هذا النوع من الكروماتوغرافيا على المركَّبات المتشرِّدة فقط. يُضاف في هذه الطريقة إلى المزيج الكيميائي المراد فصله مواد كيميائيَّة تُدعَى مُضادات التشرُّد؛ حيث ترتبط هذه المواد مع شوارد المركَّبات المراد فصلها، فتحوِّلها إلى الشكل غير المتشرِّد؛ يُطبَّق عليها بعد ذلك طريقة كروماتوغرافيا الامتزاز الخاصَّة بالمركَّبات غير المتشرِّدة. يُوجد مُضادات تشرُّد خاصَّة بالشوارد الموجبة تُدعَى مُضادات شارجبيَّة شارديَّة، و مُضادات خاصَّة بالشوارد السالبة تُدعى مُضادات شارسبيَّة شاردية. يُذكَر من المضادات الشارجبيَّة الشارديَّة على سبيل المثال كلّ من $RCOO^-$ و RSO_3^-؛ أمَّا المضادات الشارسبيَّة الشارديَّة فيُذكر منها R_4N^+، علماً بأنَّه يُوجد أنواعٌ أخرى من الفصل الكروماتوغرافي، مثل تبادل المرتبِطات والإلفة و الاستبعاد، و لكنَّها أقلُّ شيوعاً.

10-3-2- التصنيف بحسب طبيعة الأطوار المستخدَمة

يمكن أن ندرج تحت هذا التصنيف نوعين أساسيين من الكروماتوغرافيا هما الكروماتوغرافيا السائلة و الكروماتوغرافيا الغازيَّة.

10-3-2-1- الكروماتوغرافيا السائلة

يكون الطور المتحرِّك في هذا النوع من الكروماتوغرافيا عبارة عن سائل دوماً، وتُقسَم بحسب الطور الساكن إلى الأقسام الآتية:

أ- كروماتوغرافيا سائلة- سائلة: يكون الطور في هذا النوع من الكروماتوغرافيا سائلاً مُحمَّلاً على حُبيبات صلبة (كروماتوغرافيا التوزُّع).

ب- كروماتوغرافيا سائلة- صلبة: يكون الطور الساكن مُكوَّناً من حُبيبات صلبة، أو حُبيبات صلبة مُطعَّمة بمجموعات وظيفيَّة مختلفة.

جـ- كروماتوغرافيا سائلة-هلاميَّة: يكون الطور الساكن مادة هلاميَّة.

يجري الفصل في الكروماتوغرافيا السائلة بوساطة الأعمدة المحشوَّة والمصنوعة عادةً من مادة الستانلس ستيل؛ و التي تحتوي على حشوات مناسبة بحسب طريقة الفصل الكروماتوغرافي المراد إجراؤه.

تُعَدُّ الكروماتوغرافيا السائلة؛ خاصَّةً الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) من أوسع الطرائق انتشاراً في الآونة الأخيرة، نظراً لسهولة التعامل معها؛ و إمكانيَّة فصل عدد كبير جداً من المواد عليها بفترات قصيرة جداً لا تتجاوز الدقائق مع التحديد الكمّي للمركَّبات المفصولة بحساسيَّة كبيرة جداً. إضافةً إلى ذلك فإنَّ الكروماتوغرافيا السائلة يمكن تطبيقها على جميع أنواع طرائق الفصل الكروماتوغرافي إن كانت امتزازيَّة أو توزُّعيَّة، أو بوساطة التبادل الشاردي، أو بطريقة الزوج الشاردي..إلخ.

يتألَّف جهاز الكروماتوغرافيا السائلة من مِضخَّة مُجهَّزة بصمَّام أو أكثر يُضَخُّ من خلالها السائل (الطور المتحرِّك) ليمرَّ على عمود الفصل، و يخرج حاملاً معه المركَّبات المفصولة لتمرَّ على كاشف يحدِّد هويتها من خلال زمن الخروج وكميَّتها، بالمقارنة مع عيِّنة معياريَّة جرى حقنها سابقاً.

يُستخدَم في الكروماتوغرافيا السائلة أنواع عديدة من الكواشف للمساعدة في تحديد المركَّبات المفصولة، مثل مكشاف طيف الأشعَّة فوق البنفسجيَّة و المرئيَّة و طيف الفَلْوَرة و قياس الدوران النوعي. تُستخدَم هذه الكواشف بحسب مجموعة المركَّبات المراد فصلها؛ فالفيتامينات لها طيف امتصاص في مجال الأشعَّة فوق البنفسجيَّة والمرئيَّة؛ ولذلك يمكن استخدام النوع الأول من الكواشف لها، في حين لا تمتصُّ السكريدات في هذا المجال من الأشعَّة؛ ولذلك يُستخدَم من أجل التعرُّف إليها، وتحديدها النوع الأخير من الكواشف، فمن المعلوم أنَّ السكريدات تستطيع حرف الضوء المستقطب، وأنَّ شدَّة انحرافه تتناسب طرداً مع التركيز.

10-3-2-2- الكروماتوغرافيا الغازيَّة

يكون الطور المتحرِّك في هذا النوع من الكروماتوغرافيا عبارة عن غاز خامل، ويكون على الأغلب إمَّا غاز الهليوم أو غاز الآزوت؛ و بحسب طبيعة الطور الساكن تُقسَم إلى الأقسام الآتية:

أ- كروماتوغرافيا غازية- صلبة: يكون الطور الساكن فيها عبارة عن مادة صلبة؛ ويمكن أن تكون مُطعَّمة بزمر وظيفيَّة مُختلفة.

ب- كروماتوغرافيا غازية- سائلة: وفيها يكون الطور الساكن عبارة عن سائل مُشرَّب، أو مُحمَّل عليها سائل مُعيَّن يؤلف الطور الساكن الذي يكون مسؤولاً عن الاحتفاظ بمركَّبات المزيج الكيميائي بنسب متفاوتة؛ ما يؤدِّي إلى فصلها.

تُعَدُّ الكروماتوغرافيا الغازيَّة من الطرائق الكروماتوغرافيَّة واسعة الانتشار أيضاً، وهي تُطبَّق بصورة أساسيَّة على المركَّبات العضويَّة القابلة للتطاير؛ لأنَّ هذه الطريقة تعتمد على أنَّ المزيج المراد فصله يجب أن يكون على شكل غاز.

يتألَّف جهاز الكروماتوغرافيا الغازيَّة من حجيرة لتسخين العيِّنة المراد تحليلها وتحويلها إلى غاز، كما يتألَّف من مضخَّة أو أسطوانة تزود العمود بالغاز الحامل (الطور المتحرِّك)، وهو عبارة عن غاز خامل حصراً. يدخل هذا الغاز من الطرف الأول للعمود؛ حيث توجَد عيِّنة المزيج الكيميائي المراد فصله على شكل غاز؛ فيقوم بجرفها معه إلى داخل العمود، وهناك يتمُّ احتجاز مُكوِّناتها بنسب مُتفاوتة لتخرج في النهاية من الطرف الآخر للعمود و الموصول مع كاشف مناسب يُحدِّد هويتها بحسب زمن الخروج، كما يُحدِّد كميَّتها بالمقارنة مع عيِّنة عياريَّة معلومة التركيز جرى حقنها سابقاً. يُستخدَم في الكروماتوغرافيا الغازية أنواع عديدة من الكواشف لتحديد المركَّبات المفصولة؛ ومن أشهر هذه الكواشف كاشف طيف اللهب التأيُّني الذي يصلح لكشف جميع المركَّبات العضويَّة.

10-3-2-3- مقارنة ما بين الكروماتوغرافيا السائلة والغازيَّة

تُعَدُّ الكروماتوغرافيا الغازيَّة ذات حساسيَّة عالية جداً مُقارنةً مع الكروماتوغرافيا السائلة؛ كما أنَّها تحتوي على كاشف عام لجميع المواد العضويَّة (كاشف اللهب التأيُّني). و بالرغم من ذلك فإنَّ الكروماتوغرافيا السائلة أوسع انتشاراً، نظراً للأسباب الآتية:

أ- تحتاج الكروماتوغرافيا الغازيَّة إلى تبخير المواد المراد فصلها، ويكون هذا صعباً في كثير من الأحيان بسبب صعوبة تبخير هذه المواد أو إمكانيَّة تخرُّبها بالحرارة.

ب- إمكانيَّة تغيير الأطوار المتحرِّكة في الكروماتوغرافيا الغازيَّة محدود جداً، بينما تكون هذه الإمكانيَّة مفتوحة ومُتعدِّدة الخيارات عند استخدام الكروماتوغرافيا السائلة.

10-3-3- التصنيف بحسب نوعيَّة وحدة الفصل

يمكن تحت هذا التصنيف إدراج نوعين أساسيين من الكروماتوغرافيا؛ هما كروماتوغرافيا الأعمدة و الكروماتوغرافيا المستوية.

10-3-3-1- كروماتوغرافيا الأعمدة

تُقسَم الأعمدة المستخدَمة في العمليَّة الكروماتوغرافيَّة إلى نوعين أساسيين، هما:

أ- الأعمدة المعبَّأة أو المحشوَّة: هي عبارة عن أعمدة مصنوعة من المعدن غالباً، و على وجه الخصوص من الستانلس ستيل محشوَّة بطور ساكن بحسب نوع الكروماتوغرافيا المراد إجراؤها. تبلغ أطوال هذه الأعمدة من 1سم و حتى 50 سم، و أما الأقطار فتبلغ من 2.1 ملم و حتى 4.6 ملم، و تُستخدَم هذه الأعمدة في الكروماتوغرافيا السائلة.

ب- الأعمدة الفارغة: هي عبارة عن أنبوب شعري يُلبَّس جداره الداخلي بالطور الساكن، و هي تُصنَع عادةً من الزجاج و تمتاز بطولها الكبير؛ و لذلك تُصنَع على شكل حلزون. تبلغ أطوال هذه الأعمدة من 10 م و حتى 100 م، أمَّا أقطارها فتبلغ نحو 0.3 ملم. و تُستخدَم هذه الأعمدة في الكروماتوغرافيا الغازيَّة.

10-3-3-2- الكروماتوغرافيا المستوية

يتضمَّن هذا النوع من الكروماتوغرافيا تقنيتين أساسيتين، هما الكروماتوغرافيا الورقيَّة و كروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة؛ و من الجدير بالذكر أنَّ كلاً من كروماتوغرافيا الأعمدة و كروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة تندرج تحت الكروماتوغرافيا السائلة؛ نظراً لاستخدامها أطواراً مُتحرِّكة سائلة.

10-3-3-2-1- الكروماتوغرافيا الورقيَّة

الكروماتوغرافيا الورقيَّة هي من الطرائق المميَّزة للكروماتوغرافيا الانتشاريَّة (التوزُّعية)، يكون الطور الثابت فيها عبارة عن السليلوز ويكون الطور المتحرِّك مزيجاً من المحلات العضويَّة و الماء. يمكن أن تحصل الكروماتوغرافيا الورقيَّة بطور واحد أو بطورين؛ ففي كروماتوغرافيا الطور الواحد يمرُّ الطور المتحرِّك غير القطبي عادةً في مساحات الورقة الكروماتوغرافيَّة الحاوية على الماء (حوالي 7%)؛ و لذلك تكون الآليَّة الكروماتوغرافيَّة انتشاريةً أو توزُّعيَّة. يمكن في الكروماتوغرافيا ثنائيَّة الطور استخدام طور أكثر قطبيَّة من الطور الأول بعد نزع الورقة و سحبها من الطور الأول، و تُستخدَم هذه الطريقة من أجل تحسين عمليَّة فصل مُركَّبات المزيج عن بعضها. لإنجاز عمليَّة الكروماتوغرافيا الورقيَّة بنجاح يجب اتباع الخطوات الآتية:

1- اختيار نوع الورق ومعالجته وقصُّ الأطوال المطلوبة التي توافق الوعاء الزجاجي المخصَّص لعمليَّة الفصل.

2- اختيار الطور الناقل وتحضيره، ثمَّ وضعه في وعاء الفصل؛ بحيث لا يتجاوز ارتفاعه ثلاثة سنتيمترات..

3- يُرسَم خطٌ يبعد سنتيمترين عن طرف الورقة، و يُعلَّم بدوائر صغيرة، قطر الواحدة نحو ميليمترين، و تبعد كلُّ دائرة عن الأخرى مسافة سنتيمترين و عن الحواف مسافة ثلاثة سنتيمترات ونصف.

4- تُحضَّر التراكيز المطلوبة من العيِّنات و المحاليل المعياريَّة.

5- تُوضَع الورقة الكروماتوغرافيَّة بشكل أفقي؛ بحيث يكون تحت الخط المرسوم فارغاً، ثمَّ تُحمَّل العيِّنات و المحاليل المعياريَّة على الدوائر المرسومة و المعلَّمة؛ بحيث يُحمَّل في كلِّ مرة محلول واحد؛ و ننتظر حتى تجفَّ البقعة الناتجة فنبدأ بتحميل البقعة التالية، وهكذا.

6- يتمُّ وضع الورقة الكروماتوغرافيَّة في وعاء الفصل؛ بحيث يكون مستوى السائل (الطور الناقل) يبعد حوالي سنتيمتر واحد عن الخطِّ المرسوم.

7- يُغلَق وعاء الفصل بإحكام و يُترَك حوالي 20-40 ساعة بحسب نوع التجربة.

8- تُسحَب الورقة الكروماتوغرافيَّة في نهاية التجربة بحذر، و يُعلَّم خط النهاية، وتُترَك لتجفَّ تحت الساحبة.

9- يتمُّ إظهار الورقة الكروماتوغرافيَّة باستخدام الأشعَّة فوق البنفسجيَّة، أو باستخدام مُظهِر مناسب تُبخُّ به الورقة الكروماتوغرافيَّة فتتلوَّن البقع بألوان مُميَّزة.

10- تُقاس المسافة التي قطعها المحِل و المسافة التي قطعتها كلُّ مادة، ثمَّ يُحسَب عامل التوزُّع لكلِّ مادة؛ حيث يُعطى عامل التوزُّع R_f بالعلاقة الآتية:

$$R_f = \frac{X}{Y}$$

حيث إنَّ:

X : المسافة التي قطعتها المادة.

Y: المسافة التي قطعها المحِل.

تحصل عمليَّة تمرير الطور المتحرِّك عبر الورقة الكروماتوغرافيَّة بطريقتين؛ حيث تتمُّ الطريقة الأولى تحت تأثير الخاصَّة الشعرية، أما الطريقة الثانية فتُجرَى تحت تأثير قوى الجاذبيَّة الأرضيَّة. تُسمَّى العمليَّة في الحالة الأولى الكروماتوغرافيا الورقيَّة الصاعدة، و في الحالة الثانية الكروماتوغرافيا الورقيَّة الهابطة.



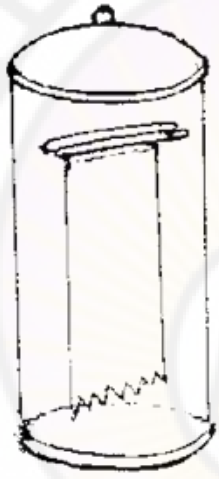
الشكل (10-1): شكل الورقة الكروماتوغرافيَّة قبل و بعد العمليَّة الكروماتوغرافيَّة

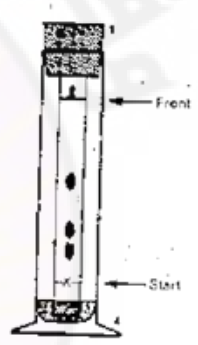
أ- الكروماتوغرافيا الورقيَّة الهابطة:

يُغمَس في هذه الطريقة الطرف العلوي للورقة الكروماتوغرافيَّة في الطور المتحرِّك؛ فتؤثِّر قوى الثقل في هبوط المحِل العضوي الذي يحمل المركَّبات العضويَّة المراد فصلها، و بحسب قدرة هذه المركَّبات على الانحلال في الطور الساكن (الماء) أو المتحرِّك تُجرَى عمليَّة الفصل. تحتاج الكروماتوغرافيا الورقيَّة الهابطة إلى وعاء زجاجي مُجهَّز بغطاء و بفتحة مُناسبة لتثبيت الورقة الكروماتوغرافيَّة، و يحمل خزاناً مُقاوِماً للصدأ في الأعلى لينساب منه الطور المتحرِّك عبر الورقة الكروماتوغرافيَّة.

ب- الكروماتوغرافيا الورقيَّة الصاعدة:

تحدث عمليَّة الانتشار أو التوزُّع في هذا النوع من الكروماتوغرافيا تحت تأثير الخاصَّة الشعرية؛ حيث يتمُّ صعود الطور المتحرِّك إلى الأعلى حاملاً معه المركَّبات العضويَّة المراد فصلها. يتألَّف جهاز الكروماتوغرافيا الورقيَّة الصاعدة من وعاء زجاجي ذي أبعاد مناسبة؛ بحيث تتَّسع الورقة الكروماتوغرافيَّة فيه دون أن تلمس جوانبه، ومُجهَّز بغطاء يمكن إدخال و تثبيت الورقة الكروماتوغرافيَّة.





الشكل (9- 2): أوعية الفصل للكروماتوغرافيا الصاعدة على اليمين والهابطة على اليسار

10-3-3-2-2- الفصل الكروماتوغرافي بتقنيَّة الكروماتوغرافية الورقيَّة

تجربة (10-1): فصل مزيج من السكريَّات بطريقة الكروماتوغرافيا الورقيَّة الصاعدة

سنقوم في هذه التجربة بفصل مزيج من أربعة أنواع من السكَّريَّات عن بعضها.

أ- المواد والأدوات اللازمة: أرابينوز، رامنوز، غالاكتوز، فركتوز، بوتانول، حمض الخل، ماء، ريزورسين، غول إيتيلي، حمض كلور الماء (1N)، وعاء زجاجي مُخصَّص للفصل

بطريقة الكروماتوغرافيا الورقيَّة الصاعدة، جهاز بخ، فرن، ورقة كروماتوغرافية بطول 50 سنتيمتراً.

ب- الإجراء التجريبي:

قُصَّ الورقة الكروماتوغرافيَّة بحسب عدد النقاط التي تريد تحميلها؛ بحيث تكون المسافة بين كلِّ نقطتين نحو سنتيمترين، وبحيث يبعد خط البداية عن طرف الورقة مسافة لا تقلُّ عن سنتيمترين. علِّم النقاط المطلوبة ثمَّ حمِّل المحاليل المعياريَّة؛ وهي (1%) من كلٍّ من الأرابينوز و الرامنوز والغالاكتوز والفركتوز في الماء. حمِّل المجهول على النقطة الأخيرة؛ بحيث تكون كميَّة السائل المحمَّلة حوالى 2µl. انتظر حتَّى تجفَّ النقاط المحمَّلة وضعها في الجهاز المخصَّص بهدوء؛ بحيث لا تلمس حوافها جدران الوعاء، وبحيث يبعد مستوى السائل في الحوض حوالي سنتيمتر واحد عن خط البداية. يتألف السائل الموجود في قعر الحوض (الطور المتحرِّك) من حمض الخل والبوتانول والماء بنسبة (5:4:1)، ويُحضَّر كما يلي:

يُمزَج 400 مل من البوتانول مع 100 مل من حمض الخل الثلجي و 500 مل من الماء مُقطَّر، ثمَّ يُرجُّ المزيج في قمع فصل و يُترَك ليرقد فنحصل على طبقتين؛ طبقة سفليَّة وطبقة علويَّة، نحتفظ بالطبقة العلويَّة. إذا كان المحلول غير صاف نضيف بضع قطرات من حمض الخلّ الثلجي حتى نحصل على محلول صاف.

تستمرُّ عمليَّة الفصل حوالي العشرين ساعة، تُسحَب بعدها الورقة بهدوء وتُجفَّف بالهواء تحت ساحبة الهواء لطرد جميع المحاليل، ثمَّ تُبخُّ بمظهِر الريزورسين المحضَّر كما يلي:

أضِف إلى 10 مل من محلول الريزورسين (1%) في الغول الإيتيلي 90 مل من حمض كلور الماء (1N). جفِّف الورقة الكروماتوغرافيَّة لمدَّة 10 دقائق عند الدرجة 85-90°C، ولاحظ تشكُّل الألوان للسكريَّات المختلفة. يعطي الأرابينوز لوناً أزرق والرامنوز لوناً

أصفر والغالاكتوز لوناً رماديّاً؛ بينما يعطي الفركتوز لوناً أحمر على سطح وردي. حدِّد السكريّات الموجودة في المجهول؛ ثمَّ احسب قيمة R_f لها.

10-3-3-2-3- كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة

إنَّ كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة هي في الأصل إحدى طرائق الكروماتوغرافيا الامتزازيَّة، وتتألَّف من طبقة مازَّة ومسحوقة بصورة جيِّدة ومُتجانسة ومُحمَّلة على صفائح زجاجيَّة أو معدنيَّة أو بلاستيكيَّة؛ ويمكن أن نعدَّ هذه الصفيحة كعمود كروماتوغرافي مفتوح. جرى في السنوات الأخيرة تطعيم الطبقة المازَّة (الطور الساكن) بأنواع مُختلفة من المرتبطات؛ بحيث أمكن إجراء الأنواع المختلفة من الكروماتوغرافيا، فمثلاً يمكن استخدام الآليَّة الامتزازيَّة أو التوزُّعيَّة أو التبادل الشاردي أو الزوج الشاردي، أو جميعها معاً في عمليَّة الفصل المطلوبة. تُستخدَم تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة في السنوات الأخيرة بصورة واسعة عوضاً عن الكروماتوغرافيا الورقيَّة؛ ويعود ذلك إلى الأسباب الآتية:

أ- يتمُّ الفصل بسرعة وبمدَّة زمنية أقصر بكثير.

ب- تُعَدُّ كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة حسَّاسة جداً للشوائب؛ بحيث يمكن استخدامها لتحديد نقاوة المواد.

جـ- تُستخدَم في هذه الطريقة مواد بكميَّات أقلَّ من الكروماتوغرافيا الورقيَّة.

يتألَّف جهاز كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة من وعاء زجاجي ذي حجم مناسب، ومُجهَّز بغطاء مُحكَم. يحتوي الوعاء على حوض صغير مُخصَّص للطور المتحرِّك، وتُوضَع الصفيحة الكروماتوغرافيَّة فيه بشكلٍ مائل، لتستند في الأعلى على جداره (الشكل 10-3). تُحضَّر الصفائح الكروماتوغرافيَّة في المختبَر بمدِّ الطبقة المازَّة فوق الصفيحة المطلوبة، ثمَّ تُنشَّط الصفيحة الناتجة بوضعها في الفرن بدرجة الحرارة $(105^{\circ}C)$ عدَّة ساعات؛ ولكن مع التطوُّر التقني الحاصل في هذا النوع من عمليَّات الفصل، أصبح هناك أنواع عديدة من الصفائح الكروماتوغرافيَّة الجاهزة والمغطَّاة بالأنواع المختلفة من الطبقات المازَّة أو

المطعَّمة؛ فهناك الصفائح المحمَّلة بالسليلوز أو بأوكسيد الألمنيوم أو بهلام السيليس، ومُطعَّمة بزمر وظيفيَّة مُختلفة من أجل إنجاز العمليَّة الكروماتوغرافيَّة المطلوبة.



الشكل (10-3): أوعية الفصل الكروماتوغرافي بتنقيَة الطبقات الرقيقة

يجري التحضير للتجربة الكروماتوغرافيَّة بتقنيَّة الطبقات الرقيقة بالطريقة نفسها الواردة في الكروماتوغرافيا الورقيَّة؛ حيث تُعامل الصفيحة الكروماتوغرافيَّة؛ ثمَّ توضَع في الوعاء المخصَّص للفصل الكروماتوغرافي، ويتمُّ الانتظار حتى بلوغ الطور المتحرِّك ارتفاعاً مُناسباً، وبعدئذ تُجفَّف الصفيحة الكروماتوغرافية؛ ثمَّ نُطبِّق عليها عمليَّة الإظهار، باستخدام الأشعَّة فوق البنفسجيَّة أو مُظهِر مناسب.

تُحدَّد في النهاية قيم R_f للمركَّبات المدروسة ومدى نقاوة العيِّنات المدروسة.

10-3-3-2-4- الفصل بتقنيَّة كروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة

تجربة (10-2): فصل مزيج من الغلوكوز والغالاكتوز واللاكتوز

أ- المواد و الأدوات اللازمة:

غالاكتوز، غلوكوز، لاكتوز، ماء مُقطَّر، ميتانول، بروبانول، كاشف التيمول، صفيحة مغطاة بملام السيليس الحاوي على 13% من وزنه كبريتات الكالسيوم، وعاء زجاجي للفصل بطريقة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة، زجاجة بخ، مسطرة، قلم رصاص، مِحقن ميكروئي.

* **تحضير كاشف التيمول:** يُحلُّ 0.5 غرام من التيمول في مزيج مؤلَّف من 5 مل من حمض الكبريت المركَّز و 95 مل من الغول.

ج- الإجراء التجريبي:

حضِّر مزيجاً من الماء والميتانول (2:3) واستخدمه لتحضير محاليل كلٍّ من الغلوكوز والغالاكتوز واللاكتوز بتركيز 50mg/100ml لكلِّ سكر.

حضِّر مزيجاً من السكريات الثلاثة بالتركيز نفسه (50mg/100ml) لكلِّ سكر. جهِّز الصفيحة الكروماتوغرافية وعلِّم عليها النقاط الثلاثة المطلوبة؛ ثمَّ حمِّل عليها المحاليل المعياريَّة للسكريَّات المختلفة ومحلول المزيج الذي يعتمد هنا كمجهول (حوالى 2 ميكروليتر من كلِّ محلول). انتظر حتى تجفَّ النقاط المحمَّلة ثمَّ ضع الصفيحة في الحوض الزجاجي المخصَّص للكروماتوغرافيا بتقنية الطبقة الرقيقة؛ والذي يحتوي على مزيج من الماء والبروبانول بنسبة (85:15). انتظر حتى يبلغ ارتفاع السائل في الصفيحة مستوىً مناسباً، ثمَّ انزع الصفيحة وضعْها في تيار من الهواء الدافئ حتى تجفَّ. بُخَّ الصفيحة بكاشف التيمول المحضَّر حديثاً؛ ثمَّ سخِّنها حتى درجة الحرارة 130^oC لمدَّة عشر دقائق

ولاحظ البقع المتشكِّلة، واحسب قيم R_f للسكريَّات المختلفة. سجِّل النتائج التي حصلت عليها في جدول واحتفظ بالكروماتوغرام.

تجربة (10-3): فصل مزيج من الفركتوز والغلوكوز واللاكتوز والسكروز

أ- المواد والأدوات اللازمة:

فركتوز، غلوكوز، لاكتوز، سكروز، ماء مُقطَّر، ميتانول، حمض الخل الثلجي، كلور الإيتيلين، كاشف التيمول، وعاء كروماتوغرافي، زجاجة بخ، مسطرة، قلم رصاص، مِحقن مكروئي، صفيحة مُغطَّاة بملام السيليس الحاوي على 13% من وزنه كبريتات الكالسيوم.

ج- الإجراء التجريبي:

حضِّر مزيجاً من الماء والميتانول بنسبة (3:2) واستخدمه من أجل حلِّ كلٍّ من الفركتوز واللاكتوز والغلوكوز والسكروز بتركيز 50mg/100ml. علِّم النقاط التي حُمِّلت عليها المحاليل المعياريَّة للسكريَّات الأربعة؛ ثمَّ حمِّل على النقطة الأخيرة المحلول المجهول (حمِّل حوالي 2 مل ميكروليتر من كلِّ محلول). انتظر حتى تجفَّ النقاط ثمَّ ضع الصفيحة في الحوض الذي يحتوي على مزيج مؤلَّف من كلور الإيتيلين- حمض الخل الثلجي- ماء بنسبة (1:2.5:5). انتظر حتى يبلغ ارتفاع السائل مستوىً مناسباً، ثمَّ اسحب الصفيحة بهدوء وجفِّفها بتيار من الهواء الدافئ. بُخَّ الصفيحة بمحلول التيمول المحضَّر حديثاً؛ ثمَّ سخِّنها للدرجة 130^oC لمدَّة عشر دقائق ولاحظ لون البقع المتشكِّلة. احسب قيم R_f للسكريَّات المختلفة وسجِّل النتائج التي حصلت عليها واحتفظ بالكروماتوغرام.

ملاحظة:

يمكن استخدام الطريقة السابقة نفسها لفصل مزيج من الفركتوز والغلوكوز والكسيلوز.

تجربة (10-4): تحديد بعض أنواع الزيوت من خلال فصل مُركَّباتها بطريقة كروماتوغرافيا الطبقات الرقيقة

أ- المواد والأدوات اللازمة:

زيوت نباتيَّة مختلفة (مثل زيت الزيتون، زيت الصويا، زيت عباد الشمس، زيت الذرة)، ثنائي كلورالميتان، إيتر، حمض الخل الثلجي، أسيتون، حمض الفوسفور، غول إيتيلي، صفيحة من هلام السيليس المطعَّم بزمر وظيفيَّة من أوكتاديسيل سيلان (Octadecylsilane)، وعاء كروماتوغرافي مناسب، زجاجة بخ، مسطرة، قلم رصاص، مِحقن ميكروئي.

ب- الإجراء التجريبي:

خذْ حوالى نقطة واحدة من كلٍّ زيت وحُلَّها في حوالي 3 مل من ثنائي كلور الميتان. علِّم مكان النقاط؛ ثمَّ حمِّل عليها محاليل الزيوت المختلفة و المحلول المجهول (حوالي 1 ميكرو ليتر من كلٍّ محلول). دع النقاط حتى تجفَّ ثمَّ ضع الصفيحة في حوض يحوي 0.5 مل من الإيتر. انزع الصفيحة واغمسها في حوض يحتوي على 8 مل من مزيج مؤلَّف من ثنائي كلور الميتان- حمض الخل الثلجي- الأسيتون (5:4:2). أعِد العمليَّة مرَّةً أخرى، واسحب الصفيحة بهدوء، ودعها حتى تجفَّ؛ ثمَّ بُخَّها بمحلول حمض الفوسفور في الإيتانول (10%). سخِّن الصفيحة لدرجة الحرارة $130^{o}C$ لمدَّة ثلاث دقائق، ثمَّ افحصها في ضوء النهار وقارن البقع الناتجة من كلٍّ زيت مع البقع الناتجة من محلول المجهول؛ واستنتج نوع الزيت الذي يحتوي عليه المحلول.

تجربة (10-5): فصل بعض مزائج الفيتامينات المنحلَّة في الماء

أ- المواد و الأدوات اللازمة:

وعاء كروماتوغرافي، جهاز للأشعَّة فوق البنفسجيَّة يقيس بطول موجة 254 نانومتر و 365 نانومتر، مسطرة، قلم رصاص، صفيحة هلام السيليس المفلوَر عند طول الموجة

254 نـانومتر ($Silicagel60F_{254}$)، مـاء مُقطَّـر، ميتـانول، فوسـفات البوتاسـيوم الأحاديَّة، الملح الصوديومي لإيتيلين ثنائي أمين رباعي حمض الخلّ (EDTA فيتامين C، فيتامين B_1، فيتامين B_2، فيتامين B_6.

ب- الإجراء التجريبي:

حضِّر المحاليل المعياريَّة للفيتامينات في الماء كما يلي: فيتامين C (2%)، فيتامين B_1 (2%)، فيتامين B_2 (0.02%) و فيتامين B_6 (0.2%).

علِّم مكان النقاط ثمَّ حمِّل عليها المحاليل المعياريَّة والمحلول المجهول (حوالى 2 ميكروليتر لكلّ محلول). انتظر حتى تجفَّ النقاط المحمَّلة؛ ثمَّ ضع الصفيحة في الوعاء الكروماتوغرافي الذي يحتوي على مزيج مُؤلَّف من 60 حجماً من الميتانول، و 40 حجماً من محلول مائي يحتوي على 14% من فوسفات البوتاسيوم الأحاديَّة، و 0.5% من الملح الصوديومي لإتيلين ثنائي أمين رباعي حمض الخلّ. انتظر حتى يبلغ السائل ارتفاعاً مناسباً على الصفيحة الكروماتوغرافيَّة (حوالي 0.5 سم عن طرف الصفيحة)، واسحب الصفيحة بهدوء وجفِّفها بتيار من الهواء، ثمَّ افحصها تحت الأشعَّة فوق البنفسجيَّة عند طولي الموجة 254 نانومتر و 265 نانومتر. حدِّد البقع بواسطة قلم الرصاص ثمَّ اسحب الصفيحة؛ وحدِّد المركَّبات الموجودة في المحلول المجهول واحسب قيم R_f لها.

سجِّل الكروماتوغرام والنتائج.

تجربة (10-6): التحديد الكيفي لبعض أشكال الفيتامين A

أ- المواد و الأدوات اللازمة:

جهاز قياس بالأشعَّة فوق البنفسجيَّة عند طولي الموجة 254 و 365 نانومتر،جهاز بخ، صفيحة هلام السيليس G (هو عبارة عن نوع من هلام السيليس الحاوي على 13% من وزنه كبريتات الكالسيوم)، فيتامين A، حلقي الهكسان، إيتر، ثلاثي كلور الأنتيموان، إيتانول، كبريتات الصوديوم اللامائيَّة.

ب- الإجراء التجريبي:

حُلَّ وزناً مُحدَّداً من الفيتامين A في حلقي الهكسان؛ بحيث تحصل على محلول تركيزه 5000 وحدة دوليَّة/ملم، ثمَّ حمِّل 2 ميكروليتر من المحلول الناتج على الصفيحة الكروماتوغرافيَّة. انتظر قليلاً حتى تجفَّ البقعة المتشكِّلة؛ ثمَّ ضع الصفيحة الكروماتوغرافيَّة في وعاء الفصل الذي يحتوي في حوضه على الطور المتحرِّك، والمؤلَّف من حلقي الهكسان-الإيتر (2:8). انتظر حتى يبلغ السائل مستوىً مُناسباً، ثمَّ اسحب الصفيحة بهدوء و دعها تجفُّ في الهواء؛ ثمَّ افحصها تحت الأشعَّة فوق البنفسجيَّة عند طولي الموجة 254 و 365 نانومتر؛ ولاحظ وجود ثلاث بقع تعود إلى الرتينول أسيتات والرتينول بروبيونات والرتينول باليتات. احسب قيمة R_f لكلٍّ من الأشكال السابقة للفيتامين A.

خذ الكروماتوغرام الجاف وبخِّه بمحلول كلور الأنتيموان المحضَّر كما يلي:

يُغسَل 30 غرام من كلوريد الأنتموان بوساطة 15 مل من الغول النقي مرتين، ثمَّ يُحَلُّ الباقي بسرعة في 100 مل من الغول النقي في زجاجة عاتمة؛ ويُضاف بضع بلورات من كبريتات الصوديوم اللامائيَّة كماص للرطوبة، ثمَّ يُنتظَر حتى يجفَّ الكروماتوغرام؛ وتُلاحَظ البقع الزرقاء العائدة للأشكال المختلفة للفيتامين A.

تحضير الكواشف

*** مُشعِر برتقالي الميتيل Methyl orange**

يُحضَّر برتقالي الميتيل بحلّ نصف غرام (0.5g) من ملح الصوديوم لهذا المشعِر في ليتر من الماء الساخن. عند إجراء المعايرات ينبغي تجنُّب استخدام كميَّات كبيرة من هذا المشعِر، لأنَّه في مثل هذه الشروط يصبح من الصعوبة بمكان ملاحظة تغيُّر اللون؛ لذلك يكفي إضافة مابين قطرة إلى قطرتين (1-2 drops) من هذا المشعِر إلى (20 mL) من المحلول المفحوص.

*** مُشعِر الفينول فتالئين Phenolphthalein:**

يُحضَّر الفينول فتالئين بحلّ نصف غرام منه في نصف ليتر من الكحول، ثمَّ يُضاف إلى ذلك نصف ليتر من الماء.

*** مُشعِر أحمر الميتيل Methyl red**

يجري تحضير أحمر الميتيل على شكل محلول ذي تركيز (0.2%) في الغول الإيتيلي (90%).

*** مُشعِر أزرق البروموتيمول Bromothymol blue:**

يُحضَّر بحلّ غرام واحد من المشعِر في ليتر واحد من الكحول، تركيزه (20%)

*** كاشف موليش:**

يُحضَّر كاشف موليش بحلّ 10 غرام من α- نفتول في 100 مل من الكلوروفورم أو الغول الإيتيلي.

*** كاشف التيمول:**

يُذاب 5 غرامات من التيمول في 100 ميلي ليتر من الإيتانول (95%).

*** كاشف الأنثرون:**

يُحَلُّ 0.02 غ من الأنثرون في 100 مل من حمض الكبريت ذي التركيز (70%).

*** كاشف سليفانوف:**

يُذاب 0.01 غ من الريزورسين في 20 مل من حمض كلور الماء (20%) المحضَّر حديثاً.

*** كاشف روثنفوزر:**

يُؤخَذ 20 مل من محلول (10%) ثنائي فينيل أمين في الإيتانول (95%) و يُضاف إليه 80 مل من حمض الخل الثلجي و 100 مل من حمض كلور الماء المركَّز.

*** كاشف بيال:**

يُحلُّ 1.5 غ من الأورسين في 500 مل من حمض كلور الماء المركَّز، ويُضاف إلى المحلول الناتج 10 نقاط من كلور الحديد (10%)؛ وذلك من أجل زيادة حساسيَّة التفاعل. يُحضَّر محلول كلور الحديد (10%) بإذابة 1 غ من كلور الحديد $FeCl_3$ النقي في 10 مل من الماء المقطَّر.

*** خلات الأنيلين:**

يُضَاف 70 مل من حمض الخلّ الثلجي إلى 170 مل من الماء المقطَّر؛ ثمَّ يُضاف إلى المزيج 100 مل من الأنيلين ويُمزَج جيداً.

*** كاشف تولنز:**

يُحضَّر بحلّ 3 غ من نترات الفضة في 30 مل من الماء المقطَّر (المحلول A)، و بحَلّ 3 غ من الصود الكاوي NaOH في 30 مل من الماء المقطَّر (المحلول B). يُخلَط المحلولان (A و B) فقط عندما نريد استعمال الكاشف؛ ثمَّ يُضاف هيدروكسيد الأمونيوم قطرةً فقطرة حتى الانحلال التام لأوكسيد الفضة.

* **كاشف فهلنغ (A+B)**: يتكوَّن كاشف فهلنغ من محلولين هما المحلول A والمحلول B، يُمزجان مع بعضهما بنسب مُتساوية، يتمُّ حفظهما بصورة مُستقلَّة إلى حين الاستعمال.

* **المحلول A**: يُذاب 3.46 غ من كبريتات النحاس المائيَّة ($CuSO_4.5H_2O$) في كميَّة من الماء المقطَّر، ثمَّ يُتمَّم الحجم إلى 50 مل.

* **المحلول B**: يُذاب 7 غ من هيدروكسيد الصوديوم و 17.3 غ من طرطرات الصوديوم و البوتاسيوم (ملح روشل) في كميَّة من الماء المقطَّر، ثمَّ يُتمَّم إلى 50 مل.

* **كاشف بندكت:**

يُحَلُّ 86.5 غ من ليمونات الصوديوم (سيترات الصوديوم) و 50 غ من كربونات الصوديوم اللامائيَّة في 350 مل من الماء المقطَّر. يُرشَّح في حال الضرورة لذلك، ثمَّ يُضاف إلى هذا المحلول محلولٌ مُكوَّن من 8.65 غ من كبريتات النحاس المنحلَّة في 50 مل من الماء المقطَّر، ويُتمَّم الحجم الكلي إلى 500 مل. يجب أن يكون المحلول الناتج رائقاً. يُحفَظ الكاشف في مكان بارد.

* **كاشف بارفويد:**

يُحَلُّ 13.2 غ من بلورات خلات النحاس في 200 مل من الماء المقطَّر الساخن. يُرشَّح المحلول ويُضاف إليه 1.9 مل من حمض الخلّ المركَّز.

* **كاشف لوغال:**

يُسحَق 0.5 غ يود في 1 غ من يوديد البوتاسيوم المنحلّ في قليل من الماء المقطَّر، ثمَّ تُتابع إضافة الماء حتى يصبح الحجم الكلي 100 مل.

* **محلول كبريتات النحاس القلوي:**

يُحضَّر كما يلي:

1- المحلول A: يُذاب 1.3 غ من كبريتات النحاس ($CuSO_4.5H_2O$) في 100 مل من الماء المقطَّر.

2- المحلول B: يُذاب 50 غ من بيكربونات الصوديوم، و 40 غ من كربونات الصوديوم، و 38.8 غ من حمَّاضات البوتاسيوم في 400 مل من الماء المقطَّر، ثمَّ يُضاف 24 غ من طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم ويُكمَل الحجم حتى 1000 مل بالماء المقطَّر. يُمزَج المحلول جيِّداً، ويُرشَّح إنْ لمْ يكنْ صافياً ويُحفَظ في درجة حرارة الغرفة. يُرشَّح مرَّةً أخرى إذا ظهر راسب مع الزمن.

ملاحظة: يُحضَّر محلول كبريتات النحاس القلوي في اليوم نفسه الذي سيُستعمَل فيه؛ ويتمُّ ذلك بمزج حجوم مُتساوية من المحلول A والمحلول B.

*** محلول حمض فوسفو موليبيديك:**

يُحضَّر بإذابة 70 غ من حمض موليبيديك H_2MoO_4 و 10 غ من تنغستات الصوديوم و 40 غ من هيدروكسيد الصوديوم في 1000 مل من الماء المقطَّر. يُغلَى المزيج على النار مدَّة 30-40 دقيقة حتى انتهاء انطلاق النشادر. يُضاف إلى المزيج 250 مل من حمض الفوسفور (كثافته 1.75)؛ ويُتمَّم الحجم حتى 1000 مل بإضافة الماء المقطَّر إليه.

*** كاشف النينهيدرين:**

يُوزَن 0.4 غ من النينهيدرين ويُحَلُّ في 40 مل من الغول الإيتيلي (96%)؛ ثمَّ يُمدَّد المحلول بالماء المقطَّر حتى يصبح الحجم الكلي مُساوياً 400 مل.

*** كاشف البيوريت:**

يُحَلُّ 9 غ من طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم في 40 مل من هيدروكسيد الصوديوم (0.2 نظامي) في بالون مُعايرة سعة 500 مل؛ ثمَّ يُضاف غرام واحد (1g) من كبريتات النحاس المائيَّة ($CuSO_4.5H_2O$). يُرَجُّ البالون جيِّداً حتى تمام الإذابة. يُضاف بعد

ذلك غرام واحد (1g) من يوديد البوتاسيوم إلى محتوى بالون المعايرة، ثم يُتمَّم المحلول بهيدروكسيد الصوديوم (0.2 نظامي) حتى يصبح الحجم الكلي 500 مل.

*** كاشف ميلون:**

يُؤخَذ تحت الساحبة 40 غ من الزئبق ويُذاب في 60 مل من حمض الآزوت المركَّز في درجة حرارة الغرفة. يُسخَّن المزيج بعد ذلك على حمَّام مائي تحت الساحبة لمدَّة عشر دقائق، ويُبرَّد المحلول ويُمدَّد بمقدار ضعفيْ حجمه بالماء المقطَّر؛ ثمَّ يُترَك حتى يتوضَّع الراسب. يُرشَّح وتُؤخَذ الرشاحة من أجل استعمالها في التجربة.

*** كاشف هوبكنز كوله:**

يُوضَع 2.5 غ من مسحوق المغنزيوم في أرلينة سعة 300 مل؛ ثمَّ يُضاف إلى المسحوق قليلٌ من الماء المقطَّر. يُحرَّك المزيج، وتُوضَع الأرلينة في حمَّام ثلجي، ويُضاف إليها 63 مل من حمض الخمَّاض المشبَع والمبرَّد مُسبقاً في حمَّام ثلجي مع التحريك. يُمزَج المحلول جيِّداً ويُرشَّح؛ ثمَّ يُضاف إلى الرشاحة ماءٌ مُقطَّرٌ حتى يصبح حجم المحلول 250 مل؛ فنحصل نتيجةً لذلك على ألدهيد حمض النمل (حمض الغليوكسيليك) الذي يجب أن يُحفظ في الثلاجة.

*** كاشف ديازو:**

يتكوَّن هذا الكاشف من محلولين هما:

1- المحلول الأول: يُحَلُّ 5 غ من حمض السلفانيليك بـ 300 – 400 مل من الماء المقطَّر مع التحريك؛ ويُضاف إليه 15 مل من محلول حمض كلور الماء المركَّز، ثمَّ يُتمَّم الحجم إلى 1000 مل.

2- المحلول الثاني: محلول نتريت الصوديوم (0.5%).

ملاحظة: عند إجراء التجربة يُمزَج 10 مل من المحلول الأول مع 0.3 مل من المحلول الثاني.

*** كاشف نسلر:**

يتكوَّن هذا الكاشف من محلولين هما:

1- المحلول الأول (A): يُحَلُّ 13.55 غ من كلوريد الزئبق و 36 غ من يوديد البوتاسيوم بالماء المقطَّر في بالون مُعايرة سعة 500 مل.

2- المحلول الثاني (B): يُحَلُّ 135 غ من هيدروكسيد الصوديوم في كميَّة من الماء المقطَّر؛ بحيث يصل الحجم الكلي إلى 500 مل (يجب أن يتمَّ المزج في بالون مُعايرة سعة 500 مل). يتمُّ قبل استعمال المحلولين للتجربة مزج 190 مل من المحلول (A) مع 80 مل من المحلول (B).

*** محلول ثلاثي كلوريد الأنتيموان في الكلوروفورم:**

يُغسَل الكلوروفورم مرتين بكميَّة مُضاعفة من الماء المقطَّر، و بعد الغسل يُجفَّف بوساطة كبريتات الصوديوم أو كربونات الصوديوم ويُقطَّر؛ ثمَّ يُحفَظ في زجاجة ذات لون بني وذات سدادة مُصنفرة (مع إضافة عدَّة بلورات من كربونات البوتاسيوم لامتصاص الرطوبة). تُغسَل بلورات ثلاثي كلور الأنتيموان بالكلوروفورم النقي والجاف تماماً؛ والذي تمَّ تحضيره سابقاً عدَّة مرات حتى يزول أيُّ تلوُّن للكلوروفورم. يُحضَّر محلول مُشبَع من ثلاثي كلوريد الأنتيموان (في درجة الحرارة العاديَّة $20^{o}C$) ويُحفَظ في وعاء زجاجي بني اللون. يكون هذا المحلول جاهزاً للاستخدام بعد حوالي 6- 8 ساعات من تحضيره، وصالحاً لمدَّة خمسة عشر يوماً.

*** كاشف البيزموت:**

يُذاب 2 غ من نترات البيزموت $Bi(NO_3)_3$ في 500 مل من يود البوتاسيوم (5%). يُترَك الكاشف بضع ساعات؛ ثمَّ يُرشَّح المحلول قبل الاستخدام.

*** كاشف الموليبدن:**

يُحَلُّ 5 غ من نتريت الموليبدن و 5 غ من موليبدات الصوديوم في 50 مل من الماء المقطَّر.

المصطلحات العلميَّة

Absorption	امتصاص
Acceptor	مُستقبل
Acid	حمض
Acid Number	قرينة الحموضة
Acidity	حموضة
Adrenalin	أدرينالين
Adsorption	امتزاز
Albumine	ألبومين
Aldose	ألدوز (سكر ألدهيدي)
Alkaline Hydrolysis	حلمهة قلويَة
Amino Acid	حمض أميني
Amphoteric	مُذبذب
Amylase	أميلاز
Amylopectine	أميلوبكتين
Amylose	أميلوز
Anaemia	فقر الدم
Anaerobic	لاهوائي
Analysis	تحليل
Anti	مُضاد
Arabinose	أرابينوز
Aromatic	عطري
Ascorbic Acid	حمض الأسكوربيك
Assimilation	تمثيل، استيعاب
Avitaminosis	عوز الفيتامين
Beri- Beri	مرض الهزال الرزي
Biosynthesis	اصطناع حيوي
Blood Sugar	سكر الدم
Buffer solution	محلول موق (مُنظم)
Carbohydrate	كربوهيدرات

Catalysis	وساطة
Catalyst	وسيط، حفاز
Chemical Nomenclature	تسمية كيميائيَة
Cholesterol	كوليسترول
Chromatography	كروماتوغرافيا
Citrulline	سيترولين
Classification	تصنيف
Coagulation	تخثّر
Co-Enzyme	مُتمّم الأنزيم
Colorimeter	المقياس اللوني
Columns Chromatography	كروماتوغرافيا الأعمدة
Complexes	مُعقّدات
Compund lipids	شحوم مُركّبة
Copper	نحاس
Cyclic	حلقي
Cyclohexane	حلقي الهكسان
Cytochromes	صبائغ
Deamination	نزع الأمين
Decarboxylation	نزع الكربوكسيل
Denaturation	فقدان البنية الطبيعية
Dioxyribose	ريبوز منقوص الأوكسجين
Dextrine	ديكسترين
Diazo Reagent	كاشف الديازو
Diffusion	انتشار
Digestion	هضم
Disaccharide	سكر ثنائي
Donor	مانح
Double bond	رابطة مُزدوجة
Electrolyte	كهرليت
Electrophilic	مُحب للإلكترون
Elimination	حذف
Emulsion	استحلاب

Endocrine glands	غدد صم
Enzyme	أنزيم
Enzyme action	فعل الأنزيم
Ester Number	قرينة الأسترة
Ethanol	غول إيتيلي
Fatty Acid	حمض دسم
Flavoenzymes	أنزيمات فلافونيَة
Flavoproteins	بروتينات فلافونيَة
Fluorescence	فلورة، تألّق
Fructose	سكر الفواكه
Furan	فوران
Galactose	غالاكتوز
Gas Chromatography	كروماتوغرافيا غازيَة
Gas-Liquid Chromatography	كروماتوغرافيا غازيَة – سائلة
Glucose	سكر العنب
Glusides	غلوسيدات
Glycerol	غليسرين
Glycogen	غليكوجين
Glycoprotein	بروتين سكري
Glycoside Bond	رابطة غليكوزيديَة
Glycosides	غليكوزيدات
Gram-Equivalent	مُكافىء غرامي
Growth hormon	هرمون النمو
Heptose	سكر سباعي
-Hetero	غير مُتجانس
Heteropolysaccharides	سكريات متعدّدة غير مُتجانسة
Hexose	سكر سداسي
-Homo	مُتجانس
Homopolysaccharides	سكر متعدّد متجانس
Hormone	هرمون
Hydrolysis	حلمهة

Hydrophilic	مُحب للماء
Hydrophobic	كاره للماء
Hydrosphere	الغلاف المائي
Hypovitaminosis	نقص الفيتامين
Inhibitor	مُثبّط
Inositol	إينوزيتول
Insulin	أنسولين
Interaction	تأثير مُتبادل
Iodine Number	قرينة اليود
Ion pair Chromatography	كروماتوغرافيا الزوج الشاردي
Ionone	أيونون
Isoelectric Point	نقطة التعادل الكهربائي
Isoprene	إيزوبرين
Ketoses	سكريات كيتونيَة
Lactose	سكر الحليب
Lipids	شحوم
Lipoproteins	بروتينات شحميَة
Liquid Chromatography	كروماتوغرافيا سائلة
Liquid- Gel Chromatography	كروماتوغرافيا سائلة-هلاميَة
Macromolecules	جزيئات ضخمة
Maltose	سكر الشعير
Mannose	مانوز
Metabolism	استقلاب
Metabolite	مُستقلب
Methanol	غول ميتيلي
Mole	جزيئة غراميَة
Monosaccharide	سكر أحادي
Neutralization	تعديل
Nucleophilic	مُحب للنواة
Nyctalopia	مرض العشى الليلي
Oleic Acid	حمض الزيت
Olive Oil	زيت الزيتون

Organic	عضوي
Ornithine	أورنيثين
Osteomalacia	مرض الكساح
Oxidizing Agent	مادة مُؤكسدة
Paper Chromatography	كروماتوغرافيا ورقية
Pellagra	مرض خشونة الجلد
Pentose	سكر خماسي
Peptide Bond	رابطة ببتيديَة
Photofluorimeter	مقياس الفلورة
Plane Chromatography	كروماتوغرافيا مستوية
Polypeptide	مُتعدِّد الببتيد
Polysaccharides	سكريَات مُتعدِّدة
Precipitation	ترسيب
Primary Structure	بنية أوليَة
Pro- Vitamin	طليعة الفيتامين
Pro-Adrenaline	طليعة الأدرينالين
Proteins	بروتينات
Pyranose	بيرانوز
Qualitative Analysis	تحليل كيفي
Quantitative Analysis	تحليل كمّي
Quaternary Structure	بنية رباعيَة
Reaction	تفاعل
Reagent	كاشف
Reducing Agent	مادة مُرجعة
Reducing Sugar	سكر مُرجع
Ribose	ريبوز
Saccharides	سكريات
Saccharose	سكر القصب
Sample Blank	عيّنة خالية
Saponification	تصبُّن
Saponification Number	قرينة التصبُّن
Saturated Fatty Acids	حموض دسمة مُشبَعة

Secondary Structure	بنية ثانويَة
Separation	فصل
Solubility	انحلاليَة
Solution	محلول
Solvent	مُحِل
Standard	معياري
Starch	نشاء
Substrate	ركيزة
Tertiary Structure	بنية ثالثيَة
Test	اختبار
Tetrose	سكر رباعي
Thin-Layer Chromatography	كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة
Titration	مُعايرة
Triose	سكر ثلاثي
Unsaturated Fatty Acids	حموض دسمة غيرمُشبعة
Urea	بولة
Vitamin	فيتامين
Xylose	كسيلوز
α-Helix	حلزون ألفا

Damascus University

المراجع العلمية

1-المراجع العربية:

1- د. محمود كمال، عملي الكيمياء الحيوية البنيوية، منشورات جامعة حلب 1988.

2 – د. أحمد نور الدين قضيب البان، د. محمود كمال، زيادة طباخ، عملي الكيمياء الحيوية البنيوية، منشورات جامعة حلب 1999.

3- د. غياث مصباح سمينة، أصول الكيمياء الحيوية، الطبعة الثانية، منشورات جامعة دمشق 1999.

4- د. غياث مصباح سمينة، د. محمد عبد الرحمن محمد، عملي الكيمياء الحيوية، منشورات جامعة دمشق 1996- 1997.

5- د. لميس اليوسفي، الكيمياء الحيوية (الجزء العملي)، منشورات جامعة دمشق 1982- 1983.

6- د. محي الدين جمعة، سهى الموصلي، الكيمياء الحيوية العامة، منشورات جامعة دمشق 1999.

7- د. أحمد مالو، د. مروان البحرة، د. هيفاء العظمة، هند بيطار، الكيمياء الحيوية (الجزء العملي)، منشورات جامعة دمشق 2000-2001.

8- د. أحمد مالو، د. مروان البحرة، د. هيفاء العظمة، الكيمياء الحيوية البنيوية (الجزء النظري)، الطبعة الخامسة، منشورات جامعة دمشق 2000-2001.

2-المراجع الأجنبيَّة:

1- Robert K. Murray, Daryl K. Granner, Peter A.Mayes, Victor W. Rodwell, Biochemistry, 1997

2- Monier Shaker, University Of Aleppo 1976, Essentials of Biochemistry

3- H. Graser C.F.Wintersche, Biochemishes Praktikum, Verlagshandlung- Bassel 1985

4- L Stryer, Biochemia, PWN Warszawa 1999

5- B.D. Hames, N.M.Hooper, Biochemia, Krótkie Wyklady, Warszawa 1999

6- J Berela, A. Koj, Zarys Biochemii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków 2009

7- A. Uzarewicz, Chemia Organiczna Z Elementami Chemii Fizjologicznej, PZWL, Warszawa 1991

8- A Bratkowiak, M Mizielińska, D Urbański, M Stobińsksa, Ćwiczenia laboratoryjne z Biohemii, PWN, Warszawa 2003

9 - Б.А.Павлов, А.П.Терентьев КУРС ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ 1979

10- А.И Ермакова Методы биохимического исследования 1972

Damascus University

اللجنة العلميَّة:

الأستاذ الدكتور علي ألاريك غوتوق

الأستاذ الدكتور حسين بكر

الأستاذ المساعد الدكتور مروان دنكريا

المدقِّق اللغوي:

الأستاذة الدكتورة سراب يازجي

حقوق الطبع والترجمة و النشر محفوظة لمديريَّة الكتب و المطبوعات