ملزمة الكيمياء الحيوية العملي

لطلبة كلية الزراعة والغابات

المرحلة الثانية

2022-2021

السلامة في المختبرات

يتطلب العمل في المختبرات وعي كامل بأهمية وخطورة المواد والأجهزة المستخدمة، حيث أن كثير من المواد تتصف بالسمية أو مهيجة للأغشية ومن المواد ماهو حارق أو مشتعل وغير ذلك من أشكال الخطورة، لذا يجب قبل بدء العمل في المختبر أن نعي أهمية وخطورة المواد المستخدمة، وأخذ الحيطة والحذر واتباع تعليمات السلامة الموصى بها في كل مختبر.

قواعد ومواصفات السلامة في المختبرات:

1. يجب أن تكون مساحة المختبر تتناسب مع أعداد الباحثين والطلاب لكي تسمحلهم بحرية الحركة خلال إجراء التجارب دون تزاحم.
2. يجب أن يتوفر بابان بقاعة المختبر للدخول والخروج، وأن يكون اتجاه فتح الأبواب للخارج.
3. يجب تزويد النوافذ بستائر مقاومة للحريق و قضبان حماية متحركة.
4. يجب تجهيز المختبر بوسائل الإضاءة والتهوية الطبيعية والصناعية ومتابعة الصيانة الدورية لتلك التجهيزات.
5. يجب أن تكون أرضيات المختبرات والأحواض والطاولات من الأنواع المقاومة للمواد الكيميائية والحريق.
6. يجب توفير خزانة غازات(هوود) وذلك لاستخدامها عند تحضير أو استخدام المواد المتطايرة أو الغازات الخطرة أو ذات الرائحة الكريهة.
7. يجب تجهيز المختبر بمقاعد مريحة سهلة الحركة ويمكن التحكم في ارتفاعها.
8. يجب تجهيز المختبرات بعدد كاف من نقاط الكهرباء متعددة الفولتية وذات أغطية.

9. يجب تجهيز المختبرات بأنظمة غاز وكهرباء ووضع مفاتيح للتحكم بهذه الأنظمة في مكان ظاهر يمكن الوصول إليها بسهولة في حالة الطوارئ.
10. يجب أن يزود كل مختبر بغرفة لتخزين الأدوات والأجهزة.
11. يجب تزويد كل مختبر بعربة نقل متحركة لنقل الأجهزة والأدوات من غرفة التحضير إلى المختبر وبالعكس.
12. يجب توفير وسائل السلامة الأولية مثل طفايات الحريق وصندوق الإسعافات الأولية ودوش غسيل الطوارئ وأجهزة إنذار وأن تكون في مكان ظاهر ويسهل الوصول إليه وعمل صيانة دورية لها للتأكد من صلاحيتها.

يمكن تقسيم المخاطر في المختبرات إلى:

1. مخاطر المواد الكيميائية.
2. مخاطر الزجاجيات.
3. المخاطر الكهربائية.
4. المخاطر الحيوية.

احتياطات السلامة من مخاطر المواد الكيمائية:

1. معرفة خصائص المادة الكيميائية من خلال العلامات الإرشادية على العبوة.
2. عدم لمس المواد الكيمياوية باليد مباشرة وعدم تذوقها أ و استنشاقها.
3. لبس القفازات والبالطو أثناء العمل.
4. عدم استخدام الفم لملء الماصة بل يجب استخدام الضاغطة الهوائية.
5. عدم تخزين الكيماويات داخل المختبر ولكن يجب وضعها في أماكن تخزين خاصة.
6. التخلص من بواقي المواد الكيميائية بالطريقة المناسبة لكل مادة حسب إرشادات الفني المسؤول عن المختبر.
7. إجراء التجارب التي يتصاعد منها غازات أو روائح في غرفة الغازات.
8. عدم توجيه أنبوبة الاختبار ناحية الوجه أو الجسد أثناء التسخين.

9. إغلاق زجاجات الكيماويات عند الانتهاء منها وعدم فتح عدة زجاجات في وقت واحد.

العلامات الإرشادية على عبوات المواد الكيميائية

احتياطات السلامة من مخاطر الزجاجيات

1. تخزين الزجاجيات على رفوف ذات ارتفاع مناسب ليسهل التقاطها و إعادتها.
2. حمل الزجاجيات بطريقة مناسبة وبحذر وعدم حمل أكثر من زجاجة واحدة في المرة الواحدة.
3. عدم استخدام زجاجات غير نظيفة أثناء التجارب.
4. عدم لمس الزجاج أثناء التسخين باليد مباشرة ويجب استخدام الماسكات المخصصة لذلك .

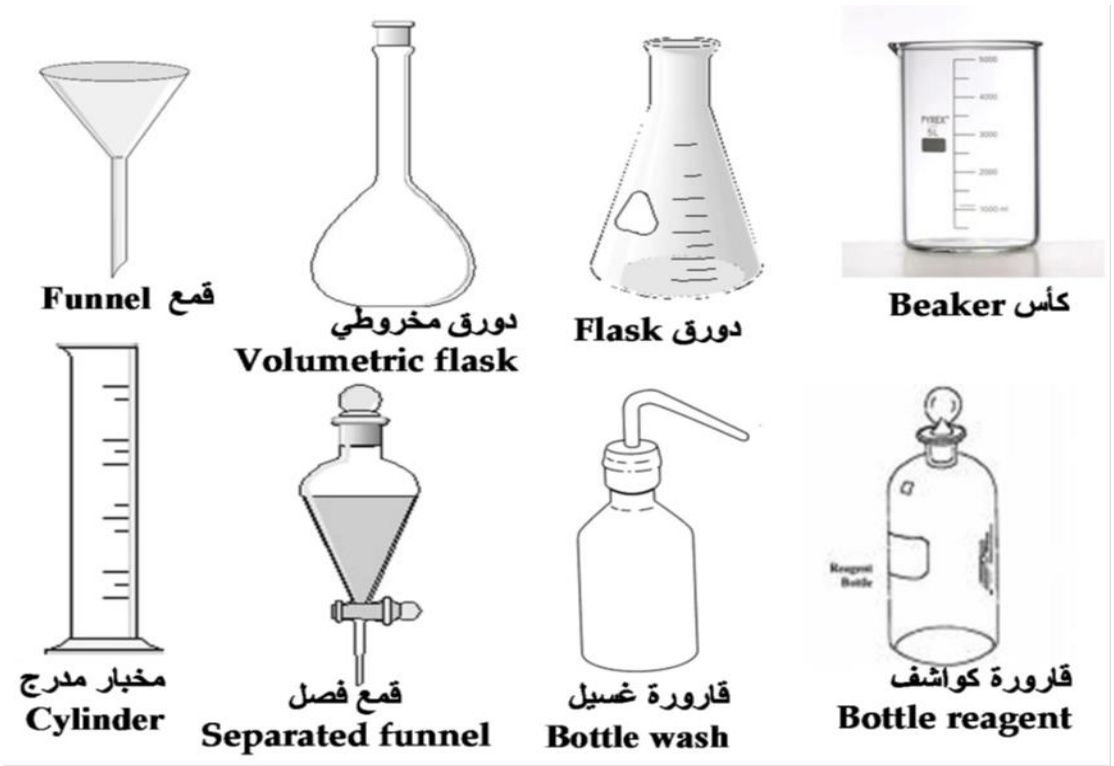
احتياطات السلامة من المخاطر الكهربائية

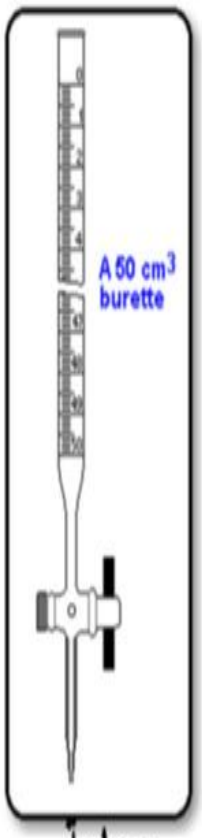
1. يجب أن تكون صنابير المياه بعيدة عن الكهرباء والأجهزة.
2. التأكد من قوة التيار الكهربائي (١١٠ أو ٢٢٠ فولت) قبل توصيل الأجهزة.
3. صيانة الأجهزة بشكل دوري وتنظيفها.
4. مراقبة الأجهزة أثناء التشغيل وإطفاءها بعد الانتهاء من الاستخدام.

إرشادات السلامة في مختبرات قسم الكيمياء الحيوية

1. لبس الصديرية لحماية ملابسك وجسمك من الكيماويات المنسكبة.
2. لبس القفازات المناسبة عند التعامل مع المواد الكيميائية أو العينات.
3. لبس الحذاء الواقي يحميك من الأخطار المحتملة.
4. وضع نظارة واقية لحماية العينين من المواد الكيميائية.
5. إزالة القبعة او ما شابه قبل البدء في إجراء التجربة.
6. تأدية التجربة بحرص و هدوء يقيك من الحوادث.
7. تجنب الأحاديث الجانبية مع زملائك أثناء القيام بالتجربة.
8. تبليغ الفني المسؤول عن المختبر عن الحوادث مهما كانت صغيرة.
9. لا تتردد في سؤال الأستاذ عما لا تعرف.
10. عدم شم أو استنشاق روائح المواد الكيميائية.
11. عدم لمس أو تذوق المواد الكيميائية.

12. عدم الأكل أو الشرب داخل المختبرات.
13. عدم التدخين داخل المختبرات.
14. عدم إخراج المواد الكيميائية من المختبر.
15. عدم استعمال أو لمس الأدوات الملوثة بالكيماويات.
16. طلب ا لإسعافات الأولية فورا إذا تعرض أي شخص لأي حادث لا سمح الله.
17. الالتزام باحتياطيات السلامة الخاصة بكل تجربة.
18. إجراء التجارب التي يتصاعد منها غازات في خزانه سحب الغازات.
19. استخدام التسخين بالحمام المائي بدلا من اللهب المباشر.
20. سحب السوائل بطريقة آمنه باستخدام الماصات البلاستيكية أو الماصات الزجاجية بالضاغطة الهوائية.
21. اقرأ علامات التحذير المدونة على زجاجات المواد الكيميائية قبل لاستعمال.
22. عدم محاوله فك الزجاجيات المستعصية بالقوة.
23. غسل اليدين بالماء والصابون دائما بعد الانتهاء من التجربة.
24. استخدام المواد المطهرة لتعقيم اليدين ولتعقيم المكان بعد استخدام العينات.
25. جعل المساحات التي تعمل بها نظيفة.

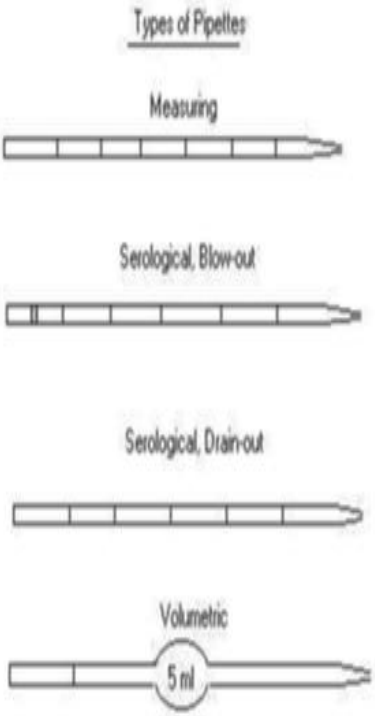




سحاحة

Burette

ماصة أوتوماتيكية

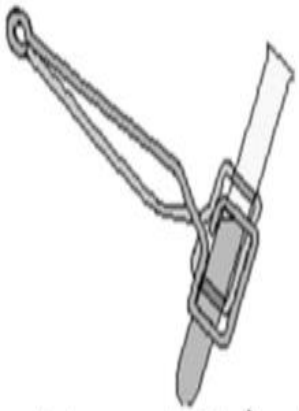


ماصات

Pipette

حامل أنابيب

Rack



أنبوبة اختبار مع ماسك

Test tube with tongs

قطارة Pastuer

الكاربوهيدرات

اختبارات اختزالية:

وتتضمن اختبار بندكت اختبارباڤويد.

اختبار بندكت: –

اختبار بندكت

• الهدف من التجربة:

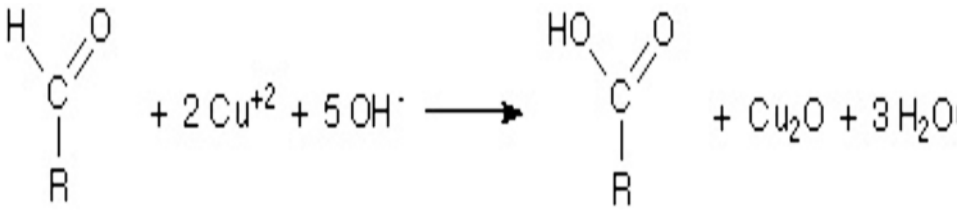
التميزبين السكريات المختزلة (الكلوكوز –الفركتوز – المالتوز– اللاكتوز– الريبوز– الارابينوز) و غير المختزلة (السكروز)

• النظرية العلمية للاختبار:

أولا يتكون محلول بندكت من (كبريتات النحاس+ بيكربونات الصوديوم+ سترات الصوديوم)

أساس الاختبار:

يتكون محلول بندكت من كبريتات النحاس وقلوي ضعيف هو كربونات الصوديوم حيث يتكون راسب أزرق من هيدروكسيد النحاس، لذلك يضاف محلول سترات الصوديوم التي تذيب الراسب ويتكون محلول رائق هو مركب سترات النحاس الثنائي. ويختزل هذا المركب في وجود سكر مختزل إلى أكسيد النحاسوز الأحمر حيث يظهر بشكل راسب أحمر أو برتقالي. والسكريات المختزلة هي تلك التي تحتوي على مجموعة حرة من الالدهيد CHO أو الكربونيل C=O وتوجد هاتان المجموعتان في الصيغ ذات السلسلة المفتوحة أما في الصيغ الحلقية فإن هذه المجموعات المختزلة تظهر بتحول التركيب الحلقي إلى التركيب ذات السلسلة المفتوحة أثناء التفاعل.



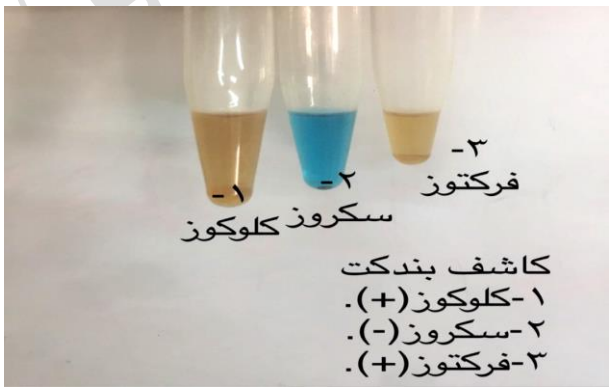
Aldehyde **Carboxyl** **راسب احمر من أوكسيد النحاس**

المواد والادوات:

1. محلول بندكت
2. محاليل سكرية مختلفة.

طريقة العمل:

1. أضف إلى حوالي 5مل من كاشف بندكت 8 نقاط من محلول السكر ورج المزيج.
2. سخن حتى درجة الغليان (لمدة دقيقتين)أو ضع الأنبوبة في حمام مائي مغلي لمدة 3 دقائق
3. أترك الأنبوبة لتبرد ببطء (تجنب التبريد بماء الصنبور).
4. لا حظ تكون راسب أحمر أو برتقالي أو أخضر وذلك حسب كمية السكر المختزل. وفي حالة عدم وجود سكر مختزل يبقى المحلول بلونه الأزرق الرائق.



اختبار بايل:

الغرض من الاختبار:

التمييز بين السكريات الأحادية الخماسية (البنتوزات مثل الارابينوز والريبوز) والسكريات الأحادية السداسية (الهكسوزات مثل الجلوكوز والفركتوز).

أساس الاختبار:

إذا سخن محلول البنتوز مع حمض الهيدروكلوريك المركز لمدة قصيرة يتكون الفورفورال وهذا يتفاعل مع الاورسينول في وجود أيونات الحديدك حيث يتكون لون أخضر مزرق.

يلاحظ أن التسخين لمدة طويلة قد يحول دون تحول الهكسوز إلى هيدروكسي ميثي فورفورال الذي يتفاعل مع الاورسينول.

المواد والادوات:

كاشف الاورسينول (يذاب 1.5 جم من الاورسينول في 500 مل من حامض الهيدروكلوريك المركز ثم يضاف 20 قطرة من محلول 10 % كلوريد الحديدك).

طريقة العمل:

أضيف حوالي 1مل من محلول السكر إلى 2.5 مل من كاشف الاورسينول في أنبوبة اختبار وسخن حتى يبدأ الغليان فقط. إذا تكون لون أخضر مزرق فإن الكشف موجب.

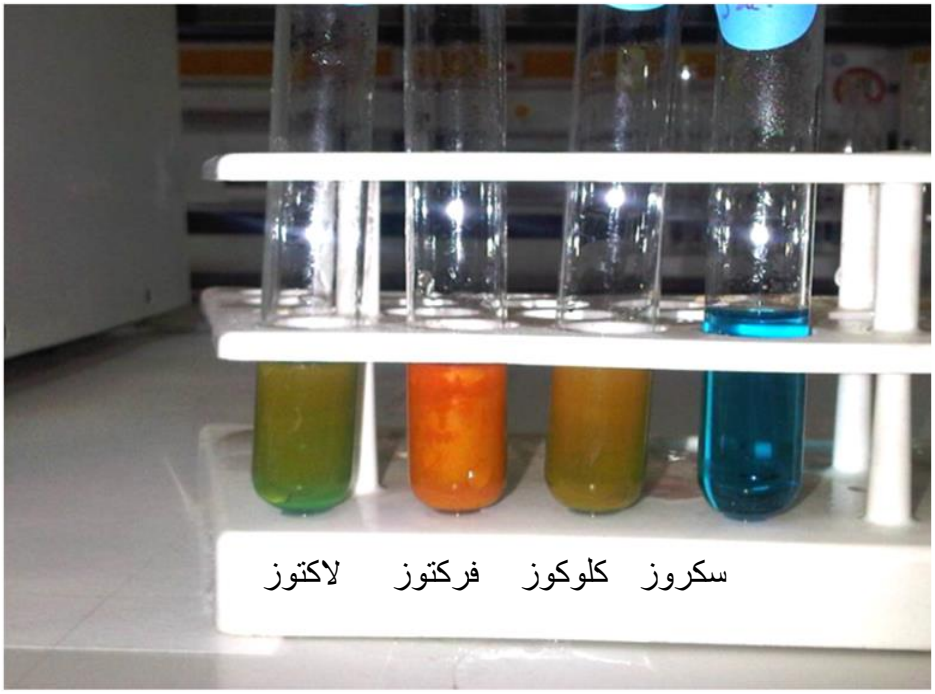
اختبار بارفويد: –

الغرض من الاختبار:

التمييز بين سكر أحادي مختزل (الكلوكوز الفركتوز الارابينوز الريبوز) وسكرثنائي مختزل (المالتوز اللاكتوز).

أساس الاختبار:

في هذا الاختبار يتم الاختزال في وسط حامضي بدلاً من الوسط القلوي كما هو الحال في اختبار بندكت واختبار حمض البكريك. وفي هذه الظروف تستجيب السكريات الأحادية المختزلة للاختبار أسرع من السكريات الثنائية المختزلة حيث تتفاعل السكريات الثنائية المختزلة ببطء وبصورة غير تامة. ويتكون كاشف بارفويد من محلول خلات النحاس في حمض الخليك.



العينة	النتيجة	الاستنتاج (المناقشة)
كلوكوز		
فركتور		
لاكتوز		
سكروز		

رؤية الأعرجي

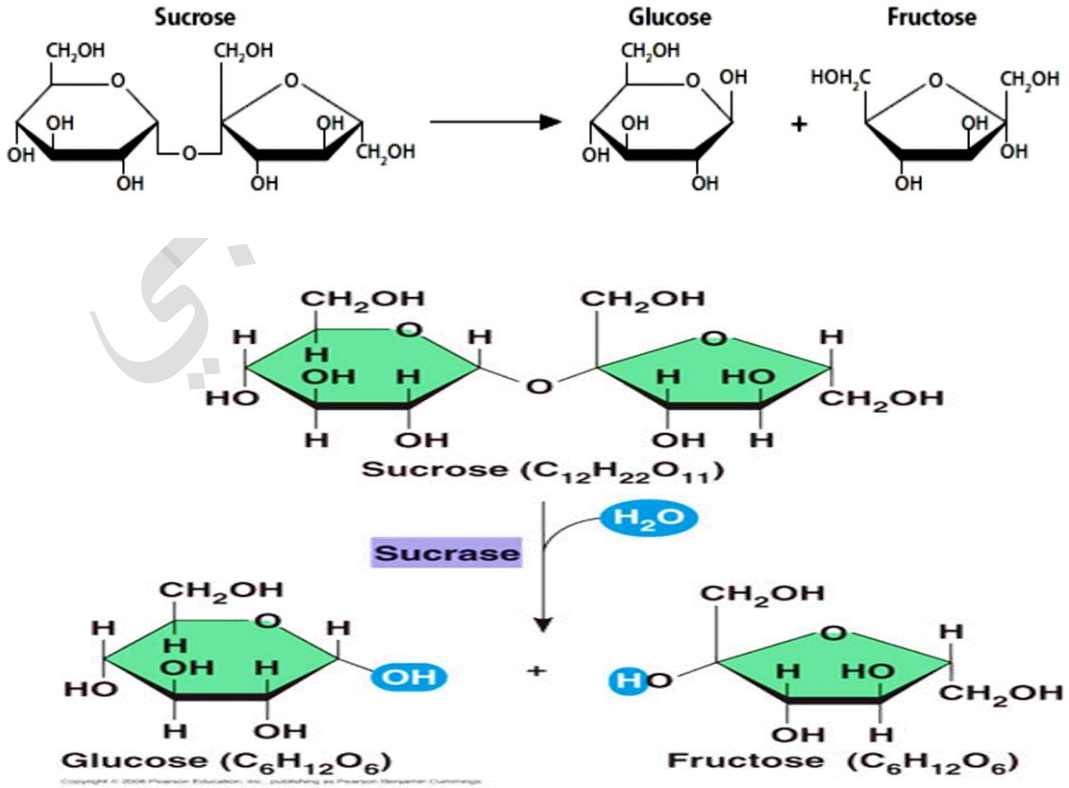
الاختبارات الوصفية للسكريات العديدة والثنائية Qualitative Tests for Di and Ploysaccharides

التحلل المائي للسكروز

يستخدم هذا الاختبار للكشف عن نواتج التحلل لمائي للسكروز بواسطة حامض الهيدروكلوريك المركز حيث يتم كسر الرابطة الكلايكوسيدية واضافة جزيء ماء.

النظرية العلمية للاختبار :

السكروز سكر ثنائي يتكون من ارتباط جزيء من الكلوكوز مع جزيء من الفركتوز في الذرتين ١ و ٢ على الترتيب ولذلك لا توجد مجموعات مختزلة في السكروز وبالتالي فإنه لايمتلك الخواص الاختزالية فلا يؤثر على كاشف بندكت ولا بارفويد الا في حالة تحلله الى مكوناته الاصلية من السكريات الاحادية. فعند تحلله مائيا او انزيميا بفعل انزيم الانفرتيز (السكريز) يعطي السكرين المختزلين الكلوكوز والفركتوز فيكتسب خواصا اختزالية مما يسهل الكشف بطريقة غير مباشرة عن وجوده في المحاليل .



المواد والأدوات:

1.محلول سكروز (1 غم/ لتر).
2.حامض الهيدروكلوريك المركز.
3.محلول هيدروكسيد الصوديوم (٥ عياري).
4.كاشف بندكت .
5.حمام مائي يغلي .
6.أنابيب اختبار – ماسك – ماصه .

طريقة العمل :

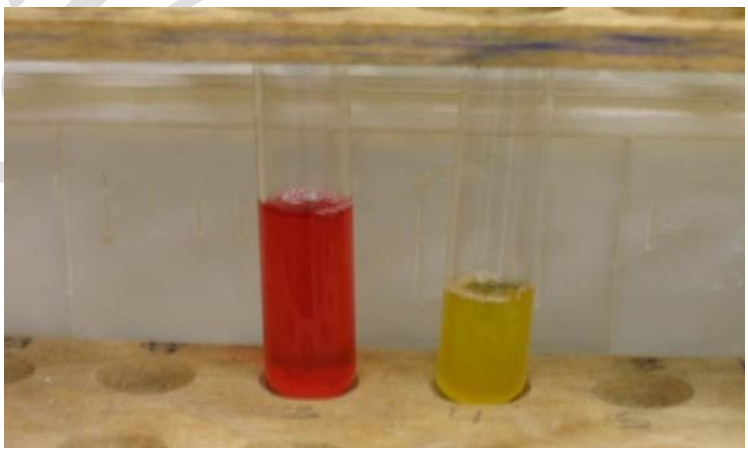
1. ضع 2 مل من محلول السكروز في أنبوبة اختبار .

2. أ ضف 3 نقط من حامض الهيدروكلوريك المركز .

3 . سخن لمدة 5 دقائق في حمام مائي يغلي ثم أترك الأنبوبة لتبرد .

٠4 اضف 0.5 مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم لتحصل على محلول متعادل أوقلوي.

5. اكشف عن وجود الكلوكوز والفركتوز في المحلول وذلك باجراء اختبار بندكت للكشف عن الكلوكوز او اجراء اختبار سليفانوف للكشف عن الفركتوز.



من التجارب المميزة للسكروز

السكريات الثنائية **السكروز**

الخواص الفيزيائية الذائبية:تذوب فى الما ء البارد والساخن

اللون :ابيض **الشكل** :مسحوق

التجارب الكيميائية

التجربة	المشاهدة	الاستنتاج
1. مولش 2. بندكت 3. فهلنج **4-التحلل المائى للسكروز**	**حلقة بنفسجية تنتشر بالرج** **- لايظهرراسب برتقالي** **-لايظهرراسب احمر بني** **+ لون احمر**	**المادة كربوهيدرات** **المادة سكر غيرمختزل** **امادة سكر غيرمختزل** **سكروز تم التحلل الى كلوكوز وفركتوز**

النتائج :

الأنبوبة	الملاحظة	الاستنتاج

مناقشة النتائج :

. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

اختبار اليود Iodine Test

يستخدم هذا الاختبار للتمييز بين السكريات المتعددة (النشا ،الكلايكوجين ،الديكسترين ، الأنيولين) والسكريات الاخرى(الاحادية والثنائية) حيث تعطي بعض السكريات مثل النشا (أميلوز وأميلوبكتين) والكلايكوجين والدكسترين ألواناً مميزة عند إضافة اليود إليها .

النظرية العلمية للاختبار :

تعتمد فكرة الاختبار على ظاهرة فيزيائية لونية وليس تفاعلا كيميائيا حيث يكون متراكبات امتزازية (يدمص على سطح النشا) مع السكريات المتعددة حيث يتموضع اليود بين طيات السلاسل الكربوهيدراتية الحلزونية لجزيء النشا والأميلوز مثلا ويعطي لون أزرق داكن ناتج عن انعكاس الضوء، ويعطي الكلايكوجين لون بني او أحمر ويعطي الديكسترين ألوانا تتدرج من البنفسجي الفاتح الى البني الى الاصفر تبعا لعدد وحدات الكلوكوز بجزئ الدكسترين. هذا اللون يزول بالتدفئة ويعود بالتبريد مرة اخرى. و لا يعطي الانيولين أي لون مع اليود . كذلك لاتعطي السكريات الاحدادية والثنائية كشف موجب مع اليود.

المواد والأدوات :

1.محلول اليود (يذاب 0.6 غم يود في 500 مل من من محلول يوديد البوتاسيوم 3%).

2. محاليل سكريات متعددة (النشا – ا لكلايكوجين – الديكسترين).

3. محاليل سكريات أحادية وثنائية (كلوكوز – سكروز).

4. حمام مائي .

5. أنابيب اختبار – ماسك – ماصة.

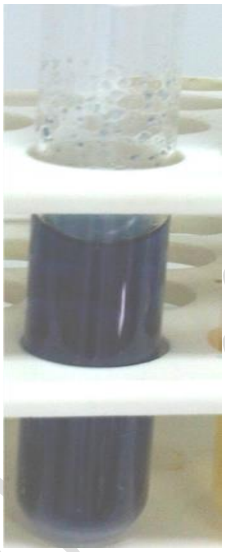
طريقة العمل :

1 . ضع 2 مل من محلول الكربوهيدرات في أنبوبة اختبار .

2 . أضف 3 قطرات من محلول اليود .

3. سخن الانبوبة لدرجة الغليان حيث يلاحظ اختفاء اللون المتكون سابقا وظهوره بالتبريد وعند الاستمرار بالتسخين يختفي اللون ولا يعاود ظهوره بسبب تبخر اليود

النشا+محلول اليود بعد التسخين



النشا + محلول اليود قبل التسخين

الكلوكوز+ محلول اليود

النتائج :

الأنبوبة	الملاحظة	الاستنتاج

مناقشة النتائج :

. . . . . .
. . . . . .
. . . . . .
. . . . . .

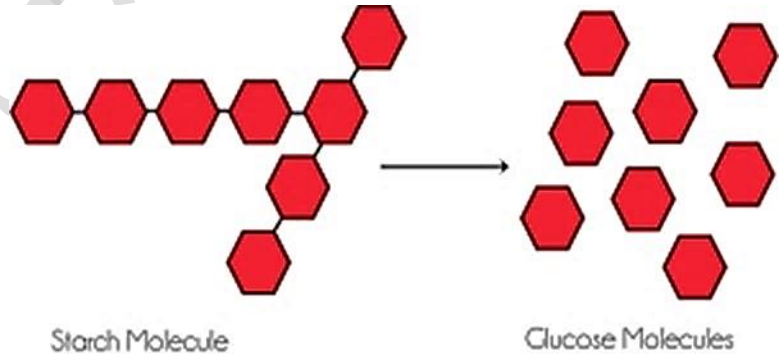
التحلل المائي للنشا بالحوامض المعدنية Hydrolysis of Starch by Mineral Acids

الغرض من الاختبار

التعرف على طبيعة السكر الأحادي المكون لجزئ النشا وذلك بالتحلل المائي في وسط حامضي حيث يتكون الكلوكوز الذي يمكن الكشف عنه.

النظرية او الاساس العلمي للاختبار:

لا يحتوي جزئ النشا إلا على عدد محدد جدا من المجموعات المختزلة ولذا فهو أساسا لا يختزل محلول بندكت و لا حامض البكريك و لا كاشف بارفويد. أما بعد التحلل المائي فيتكون الكلوكوز وهو سكر مختزل ويكون اوسازون.



المواد والادوات :

1.محلول النشا (1 %)
2. حامض الهيدروكلوريك المركز
3. محلول هيدروكسيد الصوديوم (5 عياري)
4. محلول اليود

طريقة العمل:

1. خذ حوالي 25 مل من محلول النشا في كأس وأضف اليه 10 قطرات من حامض الهيدروكلوريك المركز
2. سخن حتى الغليان .
3. بعد كل دقيقة خذ 3 قطرات من المحلول وأضفها إلى 5 مل من محلول بندكت في أنبوبة اختبار حتى يتجمع لديك 4-5 عينات إلى أن يصبح كشف اليود سالب.
4. ضع الأنابيب المحتوية على محلول بندكت في حمام مائي يغلي لمدة 3 دقائق ثم أخرجها من الحمام المائي ودعها تبرد . لاحظ درجة الاختزال في كل أنبوبة. قارن ذلك بنتائج اختبار اليود.
5. أجر كشف الفينيل هيدرازين على جزء من المحلول الباقي وتعرف على السكر الناتج.

ملاحظة:عند اجراء كشف بندكت يجب معادلة الحمض بمحلول هيدروكسيد الصوديوم

النتائج :

الأنبوبة	الملاحظة	الاستنتاج

مناقشة النتائج :

. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

. . . . . .

التجربة	طريقة عمل التجربة	المشاهدة
مولش	٢مل من محلول السكر+٣قطرات من محلول ألفا –نافثول الكحولي + 2مل من حامض الكبريتيك المركز	**حلقة بنفسجية تنتشر بالرج**
بنديكت	2مل من محلول بندكت+ ١ مل من المحلول السكرى تسخين فى حمام مائى (3 دقائق)	**راسب أحمر برتقالي**
بارفويد	ضع في أنبوبة اختبار 2مل من كاشف بارفويد ثم ضع ١مل من المحلول السكري الأحادي تسخين فى حمام مائى (3 دقائق)	**راسب أحمر خفيف**
سلفانوف	1مل محلول السكر + 2مل محلول سلوانوف (كاشف) تسخين فى حمام مائى (3 دقائق)	**لون احمر**

المحاضرة الثانية

2.المحاليل المنظمة:

2 .1 . الرقم الهيدروجيني pH

اقترح العالم سورنسن Sorensen طريقة للتعبير عن حموضة المحاليل باستخدام الرقم الهيدروجيني الذي يعرّف بأنه:

اللوغاريتم السالب لتركيز أيونات الهيدروجين في المحلول .

$$pH = - Log[H+]$$

وبملاحظة أن الإشارة سالبة فإن قيمة الرقم الهيدروجيني ترتفع كلما انخفض تركيز أيونات الهيدروجين والعكس صحيح.

pH Value

2.1.2. قياس الرقم الهيدروجيني :

لقياس الرقم الهيدروجيني للمحاليل المختلفة بدقة يجب أن نستخدم جهاز خاص يسمى pH meter يتكون الجهاز من قطبين الأول يسمى قطب مرجعي يحتوي على محلول مشبع من كلوريد البوتاسيو م يعمل اتصالا كهربائيا بالمحلول، والثاني قطب زجاجي في أسفله غشاء رقيق على شكل انتفاخ حساس ونفاذ لأيونات الهيدروجين. يقيس هذا الجهاز الفرق في الجهد بين القطبين، ويحوله إلى رقم هيدروجيني من 0 إلى 14.

جهاز قياس الرقم الهيدروجينيpH meter

2.2. المحاليل المنظمة Buffer Solutions

هي المحاليل التي تقاوم التغير في الرقم الهيدروجيني عند إضافة كميات قليلة من الأحماض أو القواعد القوية أو المخففة، وهي عبارة عن محلول لحامض ضعيف وأحد أملاحه أو قاعدة ضعيفة وأحد أملاحها.

المحاليل المنظمة لها أهمية كبيرة في الأنظمة الكيميائية والبيولوجية بحيث تتميز السوائل الحيوية برقم هيدروجيني ثابت، تختلف قيمة ال pH من سائل إلى آخر ففي جسم الإنسان، فمثلا في الدم تبلغ 7.4 بينما في العصارة المعدية تبلغ 1.5، هذه القيم تعتبر مناسبة ومثالية لعمل الإنزيمات وموازنة الضغط الأوزموزي. هذه القيم يحافظ عليها غالبا عن طريق المحاليل المنظمة وأهم المحاليل المنظمة هي الفوسفات والبيكربونات.

وضع العالمان هندرسون و هاسلباخ Henderson & Hasselbalch المعادلة الأساسية التي توضح العلاقة بين الرقم الهيدروجيني pH ونسبة الحامض والقاعدة المقترنة. وهذه المعادلة لها أهميتها في فهم عمل وتحضير المحاليل المنظمة.

لنفترض أنه يوجد لدينا محلول من الحمض الضعيف ويرمز له HA فإنه يتفكك لدى إذابته في الماء حسب المعادلة التالية:

حامض ضعيف قرين قاعدة قرينة

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

وطبقا لقانون فعل الكتلة فإن قيمة ثابت التفكك للحمض :

$$\boldsymbol{Ka} = \frac{[\boldsymbol{H}+][\boldsymbol{A}-]}{[\boldsymbol{HA}]}$$

للحصول على قيمة pH تفصل $[H^+]$ لوحدها في طرف ونأخذ اللوغاريتم لكلا الطرفين الناتجين

$$[\boldsymbol{H}+] = \frac{[\boldsymbol{Ka}][\boldsymbol{A}-]}{[\boldsymbol{HA}]}$$

$$\mathbf{log}_{[\boldsymbol{H}+]} = \mathbf{log}\, \boldsymbol{Ka} \frac{[\boldsymbol{HA}]}{[\boldsymbol{A}-]}$$

وبحسب قوانين اللوغاريتمات نحصل على :

$$\mathbf{log}_{[\boldsymbol{H}+]} = \mathbf{log}\, \boldsymbol{Ka} + \mathbf{log}\, \frac{[\boldsymbol{HA}]}{[\boldsymbol{A}-]}$$

وبضرب الطرفين في (_)

$$-\mathbf{log}_{[\boldsymbol{H}+]} = -\mathbf{log}\, \boldsymbol{Ka} - \mathbf{log}\, \frac{[\boldsymbol{HA}]}{[\boldsymbol{A}-]}$$

معادلة هندرسون – هاسلبالخ

$$\boldsymbol{pH} = \mathbf{p}\boldsymbol{Ka} + \mathbf{log}\, \frac{[\boldsymbol{A}-]}{[\boldsymbol{AH}]}$$

ويمكن استخدام هذه المعادلة في حساب الرقم الـلهيدروجيني للمحلول المنظم المراد تحضيره إذا عُرفت نسبة الحامض إلى القاعدة المقترنة وثابت التفكك للحامض pKa

ومن المعادلة السابقة نجد أن الرقم الهيدروجيني للمحلول المنظم يعتمد على عاملين هما :

1. قيمة pKa
2. النسبة بين تركيز الحمض والقاعدة المقترنة.