الكربوهيدرات:

هي مركبات عضوية الديهايدية او كيتونية متعددة الهايدروكسيل (OH) صيغتها الجزيئية $(CH_2O)_n$

تعتبر الكربوهيدرات مخزن كبير للطاقة الكيميائية وكذلك مصدر للكربون في عملية تكوين المكونات الخلوية.

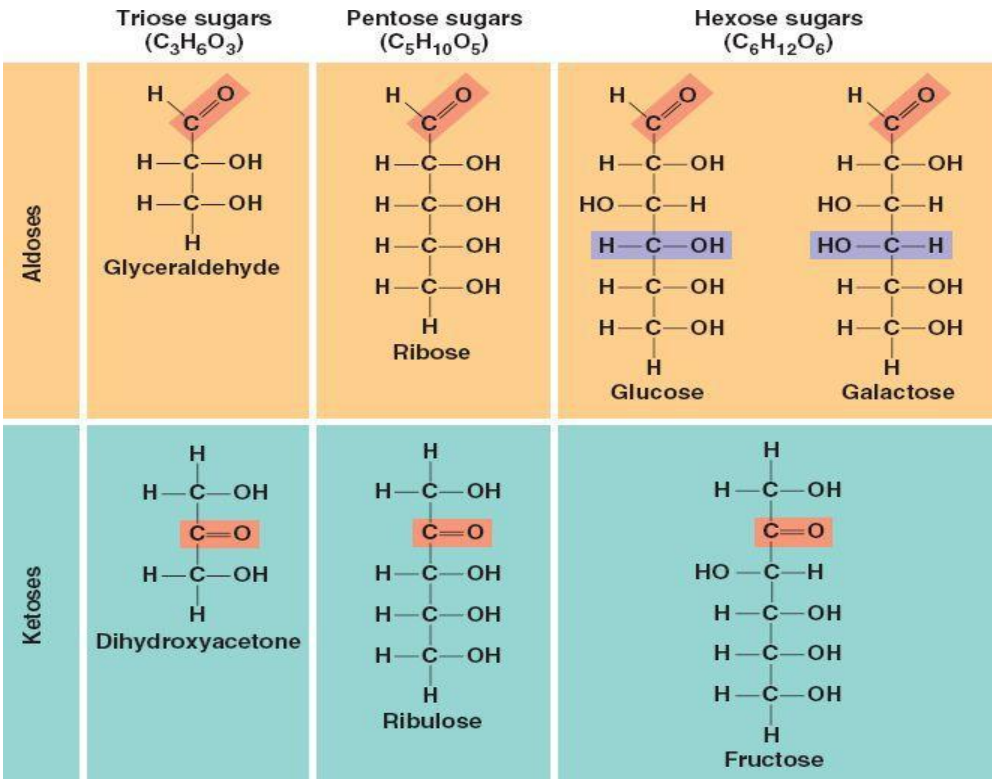
تصنيف الكربوهيدرات:

١. حسب عدد الوحدات السكرية

سكريات احادية: هي ابسط انواع الكربوهيدرات وهي الوحدات البنائية للسكريات تصنف الى قسمين:

a) سكريات الديهايدية (الكلوكوز)

b) سكريات كيتونية (الفركتوز)



٢. سكريات ثنائية : وهي ناتجة من اتحاد جزيئتين من السكريات الاحادية.

٣. سكريات متعددة : تنشأ من اتحاد ٣-١٠ جزيئات من السكريات الاحادية

٤. السكريات العديدة : وهي ناتجة عن اتحاد عدد كبير من جزيئات السكر الاحادي ترتبط بروابط كلايكوسيدية.

الاختبارات العامة للكربوهيدرات:

١. **اختبار الذوبانية**
٢. **اختبار مولش**
٣. **اختبار بندكت**
٤. **اختبار بارفويد**
٥. **اختبار بيال**
٦. **اختبار السلفانوف**

١. اختبار الذوبانية:

الهدف من التجربة:

التميز بين السكريات الاحادية والثنائية من جهة والسكريات العديدة من جهة اخرى.

النظرية العلمية للاختبار:

السكريات الاحادية والثنائية قابلة للذوبان في الماء لاحتوائها على مجموعة قطبية مثل الهايدروكسيل (OH) التي تستطيع تكوين روابط هيدروجينية مع جزيئات الماء بينما السكريات العديدة نظرا لكبر جزيئاتها وطول السلاسل المكونة لها فأنها شحيحة الذوبان في الماء واذا ذابت تكون محاليل غروية .

طريقة العمل:

اختبر ذوبانية كل مادة على حدة وذلك برج كمية قليلة من المادة مع الماء البارد اولا ثم مع الماء الساخن.

النتائج :

اكتب نتائج التجربة في الجدول التالي :

	الانبوبة	اذابة في الماء البارد	اذابة في الماء الساخن
سكر احادي	كلوكوز		
سكر ثنائي	سكروز		
سكر عديد	نشا		

تقدير الكربوهيدرات باستخدام الطريقة اللونية

Colorimetric Determination of Carbohydrates

هناك عدة طرق لونية طورت وكلها تعتمد على التفاعل الكيمائي للكربوهيدرات. وطريقة الانثرون Anthrone هي واحدة من أسهل هذه الطرق اللونية وهذه المادة تتفاعل مع كل الكربوهيدرات وتنتج لوناً أخضر يميل للزرقة .Blue-green وهذا الاختبار طريقة سريعة ومفيدة في حالة تقدير الكربوهيدرات الكلية أو عند عدم الحاجة لمعرفة أنواع السكريات المختلفة.

الأجهزة:

جهاز بوش ولومب Bausch and Lomb Spectronic 20 Colorimeter لتقدير الألوان، أنابيب الجهاز، أنابيب اختبار، وحمام مائي.

المحاليل:Reagents

١- محلول الانثرون (٠.١% في حامض كبريتيك ٧٢%): أذب ١.٠جم من مادة الانثرون في محلول حامض الكبريتيك (٧٢%) المبرد واكمل إلى ١ لتر. وهذا المحلول يكون ثابتاً لعدة أيام إذا حفظ في درجة حرارة ٤م، ويجب طرح المحلول إذا تغير لونه إلى الأخضر وعمل محلول جديد.

٢- محلول الجلوكوز ٠.٠٢%

٣- محلول كالسيوم كلورايد (٥٥جم كلوريد الكالسيوم في ٧٦مل ماء فقط وتضبط الـ pH بواسطة حمض الخليك الثلجي إلى ٢).

٤- محلول حمض الخليك ثلاثي الكلور Trichloroacetic acid ١٠٠غم من الحمض في ١٠٠مل ماء مقطر.

٥- كحول ايثيلي ٨٠.%

الطريقة:Procedure

١- توزن ٤٠٠ ملجم من العينة في أنبوبة اختبار (Duplicate) ويضاف ٢مل من الكحول إلى العينة إذا كانت جافة.

٢- تضاف ١٢مل من محلول كلوريد الكالسيوم إلى العينة وتسخن أنبوبة الاختبار في حمام ماء يغلي لمدة ٣٠ دقيقة، حتى تتم جلتنة gelatinization النشا وذوبان الكربوهيدرات:

أ- يجب خلط العينة بواسطة قضيب زجاجي من حين لآخر لتفادي جلتنة المادة الغذائية في قاع الأنبوب. تبرد الأنبوبة في ماء بارد إلى درجة حرارة الغرفة.

ب- تنقل مكونات الأنبوبة كمياً إلى دورق معياري سعة ١٠٠مل وتغسل الأنبوبة عدة مرات بماء مقطر ويضاف الغسيل إلى الدورق. تضاف ٥مل من محلول حمض الخليك ثلاثي الكلور ويخفف بماء مقطر إلى العلامة.

٣- يقفل الدورق المعياري وتخلط المكونات جيداً بواسطة تقليب الدورق عدة مرات ثم ترشح المكونات على ورقة واطمان رقم ٤٢ للتخلص من أي بروتين مترسب.

٤- تنقل ٠.١، ٠.٢، ٠.٥ مل من الدورق إلى أنبوبة اختبار بايركس .Pyrex تضاف ٠.٥مل من الماء المقطر إلى الأنبوبة التي تحوي ٠.٥مل من الراشح لتصير حجم جميع الأنابيب ١مل.

٥- تنقل ٠.٢، ٠.٤، ٠.٦، ٠.٨ و ١مل من محلول الجلوكوز (٠.٢%) إلى أنابيب اختبار بايركس. ويضاف الماء المقطر إلى كل أنبوبة ليكمل الحجم إلى ١مل. أيضاً تحضر أنبوبة ضابطة (بلانك) من ١مل ماء مقطر وتضع علامة على جميع الأنابيب للتعرف عليها أثناء التسخين والتحليل.

٦- تغمر جميع الأنابيب في ماء بارد. تضاف ٥مل من محلول الانثرون وترج الأنبوبة جيداً للتأكد من خلط المكونات كلها حتى قاع الأنبوبة.

]تحذير: تذكر أن محلول الانثرون محضر من حامض الكبريتيك المركز.[

٧- توضع الأنابيب في حمام ماء يغلي وتسخن لمدة ١٥ دقيقة، ثم تبرد الأنابيب جيداً في ماء بارد.

٨- تأكد من ظهور اللون بطريقة تدريجية حسب تركيز محلول الجلوكوز ويجب أن تكون التجربة الضابطة أخف الألوان.

٩- يشغل جهاز تقدير الألوان (Spectronic 20 Colorimeter) ويترك مدة ١٠ دقائق ليدفأ قبل بدء الاستخدام. ويضبط طول الموجة إلى ٦٢٠ نانومتر.

اختبار بارفويد Barfoed's test

هذا الاختبار اخترعه الكيميائي الدنماركي Christen Thomsen Barfoed .

الغرض من الاختبار :

التمييز بين سكر أحادي مختزل (الجلوكوز- الفركتوز- الرابينوز- الريبوز) وسكر ثنائي مختزل (المالتوز، اللاكتوز..)

النظرية العلمية للاختبار:

يتم الاختزال في وسط حامضي بدلا من الوسط القاعدي كما هو الحال في اختبار بندكت . اختبار حامض البكريك (Picric acidهو الاسم الشائع للمركب الكيميائي-6,4,6 trinitrophenol) ويعرف أيضاً بالاختصار TNP او بحامض المر نسبة لأصل تسميته من اللغة الاغريقية نظرا لمذاقه المر، وهو مادة بلورية صلبة لونها أصفر. يعتبر حمض البكريك من المواد المتفجرة وصيغته الكيميائية $C_6H_3N_3O$. وفي هذه الظروف تستجيب السكريات الاحادية المختزلة للاختبار اسرع من السكريات الثنائية المختزلة حيث تتفاعل السكريات الثنائية المختزلة ببطء وبصورة غير تامة.

$$RCHO + 2Cu^{2+} + 2H_2O \longrightarrow RCOOH + Cu_2O + 4H^+$$

يتكون الكاشف من : ١٣.٣ غم من بلورات خلات النحاس ، تذاب في ٢٠٠ مل ماء مقطر مع التحريك والرج ويضاف اليها ١.٨ مل من حامض الخليك الثلجي.

طريقة العمل :

١. اضف ١ مل من محلول السكر الى ٢ مل من كاشف بارفويد
٢. سخن لدرجة الغليان مدة دقيقة واحدة واترك المحلول ليبرد
٣. لاحظ تكون اللون الاحمر في وجود السكر المختزل .

اختبار اليود Iodine test

يستخدم لاختبار وجود النشا في العينة

النظرية العلمية للاختبار:

النشاء :عبارة عن مركب عضوي كاربوهيدراتي يحتوي على نوعين مختلفين من متعدد السكر حيث يتكون من وحدات من الجلوكوز المرتبطة في ما بينها بطريقتين مختلفتين. الأولى هي الأميلوز وهو عبارة عن سلاسل خطية من الجلوكوز المرتبطة مع بعضها، والثانية هي الأميلوبكتين المتفرع. والأميلوز هو المركب المسؤول عن اللون الأزرق للنشاء عند اضافة اليود عليه. حيث تكون سلاسل الأميلوز حلزونية الشكل مما يسمح لليود بالارتباط والتموضع ضمن الشكل الحلزوني الخاص بالمركب

محلول اليود يتكون من ١ غم أيودين ، ٢ غم يوديد البوتاسيوم (يسحقان في هاون) ، ثم يذاب في ٣٠٠ مل ماء مقطر.

طريقة العمل:

- اضف ٢-٣ مل من محلول متعدد السكريات الى انبوبة اختبار
- اضف بضعة قطرات من محلول اليود ثم لاحظ النتيجة.

كاشف بندكت

(بالإنجليزية: Benedict's reagent)، هو كاشف كيميائي سُمي بهذا الاسم نسبةً إلى الكيميائي الأمريكي ستانلي روسيتر بندكت. ويُستخدم هذا الكاشف للكشف عن السكريات المختزلة والمواد الخافضة الأخرى. وهذا يشمل أيضاً جميع السكريات الأحادية والعديد من السكريات الثنائية. طريقة تحضيره تذاب أخيذة من سيترات الصوديوم وهو ملح الصوديوم الثلاثي لحمض الستريك $Na_3C_6H_5O_7$ مقدارها ١٧٣غ وكربونات الصوديوم Na_2CO_3 ١٠٠غ في ٨٠٠مل من الماء المقطر، يرشح المزيج بعد الذوبان ويضاف له ١٧غ من كبريتات النحاس $CuSO_4$ ثم يمدد الحجم إلى الليتر بالماء المقطر. يعطي هذا الكاشف مع السكاكر المرجعة راسباً أحمر.

كاشف فهلنك Fehling's Test

اختبار كيميائي للكشف عن السكريات المختزلة و الألديهيدات الموجودة في المحلول ، تم وضعه من قبل الكيميائي الألماني فهلنك . يتكون محلول فهلنك من محلول فهلنك A (محلول كبريتات النحاس) و محلول فهلنك B (خليط من هيدروكسيد الصوديوم و ترترات الصوديوم (ملح روشيل) مذاب في الماء) . في البداية تؤخذ كميتان متساويتان من المحلولين في انبوبة اختبار حيث يضاف خليطهما على المحلول المراد الكشف عنه ثم يسخن المحلول ، فإذا تكون راسب أحمر أو بني محمر دل ذلك على وجود السكريات المختزلة او الألدهايد .

طريقة تحضير كاشف فهلنك

محلول فهلنكA: يذاب ٣٤غم من كبريتات النحاس في ٥٠٠ مل ماء مقطر

محلول فهلنك B : يذاب ١٧٣ غم من ملح روشيل "ترترات صوديوم والبوتاسيوم" مع ٥٢ غم هيدروكسيد صوديوم في ٥٠٠ مل ماء مقطر

الدهون

١.الخاصية الذوبانية للدهون:

الهدف من التجربة :

تختلف الدهون (اللبيدات) في القابلية للذوبان في المذيبات المختلفة كالمذيبات العضوية ويستفاد من ذلك في دراسة خواصها وفي عملية فصلها خصوصا وانها توجد متحدة مع الكثير من المركبات .

النظرية العلمية للاختبار:

لا تذوب الزيوت والدهون في الماء نظرا لطبيعتها غير القطبية ولكنها تذوب في المذيبات العضوية مثل البنزين والايثر والكلوروفورم والكحول المغلي.

الادوات المستعملة:

زيت زيتون او زيت بذور القطن
زبدة
انابيب اختبار
حمام مائي
حامل انابيب
مذيبات مختلفة مثل بنزين ، ايثر ، كلوروفورم ، حامض مخفف ، قاعدة وخففه

طريقة العمل:

١. نأخذ عينة من الزيت او الدهن ونضعها في انابيب اختبار جافة ونظيفة
٢. نضيف لكل انبوب نوعا مختلفا من المذيبات المختلفة المذكورة
٣. نلاحظ نتائج الذوبان في كل انبوب

النتائج:

الانبوبة	المذيب	الذائبية

البروتينات:
اسم التجربة: اختبار البيورين

الهدف من التجربة : الكشف عن البروتينات وتميزها من المحاليل البيولوجية الاخرى
المبدء : معاملة البروتينات بمحلول كبريتات النحاس في وسط قلوي ينتج مركبا بنفسجي اللون ويشترط وجود رابطتين ببتيديتين على الاقل بالجزيء لكي يعطي نتيجة ايجابية .

المواد المستخدمة:
١. محلول البومين البيض ٢%
٢. محلول جلاتين ١%
٣. محلول الحامض الاميني كلايسين ٠.٥ %
٤. ٢٠ ملغم من مسحوق الكازين
٥. محلول كبريتات النحاس
٦. محلول هيدروكسيد الصوديوم ١٠%

طريقة العمل:
١. رقم الانابيب
٢. في الانبوب (١) نضع ١ مل من محلول البومين البيض ٢% (يحضر من بياض البيض يذوبان في محلول مائي لكلوريد الصوديوم ١%) في الانبوب الثاني نضع ١مل من الحامض الاميني كلايسين ٠.٥ % وفي الانبوب الثالث يوضع ٢٠ ملغ من مسحوق الكازين
٣. يضاف الى كل انبوب ٢ مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم ١٠% وترج الانابيب جيدا
٤. يضاف الى كل انبوب ٠.٥ مل من محلول كبريتات النحاس ٠.٢ % وترج الانابيب جيدا

يلاحظ في حالة الالبومين والكازين تكون لون بنفسجي اما في حالة الحامض الاميني فأنه لا يعطي لونا بنفسجيا لانه لا يحتوي على رابطتين ببتيديتين.

النتائج:

المحلول	اللون الناتج	الاستنتاجات

الالبومين والكازاين عبارة عن بروتينات اما الكلايسين فهو حامض اميني
بالنسبة للمحاليل البايلوجية الاخرى مثل السكريات والدهون فأنها لا تعطي نتيجة ايجابية لذلك اختبار البيوريت هو اختبار عام للكشف عن جميع البروتينات في محاليلها

التجربة: ترسيب البروتينات بواسطة الاملاح الثقيلة

الهدف من التجربة: العمل على ترسيب البروتينات في محاليلها بواسطة املاح المعادن الثقيلة مثل نترات الفضة وكلوريد الزئبق.

المبدأ: تتفاعل نترات الفضة وكلوريد الزئبق مع البروتينات وتعمل على تكسير الروابط الببتيدية مما تفقدها نشاطها وتعمل على ترسيبها .

المواد المستعملة:

١. محلول البومين البيض ٢%
٢. محلول جلاتين ١%
٣. محلول كازين ١%
٤. محلول نترات الفضة ٢%
٥. محلول كلوريد الزئبق ٥%
٦. محلول حامض اميني ارجنين ٠.٥%

طريقة العمل :

رقم الانابيب ١-٤
في الانبوب رقم ١ ضع ١ مل من محلول البومين البيض
في الانبوب رقم ٢ ضع ١ مل من محلول الجلاتين
في الانبوب رقم ٣ ضع ١ مل من محلول الكازين
في الانبوب رقم ٤ ضع ١ مل من محلول الحامض الاميني ارجنين
اضف لكل من هذه الانابيب ٠.٥ مل من نترات الفضة (يلاحظ تكون راسب مع البروتينات وعدم تكونه مع الاحماض الامينية)

ولذلك يتم اعطاء المرضى الذين يعانون من حالات التسمم بكلوريد الزئبق او نترات الفضة الذين يستخدمان كمبيدات بياض البيض او الحليب كعلاج