كلية الصيدلة

الكيمياء الحيوية (١)

الجلسة العملية العاشرة

الكشف عن المركبات الآزوتية

(البولة والكرياتينين والنشادر)

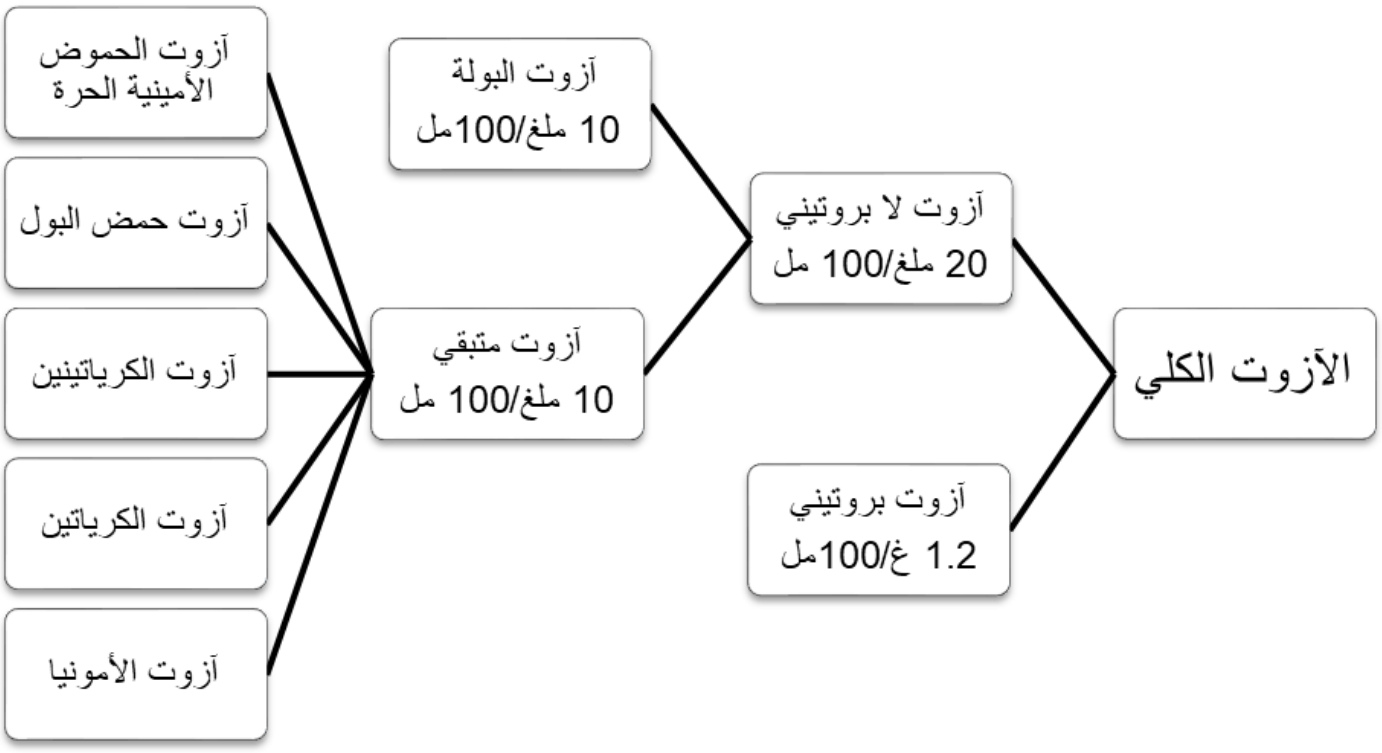
❖ **أهداف الجلسة:**

١. **التعرف على أهم المواد الآزوتية اللابروتينية الموجودة في الجسم الحي.**

٢. **التعرف على التفاعلات النوعية للكشف عن أهم المواد الآزوتية (النشادر والبولة والكرياتينين وتمييزها).**

مقدمة:

تتوزع المواد الآزوتية الكلية الموجودة في الدم إلى آزوت بروتيني وآزوت لا بروتيني، يشمل الآزوت اللابروتيني مجموعة من نواتج استقلاب البروتينات تضم : البولة Urea ، الأحماض الأمينية الحرة، حمض البول Uric acid ، الكرياتين والكرياتينين، الأمونيا . تعتبر البولة والكرياتينين النواتج الرئيسية لاستقلاب المواد الآزوتية في الجسم.

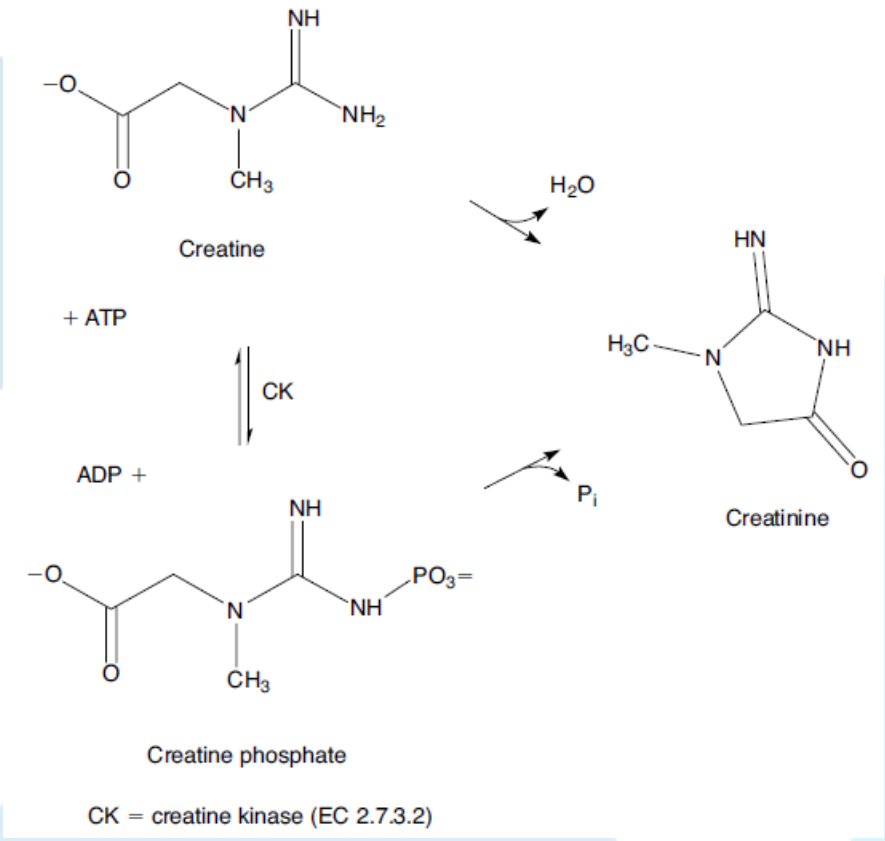


البولة Urea:

هي المستقلب الرئيسي للبروتينات والحموض الأمينية، حيث تنتج الأمونيا بعمليات نزع الأمين من الحموض الأمينية وتدخل الأمونيا في حلقة البولة urea cycle في الكبد لتشكيل البولة .تشكل البولة 50 – 75 % من المركبات الآزوتية غير البروتينية .تطرح البولة عن طريق الكلية بنسبة 90% لذلك تعطي دلالة على الوظيفة الكلوية وبما أنها تتشكل في الكبد فهي تعطي أيضاً دلالة على الوظيفة الكبدية.

الكرياتينين creatinine:

هو بلا ماء الكرياتين، ينشأ الكرياتين في الكبد من الحموض الأمينية التالية :الغليسين والأرجينين والمتيونين، ثم يتحول في العضلات إلى كرياتين فوسفات كمركب خازن للطاقة بتدخل أنزيم الكرياتين كيناز. يتحول يومياً 1.5 – 2%من مجموع الكرياتين في الجسم إلى كرياتينين الذي ينتقل بالبلاسما إلى الكلية حيث ينطرح بالبول بشكل كامل تقريباً. ويعتبر الكرياتينين أيضاً من أهم مشعرات الوظيفة الكلوية.



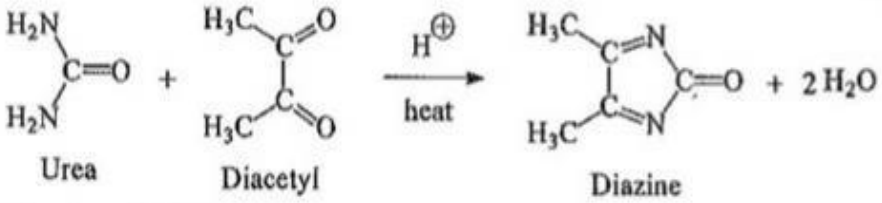
❖ **التجارب العملية:**

التجربة رقم (1):

الكشف عن البولة باستخدام دي أسيتيل مونوكسيم:

- **المبدأ:**

يستخدم هذا الاختبار في الكشف الكيفي والكمي عن البولة. يتحلمه الدي أسيتيل مونوكسيم في وسط حمضي معطياً دي أسيتيل، تتكاثف البولة مع الدي أسيتيل بدرجة حرارة 100 م وتعطي معقد بلون أحمر وردي. يضاف الثيوسيمي كاربازيد Thiosemicarbazide لتحفيز تشكل المعقد اللوني.



- **المواد المستعملة:**

✓ محلول دي أسيتيل مونوكسيم%

✓ محلول تيوسيميكاربازيد%

✓ حمض كبريت مركز

✓ محلول البولة1 %

- **طريقة العمل:**

١. يوضع في أنبوب اختبار 0.5 مل من محلول البولة.

٢. يضاف 0.5 مل دي أسيتيل مونوكسيم.

٣. تضاف بضع قطرات من حمض الكبريت المركز على جدران الأنبوب.

٤. يضاف 0.5 مل تيوسيميكاربازيد.

٥. يسخن الأنبوب على حمام مائي بالدرجة 100 مئوية لمدة 10 دقائق.

٦. سجل الملاحظات والنتائج .

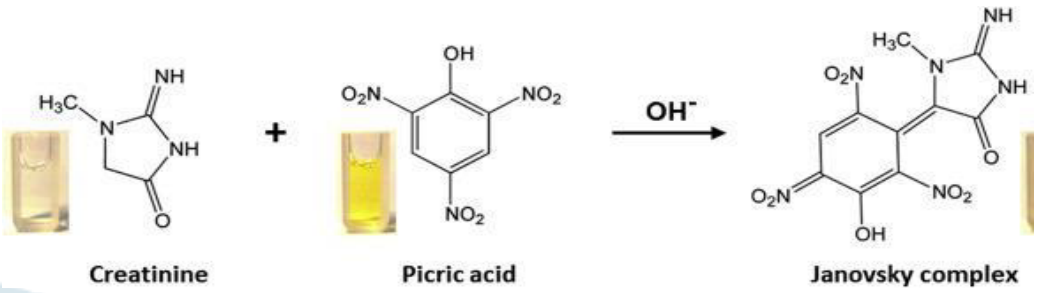
التجربة رقم (2):

تفاعل جافيه Jaffee للكشف عن الكرياتينين:

- **المبدأ:**

إن طريقة جافيه هي أقدم طريقة ولازالت تستخدم حتى اليوم في كشف ومعايرة الكرياتينين لكن مع بعض التعديلات.

يتكاثف الكرياتينين مع حمض المرPicric acid (حمض 6 ،4 ، 2 ثلاثي نترو الفينول) في وسط قلوي مشكلاً معقد بلون أصفر برتقالي يدعى معقد جانوفسكي.



Creatinine Picric acid Janovsky complex

- **المواد المستعملة:**

✓ حمض المر.

✓ ماءات الصوديوم.

✓ محلول الكرياتينين.

- **طريقة العمل:**

١. يوضع في أنبوب اختبار 0.5 مل من محلول الكرياتينين.

٢. يضاف 0.5 مل من حمض المر.

٣. تضاف عدة قطرات من ماءات الصوديوم.

٤. تسجل الملاحظات والنتائج.

التجربة رقم (3):

الكشف عن النشادر باستخدام كاشف نسلر:

- **المبدأ:**

يتألف كاشف نسلر من رباعي يود زئبقات البوتاسيوم $K_2(HgI_4)$. يعطي هذا الكاشف مع النشادر راسب بلون أصفر برتقالي إلى أحمر حسب تركيز النشادر.

- **المواد المستعملة:**
  - ✓ كاشف نسلر
  - ✓ كبريتات الأمونيوم 1%
  - ✓ ماءات الصوديوم 0.5%

- **طريقة العمل:**

١. يوضع في أنبوب اختبار 0.5 مل من محلول كبريتات الأمونيوم.

٢. يضاف 0.5 مل من كاشف نسلر.

٣. تضاف عدة قطرات من ماءات الصوديوم.

٤. تسجل الملاحظات والنتائج.