4. اختبارات خاصة للتمييز بين أنواع السكريات :

A. الاختبارات الخاصة بالسكريات الخماسية (البنتوزات) :

. اختبار خلات الأنيلين :

الهدف : التمييز بين السكريات الأحادية الخماسية والسكريات الأحادية السداسية.

المبدأ : يؤدي نزع الماء من السكريات الخماسية بتأثير الحموض المعدنية المركزة إلى تكوين الفورفورال الذي يتفاعل مع بعض الأمينات (خلات الأنيلين) مؤدية إلى تشكيل معقدات ذات لون أحمر كرزي.

علل النجاح السريع لاختبار خلات الأنيلين مع البنتوزات !

لأن الفورفورال أسرع تطايراً من هيدروكسي ميثيل الفورفورال الذي يعطيه السكريات السداسية.

طريقة العمل : يؤخذ 2ml محلول سكري 2% (2g سكر حل في 100ml ماء) ويضاف إليه 1ml من محلول حمض كلور الماء المركز ثم يسخن في حمام مائي مع وضع قطعة من ورق الترشيح المبلل بخلات الأنيلين على فوهة الأنبوب ويستمر في عملية التسخين حتى ظهور أبخرة تلون ورق الترشيح بلون أحمر كرزي. نلاحظ سرعة تلون ورقة الترشيح في الأنبوب الحاوي على السكر الخماسي بينما السداسي تكون أبطأ.

ملاحظات :

* يمكن للغلوكوز (سكر سداسي كيتوني) أن يعطي نتيجة إيجابية مع هذا الاختبار وذلك لتكوينه كمية قليلة من الفورفورال بالتسخين مع حمض كلور الماء.
* يمكن أن يلاحظ تلون الجدار الداخلي للأنبوب بلون أحمر بسبب حدوث تفاعل تكثيفي لخلات الأنيلين الملتصقة بورقة على جدار الأنبوب.

KORAN COPYBOOKS
الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

سكروز ✗
فركتوز ✓
غلوكوز ✗

Subject

ب- الاختبارات الخاصة بالسكريات الكيتونية :

. "اختبار سليفانوف"

الهدف: الكشف عن السكريات الحاوية على مجموعة كيتونية حرة.

المبدأ: يعتمد هذا الاختبار على تحويل السكر الكيتوني بالتسخين بوجود حمض كلور الماء إلى مركب هيدروكسي ميثيل فورفورال الذي يتكاثف مع الريزورسينول مشكل مركب معقد ذو لون أحمر.

طريقة العمل: خذ 3ml من المحلول السكري ثم أضف إليه 2ml من كاشف سليفانوف وسخنه على اللهب المباشر هدى الثواني، لاحظ تشكل لون أحمر دليل على وجود سكر كيتوني.

Note المحلول السكري 2% (2g سكر تحل في 100ml ماء مقطر).

. حمض كلور الماء 50% (50ml ماء مقطر يضاف إلى 50ml حمض مركز).

. كاشف سليفانوف (تحل 0.5g من الريزورسينول في 100ml حمض كلور الماء 50%).

علل: يعطي السكروز نتيجة إيجابية مع اختبار سليفانوف!

بسبب تأثير حمض كلور الماء عليه وتفككه إلى مكونيه الغلوكوز والفركتوز.

علل: الغلوكوز يعطي نتيجة سلبية مع اختبار سليفانوف!

لأنه لا يحوي على زمرة كيتونية حرة.

.

5- اختبارات إضافية:

P- اختبار الكشف عن السكروز:

الهدف: تمييز السكروز من السكريات الثنائية الأخرى.

المبدأ: يعتمد على تفاعل السكروز مع كبريتات الكوبالت $CoSO_4$ في وسط قلوي فيتكون لون بنفسجي في حال وجود السكروز.

طريقة العمل: خذ 2ml محلول سكري 2% في أنبوب اختبار وأضف إليه 1ml من محلول هيدروكسيد الصوديوم 5% (5g NaOH تحل بـ 100ml ماء مقطر)، ثم يوضع بضع قطرات من محلول الكوبالت 2% (2g تحل بـ 100ml ماء مقطر)، ثم امزج جيداً، ظهور اللون البنفسجي يشير إلى وجود السكروز.

10

KORAN COPYBOOKS

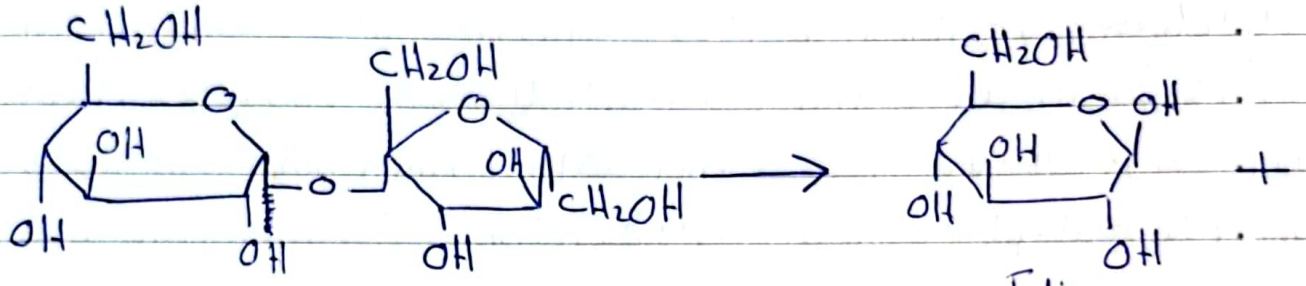
الممسوحه ضوئيا بـ CamScanner

Subject

ب- اختبار لاماهة الحمضية السكروز :

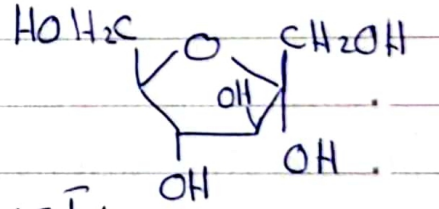
الهدف : تحديد مكونات السكروز بعد التحلل المائي .

المبدأ : السكروز سكر ثنائي غير مختزل ولكنه يتحلل مائياً في وسط حمضي معدني قوي ينفكك السكروز ويتحرر جزيء غلوكوز وجزيء فركتوز ويصبح المحلول بعدها مُرجعاً . ثم باستخدام اختبارات الاختزال السابقة (فهلنغ ....) نكشف عن نواتج الحلمهة .



سكروز

غلوكوز



فركتوز

طريقة العمل : نأخذ أنبوبي اختبار :

1. 2ml محلول سكري + 2ml محلول فهلنغ
2. 2ml محلول سكري + 0.5ml محلول حمض كلور الماء 10% (10g حمض كل + 100ml ماء)

نحمي الأنبوب الثاني في حمام مائي لمدة 15 min ثم أضف للأنبوب الأول 0.5ml محلول هيدروكسيد الصوديوم ثم أضف إليه 2ml محلول فهلنغ ونحمي الأنبوبين في حمام مائي لمدة 3 min ولاحظ النتيجة .

KORAN COPYSHOPS

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

Subject

د. اختبار الحلمة الأنزيمي للسكروز :

الهدف : تحديد مكونات السكروز بعد التحلل الأنزيمي.

المبدأ : بواسطة خميرة السكار تتفكك الرابطة الغليكوزيدية ويتحرر الغلوكوز والفركتوز.

note خميرة السكار توجد في خميرة الخبز العادية.

طريقة العمل : نذاب كيك من الخميرة في الماء ثم يؤخذ منه 3ml في أنبوبي اختبار أحدهما نتركه في درجة حرارة الغرفة والثاني نضعه على النار حتى الغليان ثم نبرده. ثم نضيف إلى الأنبوبين 3ml من محلول السكروز ونتركه لدرجة الغرفة لمدة 15min. نأخذ 3ml من رشاحة كل الأنبوبين ونضيف إليها 3ml من كاشف بندكت ونضع الأنبوبين في حمام مائي يغلي ونبعد 5min نسجل النتائج.

.

د. اختبار حمض الميوسيك :

الهدف : التمييز بين سكر الغالاكتوز واللاكتوز من ناحية وباقي السكريات المرجعة من ناحية أخرى.

المبدأ : بتسخين السكريات الأحادية مع حمض النتريك المركز تتكون حموض ثنائية الكربوكسيل تترسب بالمحلول بينما يجب أن نسخن محلول الغالاكتوز مع حمض النتريك المركز يتكون حمض الميوسيك الذي لا يذوب بل يترسب في قعر الأنبوب.

طريقة العمل :

[1]

. + 1ml غلوكوز مركز

. 1ml حمض آزوت مركز

. + حمام مائي لساعة ونصف ↓

. + 5ml ماء مقطر

. تبريد ليلة كاملة ↓

. نلاحظ وجود رواسب

[2]

+ 1ml غالاكتوز مركز

1ml حمض آزوت مركز

+ 5ml ماء مقطر

note اللاكتوز يعطي نتيجة إيجابية لتحلله إلى الغالاكتوز ثم إلى حمض الميوسيك.

KORAN COPYBOOKS

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

Subject

هـ- اختبار الكشف عن غش عسل النحل:

الهدف: الكشف عن غش عسل النحل بالسكر المحول.

المبدأ: يتم غش العسل بإضافة السكر المحول بالحمض إذ ينتج عن هذا التحويل مركبات الفورفورال التي تتفاعل مع كاشف الريزورسينول لتعطي معقدات ملونة.

طريقة العمل: يذاب 2g عسل نحل في 10ml ماء ويستخلص بالإيثر ثم تؤخذ طبقة الإيثر وتركز إلى 5ml ثم يضاف إليها 3ml من كاشف الريزورسينول (تحل 1g ريزورسينول في 100ml حمض كلور الماء).

يرج ويلاحظ اللون المتكون فإذا ظهر لون أحمر كرزي خلال دقيقة يدل على وجود سكر محول تجاري أما ظهور اللون الأصفر فيدل أن النتيجة سلبية.

يجرى هذا الاختبار على البارد.

6- اختبارات عديدات السكاريد:

تحتوي عديدات السكاريد على عدد كبير من جزيئات السكر الأحادي وهي:

لا تذوب في الماء وليس لها طعم حلو ولا رائحة مميزة بل تشكل محلول غروي مع الماء الساخن وما أزال تعطي نتيجة إيجابية مع كاشف مولبش. ومن أهمها:

P- النشاء: وهو مخزون الكربوهيدرات في النباتات وتتكون وحدات النشاء من اتحاد جزيئات D-غلوكوز. ويتألف النشاء من نوعين:

* الأميلوز: يشكل من (15-20)% ويتألف من سلاسل مستقيمة من ألفا D-غلوكوز مرتبطة ببعضها بين ذرات الكربون 4 و1 ويذوب بالماء الساخن.

* الأميلوبكتين: يشكل (80-85)% ويتألف من ألفا D-غلوكوز مرتبطة ببعضها بطريقتين: ارتباط ذرات الكربون 1و6 و 1و6 التي تشكل سلاسل متفرعة، ويشكل الأميلوبكتين مع الماء الساخن محلول صمغي (أو هلامي).

ك- الغليكوجين: يوجد في كبد وعضلات الإنسان والحيوان ويتألف من ألفا D-غلوكوز على شكل سلاسل مستقيمة وأخرى كثيرة التفرع.

د- السليلوز: يشكل جدر الخلايا في النباتات جميعها، وهو يتألف من وحدات بيتا غلوكوز والرابط بين ذرات الكربون (1و4). لا يذوب السليلوز بالماء أبداً ولا يتأثر بالخمائر الموجودة في جهاز الهضم عند الإنسان بعكس الحيوان لوجود بكتريا في جهاز الهضم.

KORANI COPYBOOKS

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

د. الأنيولين: يوجد في الجذور وأجزاء النباتات الأخرى ويتألف من مئات D-فلوكوز على شكل سلاسل مستقيمة وأخرى كثيرة التفرع.

الاختبارات:

P. اختبار الحلمهة الحمضية للسيلوز:

الهدف: تحليل السيلوز إلى وحداته السكرية (الغلوكوز).

المبدأ: السيلوز ليس له خواص اختزالية في حين نواتج الحلمهة لها خواص اختزالية.

طريقة العمل: يوضع كمية من القطن في بيشر وتضاف إليه 50ml من حمض الكبريت 50% (50ml حمض مركز تضاف إلى 50ml ماء مقطر) وتسخن في حمام مائي مدة ساعة خلالها يتحلل السيلوز إلى وحدات الغلوكوز، ثم تجرى تجربة فهلنغ على نواتج تحلل كمية من السيلوز ونواتج تحلله بعد تعديل الوسط بإضافة هيدروكسيد الصوديوم بواسطة عباد الشمس.

ل. اختبار اليود والنشاء:

الهدف: دراسة خصائص النشاء.

المبدأ: تتوضع الجزيئات الحلزونية لنشاء الأميلوز فتمتص معظم موجات الضوء المرئي ماعدا الأزرق منه فيظهر اللون الأزرق لمعقد النشاء واليود.

أما الديكسترينات والأميلوبكتين والغليكوجين فإنها تعطي ألوان بنية في حين تعطي الكربوهيدرات الأحادية والثنائية أي لون مميز.

علل: يزول اللون الأزرق لمعقد نشاء-يود عند التسخين!

لأن سلسلة الأميلوز تتفكك ويبتعد اليود عنها ويعود اللون ثانية بالتبريد.

علل: عند إضافة هيدروكسيد الصوديوم تختفي اللون الأزرق!

بسبب ارتباط اليود بالصوديوم مكوناً يوديد الصوديوم ويوديد الصوديوم، وهذه النواتج لا تعطي لون أزرق مع اليود:

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

وعند معادلة الوسط القلوي نضيف للدورق الماء تتفاعل المركبات السابقة مع حمض الكلور الماء فيتحرر اليود مرة ثانية وتتوضع على لفات الأميلوز فيعود اللون الأزرق.

KORAN COPYBOOKS

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

Subject

note: لا يعطي النشاء نتيجة إيجابية مع الاختبارات البرهانية بسبب ضخامة جزيئته على الرغم من احتوائه على الوظيفة الاختزالية في نهايتي السلسلة.
ولكنه هذه الخواص تظهر بعد إجراء الحلمهة الكيميائية أو الأنزيمية فيتحلل النشاء إلى دكسيترينات ثم إلى مالتوز ثم إلى الغلوكوز.

طريقة العمل: يوضع في أنبوب اختبار 2ml من محلول النشاء 1% لتحضير خليط 1g نشاء مع 10ml ماء مقطر بارد حتى الحصول على محلول مملوء. ثم يضاف 80ml ماء مع التحريك والتسخين حتى الغليان بالاستمرار لمدة 5min حتى الحصول على محلول رائق، نترك المحلول يبرد ونكمل الحجم إلى 100ml (ماء) ثم يضاف قطرة من محلول اليود البوتاسي (تحضر بإضافة كمية من الماء المقطر إلى 2g يود بوتاسي ثم تحل في هذا المحلول 1g من اليود ونكمل الحجم بالماء المقطر إلى 100ml) فيلاحظ لون أزرق غامق.

- نسخن الأنبوب ونلاحظ اختفاء اللون.
- نبرد الأنبوب ونلاحظ عودة اللون الأزرق!
- أضف نقطتين من محلول هيدروكسيد الصوديوم 5% (تحل 5g في 100ml ماء) ونلاحظ اختفاء اللون من جديد.
- أضف نقطتين من حمض كلور الماء 20% (تحل 4ml في 100ml ماء مقطر) ونلاحظ عودة اللون من جديد.!

- خذ ثلاثة أنابيب:

[1]	[2]	[3]
غليكوجين	سكروز	دكسترين

↓ إضافة قطرات من محلول اليود على البارد

أحمر بنفسجي	أصفر فاتح	بني محمر

٥- حلمهة النشاء الأنزيمية:
الهدف: تفكيك النشاء إلى المالتوز.
المبدأ: أنزيم الدياستاز يفكك النشاء إلى المالتوز.
طريقة العمل: ضع في أنبوب 5ml محلول نشاء وأضف إليه 1ml محلول اللعاب (مضغة مدة 5min) ثم سخنه في حمام مائي 15min ثم خذ 2ml وأضف قطرة اليود والباقي أبرده على ثلج.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

Subject

د. حلمهة الفليكوجين:

الهدف: الحصول على الغلوكوز من حلمهة الفليكوجين.

المبدأ: حمض كلور الماء يفكك الفليكوجين بالتسخين إلى الغلوكوز.

طريقة العمل: نسخن 5ml من محلول الفليكوجين مع 3ml حمض كلور الماء المولار لمدة 15min، نعدل الحموضة بإضافة هيدروكسيد الصوديوم ثم أجري تجربة اليود واختبار فهلنغ.

7- الاختبارات الفيزيائية:

«اختبارات الترسيب»

أ- اختبار خلات الرصاص القاعدي للنشاء:

الهدف: تبيين النشاء عن الدكسترين.

المبدأ: خلات الرصاص القاعدي تُرسب النشاء في حين لا نلاحظ حدوث ترسيب مع الدكسترين.

طريقة العمل: نضيف 1ml من محلول خلات الرصاص القاعدي 2% إلى 3ml من محلول النشاء، نلاحظ ترسب النشاء في أسفل الأنبوب، نكرر التجربة مع الدكسترين فلا نلاحظ ترسب.

ب- الترسيب بواسطة الكحول:

خذ في أنبوب 3ml من محلول النشاء وأضف إليه 3ml من الكحول، كرر التجربة باستخدام الدكسترين والفليكوجين.

ج- الترسيب بواسطة كبريتات الأمونيوم:

1- الترسيب بالإشباع الكامل: خذ في أنبوب اختبار 5ml من محلول النشاء وأضف إليه بلورات من كبريتات الأمونيوم، امزجها جيداً حتى يتكون محلول مشبع، رشح وخذ الرشاحة وأجر عليه اختبارات: فهلنغ، بنديكت، اليود ثم كررها على الدكسترين والفليكوجين.

2- الترسيب بالإشباع النصفي: خذ في أنبوب اختبار 5ml من محلول النشاء وأضف إليه 5ml من محلول كبريتات الأمونيوم المشبعة، رشح وأجر اختبار اليود على الرشاحة، كرر التجربة على محلول الدكسترين والفليكوجين.

KORAN COPYBOOKS

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner