2014

General Biochemistry 101

Pre-lab results

مقرر تعريفي عام للكيمياء الحيوية. ويشمل تغطية مخبرية للسكريات، والدهون، والأحماض الأمينية، و الإنزيمات و كيفية تحضير المحاليل المنظمة و كيفية عملها .

KING SAUD UNIVERSITY
1/1/2014

Eman Alshehri

(المحاليل المنظمة BUFFER SOLUTION)

	ماء مقطر	محلول المنظم
PH before adding	5.40	7.43
PH After adding HCL	3.93	7.32
PH After adding NaOH	8.03	7.48

الإستنتاج:

- المحاليل المنظمة تقاوم التغير في الرقم الهيدروجيني عند إضافة كميات قليلة من الأحماض أو القواعد القوية أو عند تخفيفها، وهي عبارة عن محلول لحمض ضعيف وأحد أملاحه أو قاعدة ضعيفة وأحد أملاحها .

الاختبارات العامة و الوصفية للأحماض الأمينية

1-اختبار الذوبانية

الأنبوب	حمض أميني الجليسين	النتيجة
ماء	يذوب	اذن تذوب الأحماض الأمينية في الماء لارتباط جزيئاتها المستقطبة بجزيئات الماء القطبية و كذلك وجود مجموعة الامين القاعدية و الكربوكسيل الحمضية تسهل ذوبان الاحماض الامينية في الاحماض و القواعد
كلورفورم	لا يذوب	
هيدروكسيدالصوديوم	يذوب	
حمض الهيدروكلوريك	يذوب	

2-اختبار النهيدرين

الأنبوبة	الملاحظة
الجليسين+ محلول النهيدرين	تكون لون بنفسجي
البرولين+ محلول النهيدرين	تكون لون أصفر

3- إختبار ميلون

الأنبوبة	الملاحظة
التيروسين+ كاشف ميلون	تكون راسب بني محمر من أملاح الزئبق لإحتواء التيروسين علي مجموعة الهيدروكسي فينيل
الفينول+ كاشف ميلون	تكون راسب بني محمر من أملاح الزئبق

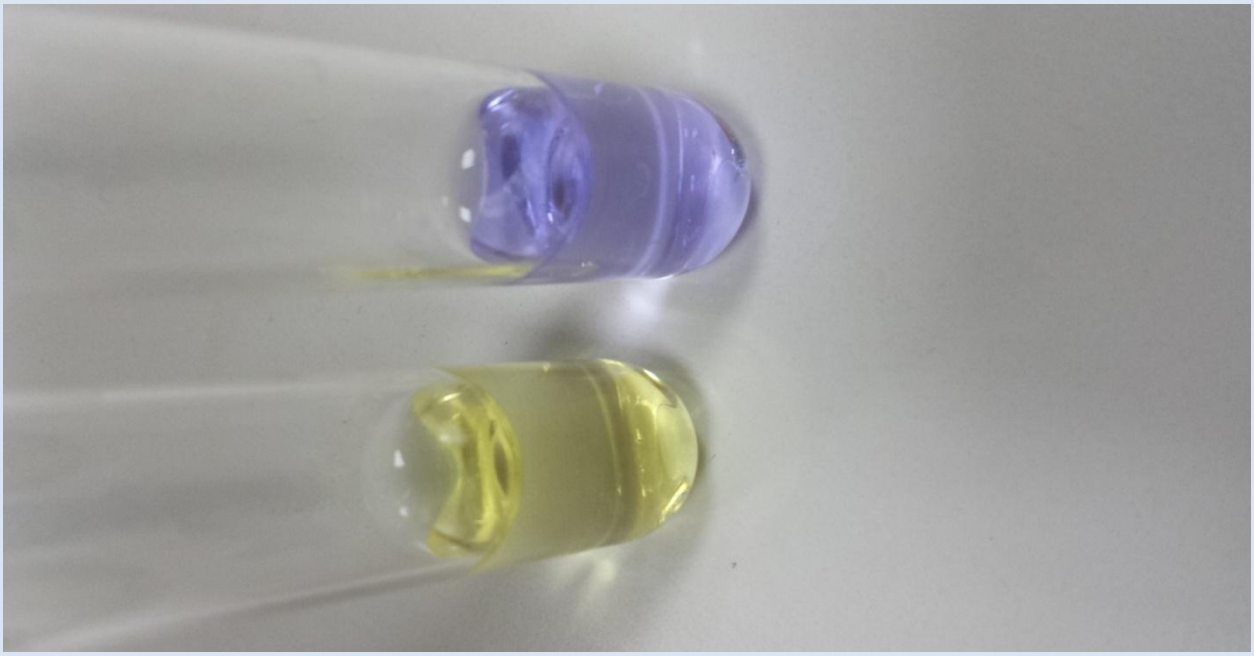
4 - إختبار الزانثوبروتييك

الإنبوبة	الملاحظة
التربتوفان	يعطي بالتسخين مركبات النيترو الصفراء التي تعطي اللون البرتقالي بإضافة هيدروكسيد الصوديوم
الفينيل الانين	عديم اللون
التيروسين	يعطي بالتسخين مركبات النيترو الصفراء التي تعطي اللون البرتقالي بإضافة هيدروكسيد الصوديوم

4 - إختبار سكاجوتشي

الأنبوبة	الملاحظة و الاستنتاج
الأرجنين	يتكون متراكب أحمر اللون يدل علي مجموعة الجوانيدين الموجودة في حمض الأرجنين مع الفا نافثول في وجود الهيبوبروميت كعامل مؤكسد لذلك يستخدم هذا الاختبار لتميز الارجنين عن باقية الحماض الأميني

Eman Alshehri



اختبار النينهيدرين

إختبار الزانثوبروتييك

Eman Alshehri

الاختبارات الوصفية للبروتينات

1-ذوبان البروتينات solubility of proteins

البروتين	نوع البروتين	قابلية الذوبان في الماء البارد	قابلية الذوبان في NaOH 1%
البيومين	بسيط	ذاب	ذاب

2-إختبار البيوريت Biuret test

الأنبوبة	الملاحظة و الاستنتاج
البيومين	يعطي متراكبا بنفسجي اللون لانه تفاعل البيروتين مع محلول كبريتات النحاس في وسط قاعدي

3 -اثر الاملاح علي ذوبانية البروتين

الانبوبة	الملاحظة و الاستنتاج
البيومين+ كميات قليلة من ملح كلوريد الصوديوم	يذوب لان التراكيز القليلة من الملح اذابت البروتين و استقراره نتيجة لتجاذب بين ايونات الملح و المجموعات الفعالة في البروتين
البيومين+ محلول مشبع من ملح كبريتات الامونيوم	يترسب البروتين لان التراكيز العالية من ايونات الملح تناقس جزئيات البروتين علي الارتباط بجزئيات الماءفيقل استقرار البروتين و يسهل ترسيبه

4-ترسيب البروتينات باملاح المعادن الثقيلة

الانبوبة	الملاحظة
البيومين+ نترات الفضة	يترسب البروتين بوجود املاح المعادن الثقيلة

5-الترسيب بالاحماض القوية

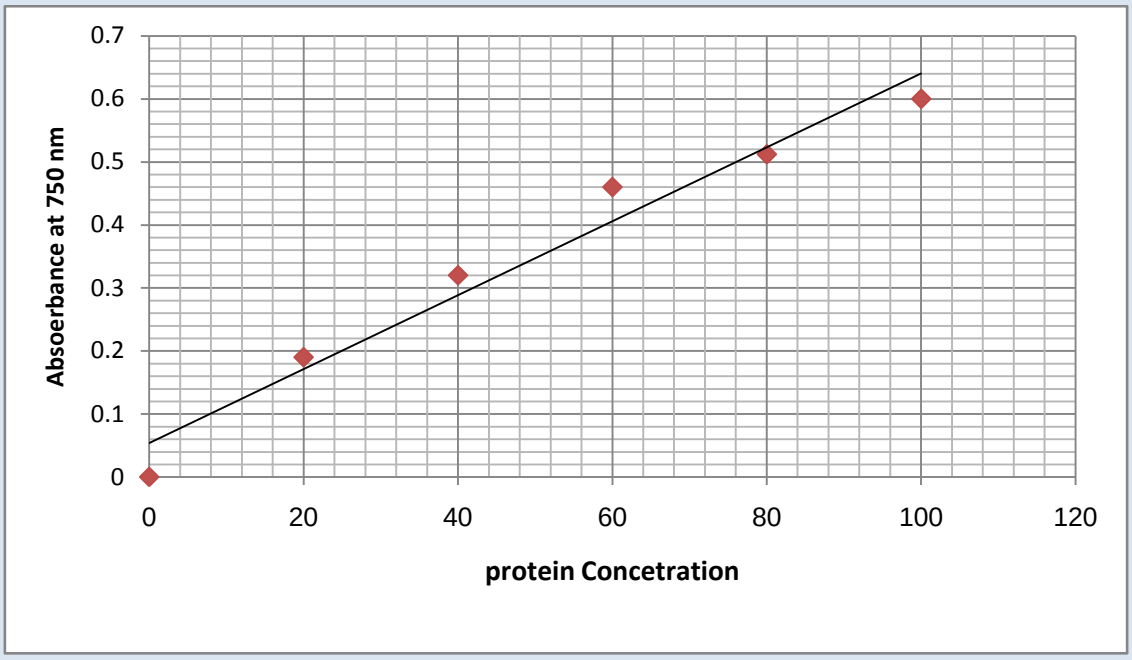
الانبوبة	الملاحظة و الاستنتاج
البيومين + حمض النتريك المركز	يترسب البروتين في كلا الانبوبتين
البيومين + ثلاثي كلوريد حمض الخليك	

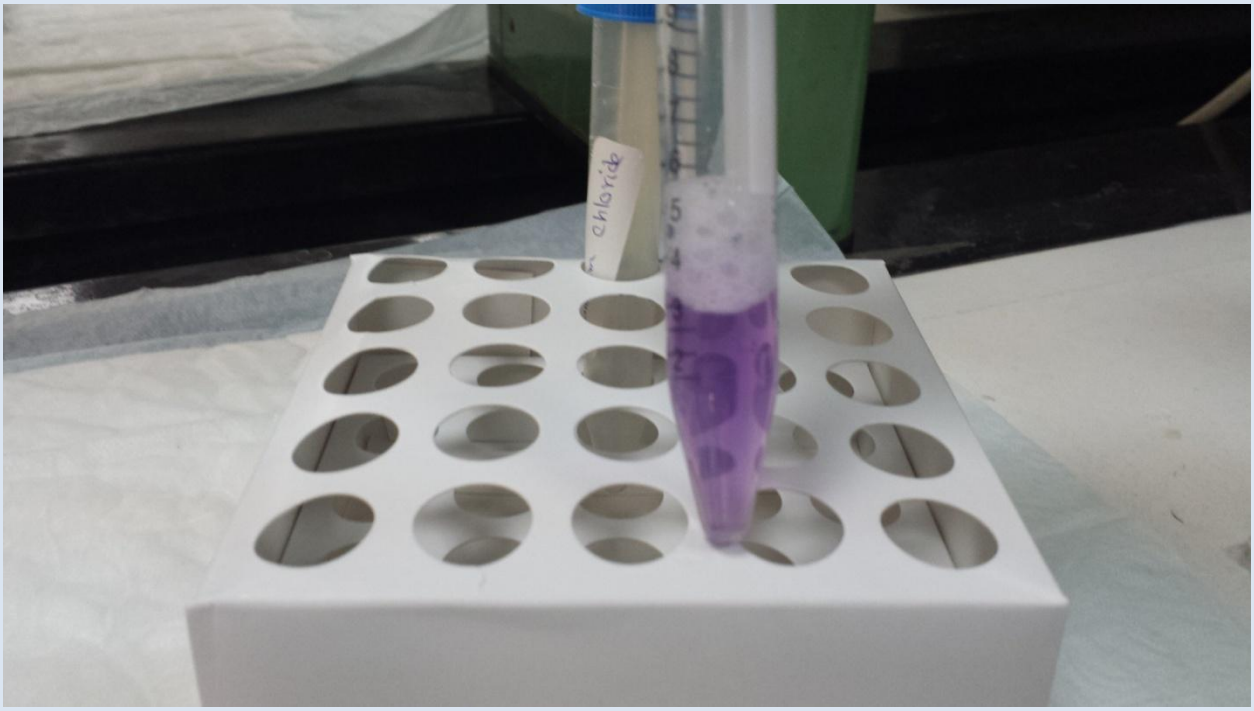
6-التقدير الكمي للبروتينات باستخدام طريقة لاوري

الانبوبة	الامتصاص الضوئي عند الطول الموجي 750 nm
ماء المقطر	0
البروتين القياسي 20 mg/ml	0.19
البروتين القياسي 40 mg/ml	0.32
البروتين القياسي 60 mg/ml	0.46
البروتين القياسي 80 mg/ml	0.512
البروتين القياسي 100 mg/ml	0.60
البروتين المجهول	0.170
البروتين المجهول	0.175

ال

Eman Alshehri





اختبار بيوريت

Eman Alshehri

الاختبارات العامة و الوصفية للكربوهيدرات 1

1 - اختبار الذوبانية

الأنبوب	الماء	النتيجة
الجلوكوز	يذوب	السكريات الاحادية و الثنائية قابلة للذوبان في الماء بخلاف السكريات العديدة لا تذوب في الماء بسبب كبر حجمها الجزئي و عند ذوبانها فإنها تكون محاليل غروية
السكروز	يذوب	
النشا	شحيح الذوبان	

2 - اختبار مولش

الأنبوبة	الملاحظة
محلول الجلوكوز	تكون حلقة بنفسجية اللون بين سطحي الانفصال في كلا الانبوبتين و بالتالي يهدف الاختبار للتميز او للتعرف علي وجود الكربوهيدرات
محلول الريبوز	

3 - إختبار بندكت (اختبار اختزالي في وسط قاعدي)

الأنبوبة	الملاحظة
محلول الجلوكوز	تكون راسب أحمر برتقالي نتيجة ان مركب بندكت يختزل في وجود سكر مختزل (الجلوكوز) الي اكسيد النحاسوز الأحمر حيث يظهر علي شكل راسب أحمر برتقالي بخلاف السكر غير مختزل (السكروز)
محلول السكروز	

4 - إختبار بارافويد (اختبار اختزالي في وسط حمضي):

الإنبوبة	الملاحظة
محلول الجلوكوز	في الوسط الحمضي تتفاعل السكريات الاحادية المختزلة أسرع من السكريات المختزلة الثنائية حيث يكون راسب بلون أحمر طوبي لذلك يستخدم كاشف بارافويد للتميز بين السكريات المختزلة الاحادية و الثنائية
محلول اللاكتوز	

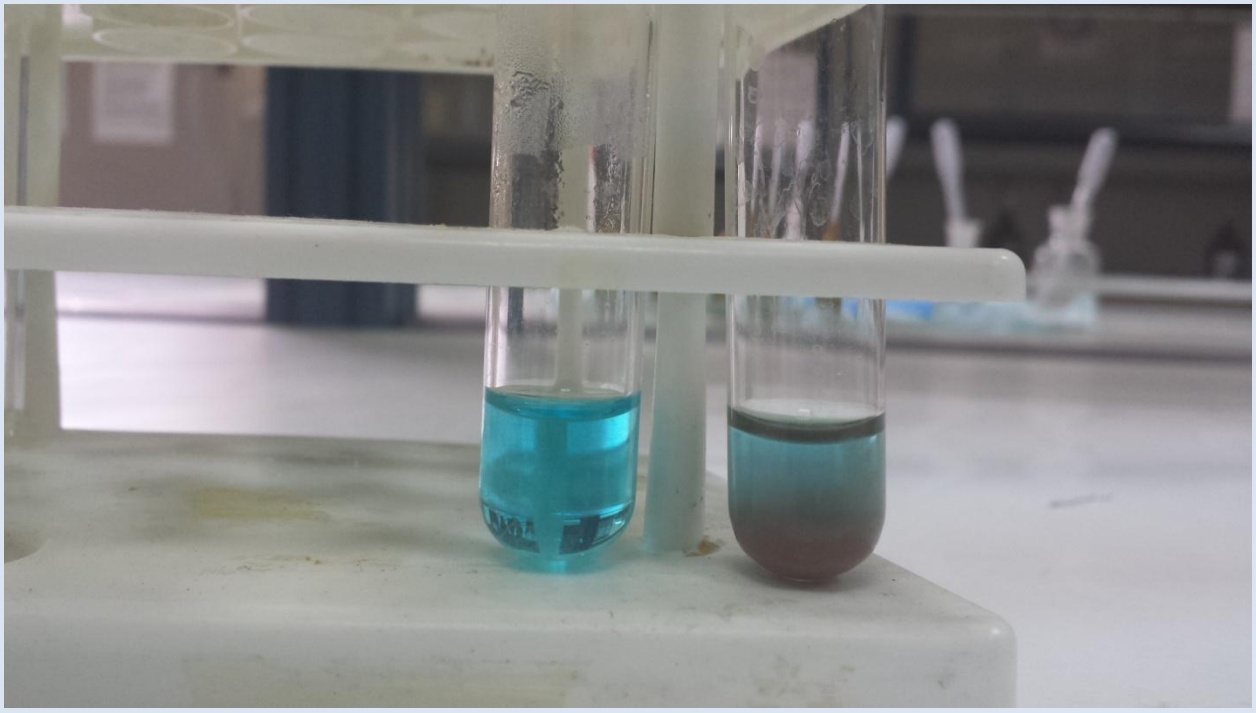
5 - إختبار بايل

الأنبوبة	الملاحظة و الاستنتاج
محلول الجلوكوز	عند تسخين السكر الخماسي مع حمض الهيدروكلوريك فإنه يكون الفورفورال و الذي بدوره يتفاعل مع الاورسينول ليكون لون اخضر مزرق لذلك يستخدم كاشف بارافويد للتميز بين السكريات الاحادية الخماسية و السداسية
محلول الريبوز	

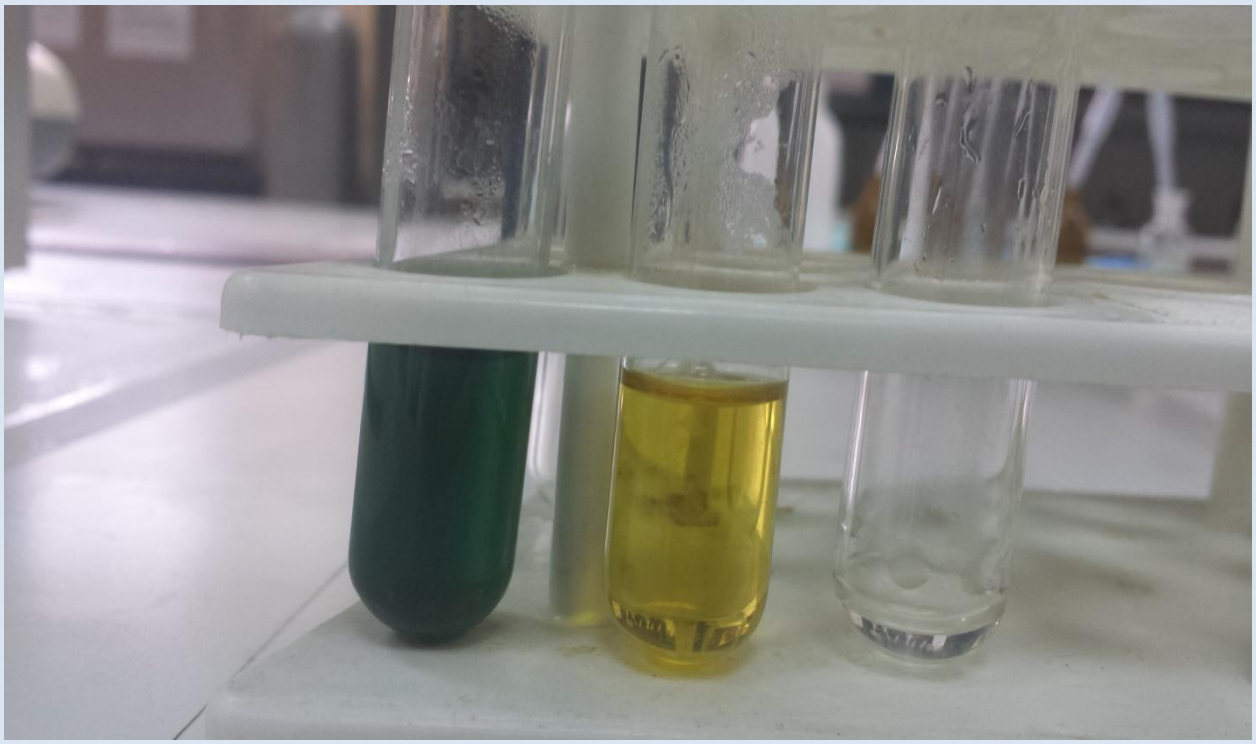
6 - اختبار السلفانوف

الأنبوبة	الملاحظة و الاستنتاج
المحلول الجلوكوز	الكيتونات تفقد الماء بسبب تفاعلها مع حمض الهيروكلوريك و تكون الفوفورال بسهولة كبيرة مقارنه بالالدهيدات و يتفاعل الفورفورال مع الريزورسينول ليكون لون احمر قرمزي لذلك يستخدم كاشف السلفانوف للتميز بين السكريات الاحادية الالدهيدية و الكيتونية

Eman Alshehri



اختبار بندكت



اختبار بايل

الانبوبة	الملاحظة
جلوكوز	لم يتغير لون المحلول
المالتوز	لم يتغير لون المحلول
النشا	يتكون لون أزرق

2- التحلل المائي للسكروز:

السكروز سكر ثنائي و هو عبارة عن ارتباط ما بين الجلوكوز و الفركتوز و لا توجد لديه مجموعة الكربونيل حرة لذلك هو سكر غير مختزل لا يعطي نتيجة ايجابية مع كاشف بندكت إلا بعد أن يتحلل السكروز الي مكوناته (جلوكوز+فركتوز)

اختبار بندكت

يكشف عن وجود الجلوكوز بعد تحلل السكروز ← نلاحظ تكون راسب أحمر برتقالي الي اخضر لان الجلوكوز سكر مختزل.

اختبار سلفانوف

يكشف عن وجود الفركتوز بعد تحلل السكروز ← نلاحظ تكون لون أحمر داكن لأن الفركتوز سكر سداسي كيتوني.

3- التحلل المائي للنشا:

يستخدم هذا الاختبار عن طبيعة السكر المكون لجزئ النشا و ذلك بالتحلل المائي في وسط حمضي حيث يتكون الجلوكوز الذي يعتبر سكر مختزل بخلاف النشا لا يختزل محلول بندكت

اختبار بندكت

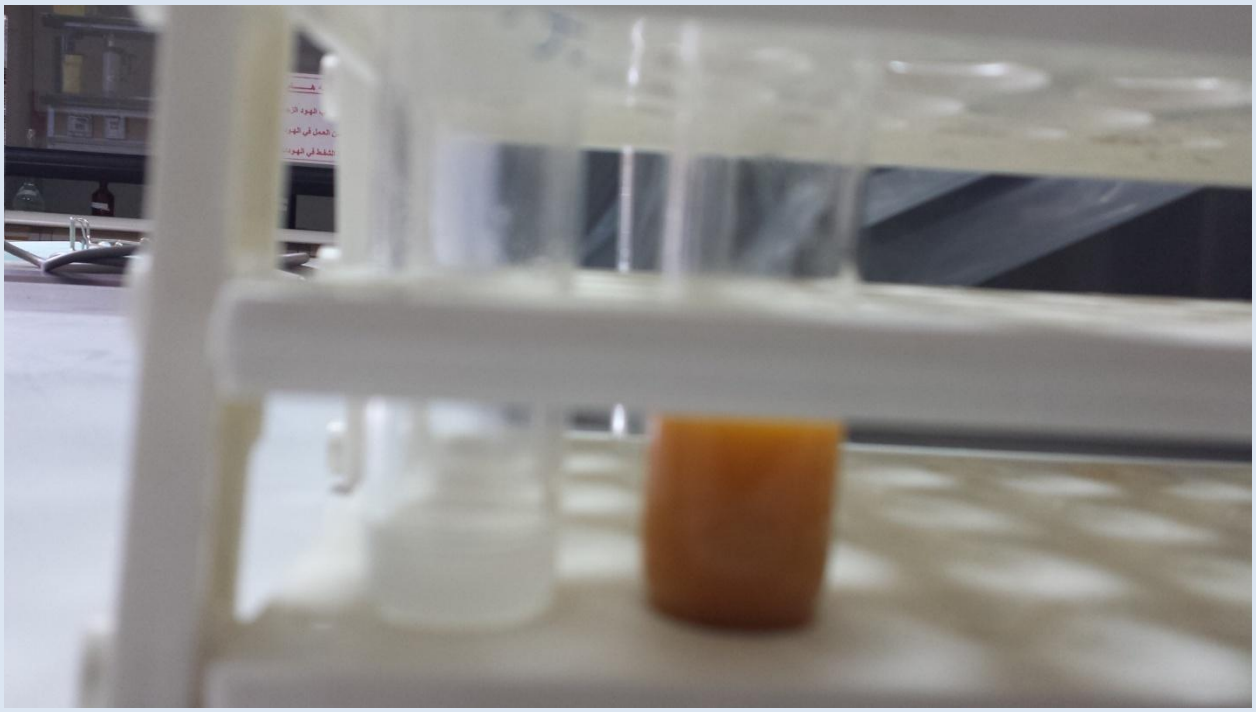
يكشف عن وجود الجلوكوز بعد تحلل النشا ← نلاحظ تكون راسب أحمر برتقالي الي اخضر لان الجلوكوز سكر مختزل.

اختبار اليود

ايضا يكشف عن وجود الجلوكوز بعد تحلل النشا ← نلاحظ انه لم يتغير لون المحلول هذا يدل ان النشا تحلل الي الجلوكوز.

Eman Alshehri

التحلل المائي للسكروز :اختبار بندكت و سلفانوف



التحلل المائي للنشا: اختبار بندكت و اختبار اليود

الا

1- اختبار الذوبانية

الانبوبة	المشاهدة
ماء + زيت الزيتون	لم يذب تكون طبقتين منفصلتين
كلورفورم + زيت زيتون	ذاب لان الكلورفورم غير قطبي

2- اختبار التصبن

وضعنا زيت الزيتون + هيدروكسيد الصوديوم الكحولي

اغلي المحلول لمدة 3 دقائق و بعدها يتكون الصابون

نضيف 30 ml من الماء و يتكون لدينا رغوة يستخدم محلول الصابون في التجارب التالية.

3- اختبار فصل الصابون من المحلول بالتمليح

الانبوبة	المشاهدة
محلول الصابون+ كلوريد الصوديوم الصلب	عند التشبع ينفصل الصابون علي صورة غير ذائبة و يطفو فوق السطح

4- اختبار تحضير الاحماض الدهنية من الصابون

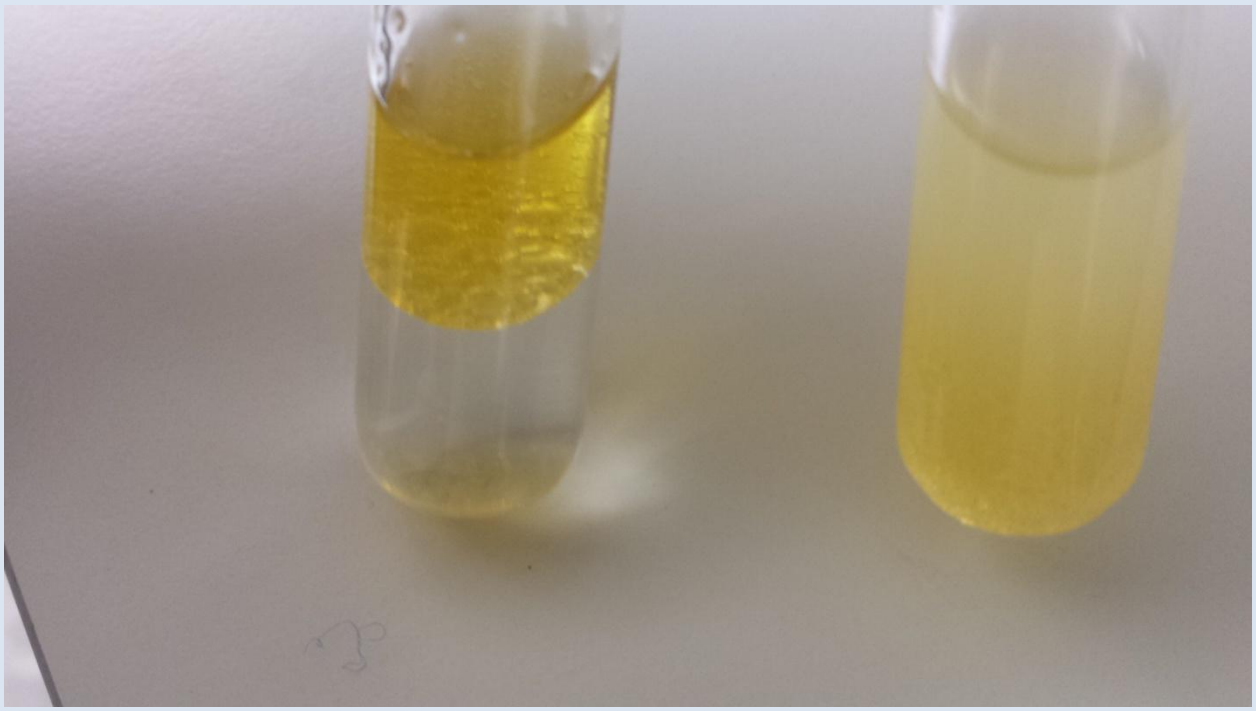
الانبوبة	المشاهدة
محلول الصابون+ HCL+ حمام ثلجي	يتحلل الصابون الي الاحماض الدهنية علي صورة حرة غير ذائبة في الماء

5- اختبار تكوين املاح الاحماض الدهنية الغير ذائبة

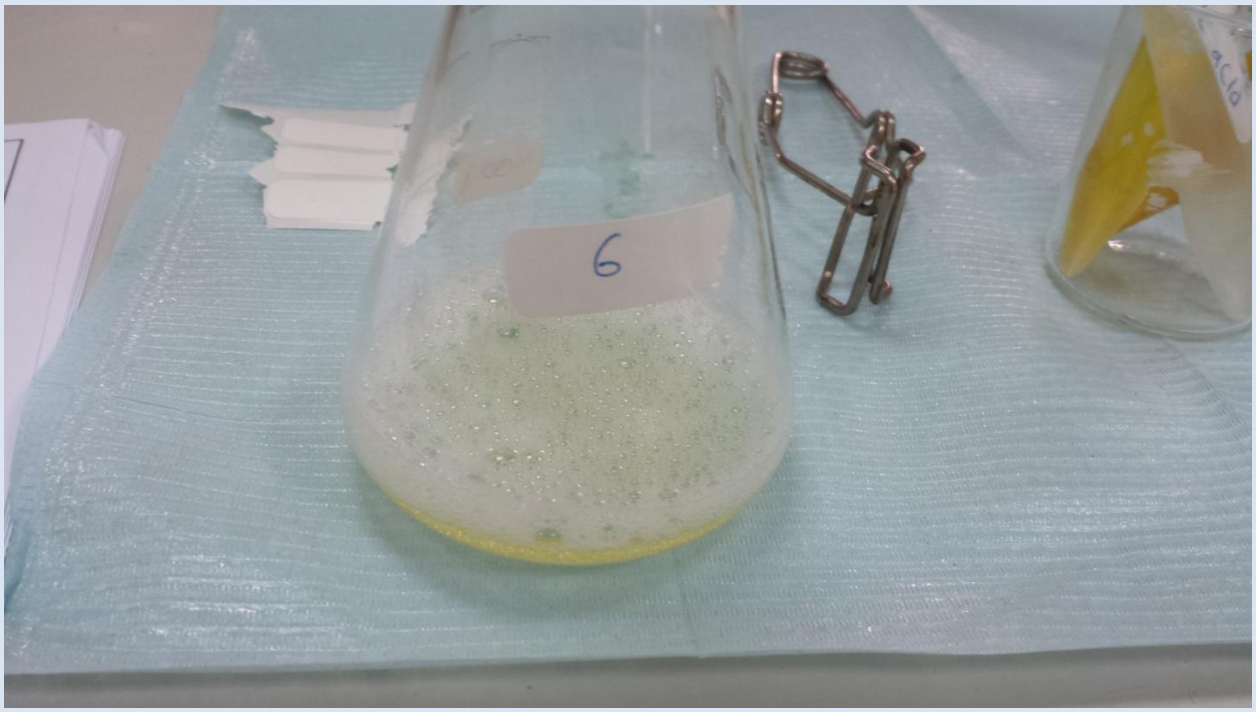
الانبوبة	المشاهدة
محلول الصابون+ كلوريد الكالسيوم	تكون راسب نتيجة ايونات الكالسيوم و المغنسيوم تعمل علي ترسيب الصابون وتجعلة غير ذائب في الماء فيصعب تكون رغوة
محلول الصابون+ كلوريد المغنسيوم	

6- اختبار خلات النحاس

الانبوبة	المشاهدة
زيت زيتون+ ايثر البترولي+ خلات النحاس	لا يتفاعل خلات النحاس مع الزيوت
حمض الاوليبك+ ايثر البترولي+ خلات النحاس	تكون طبقتين و يمكن استخلاص الملح النحاسي
حمض الاستيارك+ ايثر البترولي+ خلات النحاس	تكون راسب مزرق مموج و بالتالي لايمكن استخلاص الملح النحاسي



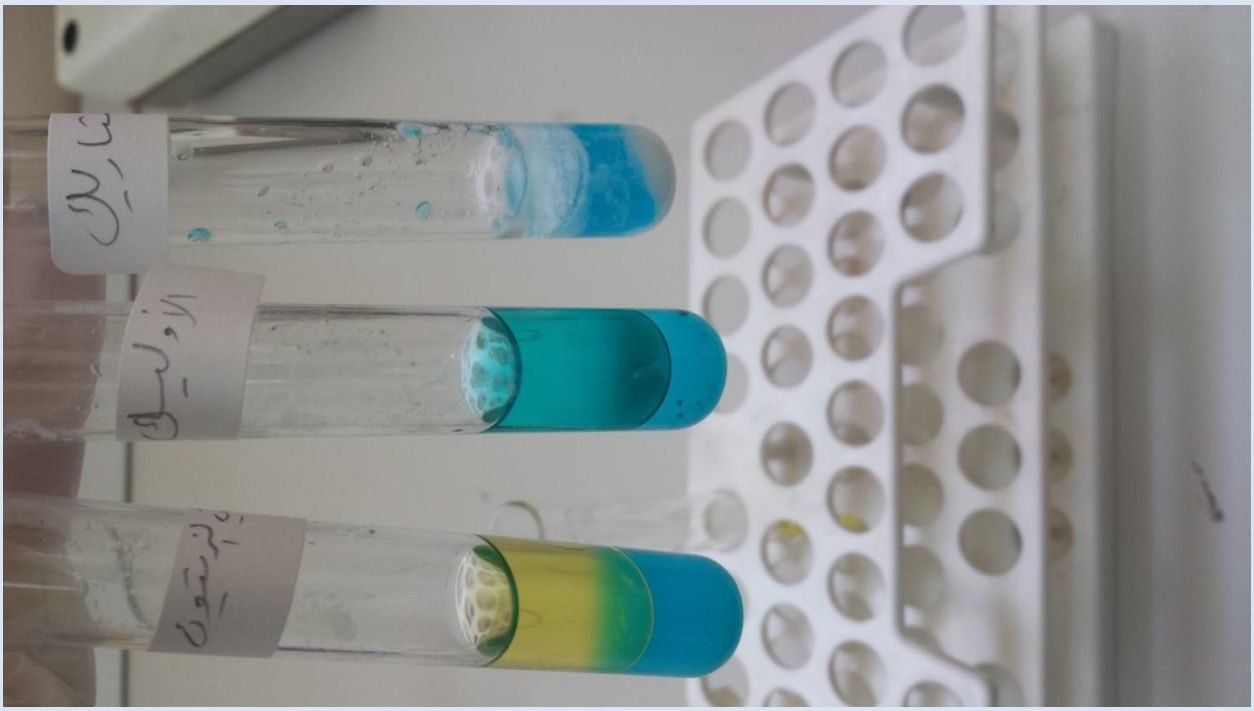
اختبار الذوبانية للدهون



اختبار التصبن

Eman Alshehri

اختبار تحضير الاحماض الدهنية من الصابون



اختبار خلات النحاس

Eman Alshehri

الإنزيمـــــــــات

a) Enzymatic Activity

Incubation Time (min)	Colour intensity(-, +,++ or +++)		
	Tube A	Tube B	Tube C
0	+	-	-
5	++	-	-
10	+++	-	-
15	+++	-	-
20	+++	-	-
25	+++	-	-

b) Chemical Nature of Polyphenol Oxidase

Tube	Treatment	Colour intensity
A	Control	++
B	Trypsin	-
C	TCA	-
D	phenylthiourea	-

c) Substrate Specificity

Substrate	Colour intensity
Catechol	+++
Phenol	-
Hydroquinone	+

d) Temperature and Enzymatic Activity

Temperature	Colour intensity
0 ^{o}C	-
37 ^{o}C	+++
70 ^{o}C	-