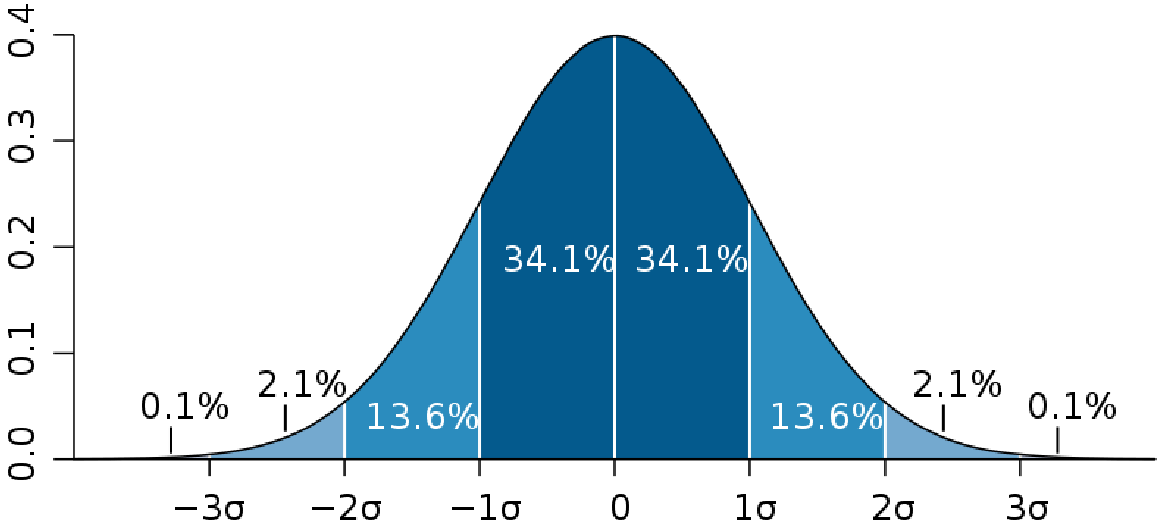
تحليل الاغذية

الدكتور: سرحان محمد

الأكاديمية العربية الدولية – منصة أعد

تحليل الأغذية

- ❑ يتطلب تحليل الأغذية القدرة على فهم وتحليل البيانات لذلك لابد من معرفة الأساسيات في الإحصاء
- ❑ من اهم المفاهيم التي يجب الالمام بها :
  - المتوسط الحسابي = مجموع القيم / عددها
  - الوسيط = القيمة الوسطية بين مجموعة قيم
  - الانحراف المعياري _ Standard deviation



تحليل الأغذية

- عند تحليل أي مادة غذائية يتطلب ذلك سحب وإعداد العينة لغرض التحليل
- لابد أن تكون العينة المسحوبة"Sample" ممثلة عن المجتمع "Population"
- ينتج أهيمه سحب العينات من منطلق المخاطر التي يمكن أن تصيب المستهلك من احتمالية قبول منتج منخفض الجودة أو المخاطر التي تصيب البائع نتيجة رفض منتج مرتفع الجودة

الأكاديمية العربية الدولية
Arab International Academy

تحليل الأغذية

- ❑ يعتمد أخذ العينات على نوع المجتمع – متجانس – غير متجانس
- ❑ لأخذ عينة مناسبة يجب أن تكون:
  - الكمية مناسبة
  - السحب عشوائي
  - الحفاظ على العينة المأخوذة من التغير الكيميائي – الفيزيائي – الميكروبي

تحليل الأغذية

- يمكن أخذ العينات – يدويا – بواسطة أدوات مثل:
- السارق Thief من اجل العينات في البراميل
- المحاول Trier في سحب الغلال والمساحيق الجافة
- الانابيب Tubes في سحب الحبوب والبقوليات
- بريمة Serew في سحب عينات البذور
- القاطع Knife-الة الحفر Drill في سحب عينات الأغذية المجمدة – الجبن الجاف – الأغذية نصف الصلبة

تحليل الأغذية

- ❑ عند أخذ العينة للتحيل لابد أن يكون حجمها مناسب وحفظها في درجة الحرارة المناسبة
- ❑ عند البدء في التحليل لابد من جعل العينة متجانسة تماما بواسطة الاتي:
  - العينات الرطبة والخضروات الورقية = المقطعة الحوضية
  - اللحوم = فرامة اللحم
  - منعمات الانسجة
  - Pestle and Mortar
  - الخلاطات
- ❑ في حالة العينات الجافة فتستخدم الطاحونة

تحليل الأغذية

- قد يكون من الصعب تحليل العينات مباشرة لذا قد نضطر الى حفظها حتى وقت التحليل
- لا بد من تثبيط نشاط الانزيمات = المعاملة الحرارية أو التجميد
- الحماية من التغيرات الكيميائية والميكروبية

تحليل الأغذية

- يعتبر الــ pH الرقم الهيدروجيني في غاية الأهمية من أجل قياس درجة حموضة الأغذية
- الرقم الهيدروجيني أو درجة الحموضة هو مقياس لتحديد تركيز أيونات الهيدروجين H^+في المحلول.
- درجة الحموضة مقياس مدرج من صفر إلى 14

الأكاديمية العربية الدولية
Arab International Academy

تحليل الأغذية

- المحاليل الحمضية تمتلك قيمة PHأقل من 7 .
- المحاليل القاعدية تمتلك قيمة PHأكبر من 7.
- المحاليل المتعادلة تبلغ قيمة PHلها 7

تحليل الأغذية

- عند التحليل نحتاج الى معرفة المصطلحات الاتية:
- **تعريف المولارية Molarity**

- المولارية هي أحدى طرق التعبير عن التركيز ويرمز لها بالرمز Mوبالإنجليزية Molarity
- وتعرف المولاريـــة بعدد المولات المذابة في لتر واحد من المحلول

$$\text{المولاريـــة} = \frac{\text{عدد مولات المذاب } (n)}{\text{حجـم المحلـــول بـــاللتر } V_{sol}(L)}$$

$$\text{Molarity } (M) = \frac{n}{V_{sol}(L)}$$

تحليل الأغذية

- ❑ عند التحليل نحتاج الى معرفة المصطلحات الاتية:
- ❑ **العيارية Normality**

- العيارية هي عدد الأوزان المكافئة الجرامية Eqمن المادة المذابة الموجودة في لتر من المحلول

$$\text{العيارية } (N) = \frac{\text{عدد المكافئات الجرامية للمذاب } Eq_2}{\text{حجم المحلول باللتر } V_{sol}(L)}$$

$$N = \frac{Eq_2}{V_{sol}(L)}$$

$$\text{or} \quad N = \frac{Eq_2}{V_{sol}(cm^3, ml)} \times 1000$$

تحليل الأغذية

- ❑ عند التحليل نحتاج الى معرفة المصطلحات الاتية:
- ❑ الوزن المكافئ = هو الوزن الجزيئي مقسوم على عدد المكافئات.

حمض الكبريتيك (1M) =

حمض الكبريتيك (2N) ← ٢ مكافئات من H^+ لكل مول للحمض

هيدروكسيد الصوديوم (1M) =

هيدروكسيد الصوديوم (1N) ← مكافئ واحد من OH^- لكل مول قلوي

حمض الخليك (1M) =

حمض خليك (1N) ← مكافئ واحد من H^+ لكل مول من الحمض

حمض الماليك (1M) =

حمض الماليك (2N) ← ٢ مكافئات من H^+ لكل مول من الحمض

تحليل الأغذية

- ❑ عند التحليل نحتاج الى معرفة المصطلحات الاتية:
- ❑ **النسبة المئوية**

- هي نسبة جزء من مائة من كمية ما
- النسبة المئوية = (الجزء / القيمة الكلية) × 100 إذ إن: الجزء: القيمة المراد تحديد نسبتها.

القيمة الكلية: المجموع الكلي للقيم.

تحليل الأغذية

- عند التحليل نحتاج الى معرفة المصطلحات الاتية:
- الجزء في المليون والجزء في البليون . Parts per million (ppm) & parts per billion (ppb) s

• طريقة من طرق التركيز المعتمدة على كتلة المادة وتستخدم لتقدير التراكيز الصغيرة للغاية

فعندما نقول محلول تركيزه واحد في المليون فهذا معناه أن كل مليون جرام من المحلول مثلاً

يحوي واحد جرام من المذاب

$$\frac{\text{mass solute}}{\text{mass solution}} \times 10^6 = \text{concentration (ppm)}$$

$$\frac{\text{mass solute}}{\text{mass solution}} \times 10^9 = \text{concentration (ppb)}$$

الأكاديمية العربية الدولية
Arab International Academy

تحليل الأغذية

- عند التحليل نحتاج الى معرفة المصطلحات الاتية:
- **قانون التخفيف Dilution Law**

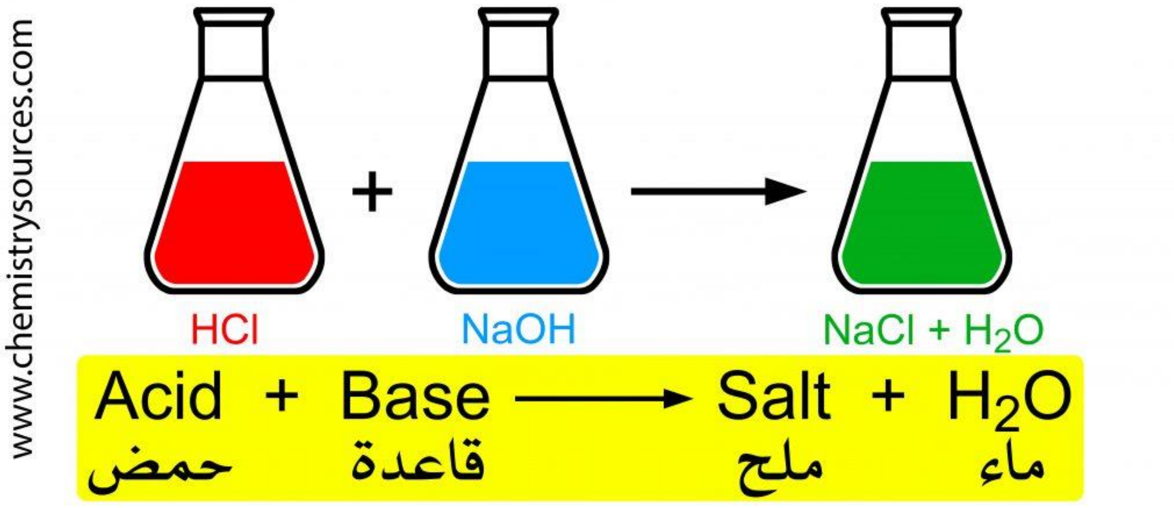
- M1 : (قبل التخفيف) تركيز المحلول الابتدائي
- M2 : (بعد التخفيف – يعد إضافة مزيد من المذيب) تركيز المحلول النهائي
- V1 : (قبل التخفيف – قبل إضافة المذيب) حجم المحلول الابتدائي
- V2 : (بعد التخفيف – بعد إضافة المذيب)\حجم المحلول النهائي

$$\underbrace{M_1 V_1}_{\text{قبل التخفيف}} = \underbrace{M_2 V_2}_{\text{بعد التخفيف}}$$

تحليل الأغذية

- ❑ عند التحليل نحتاج الى معرفة المصطلحات الاتية:
- ❑ **تفاعل الحمض مع القاعدة**

• الناتج ملح + ماء

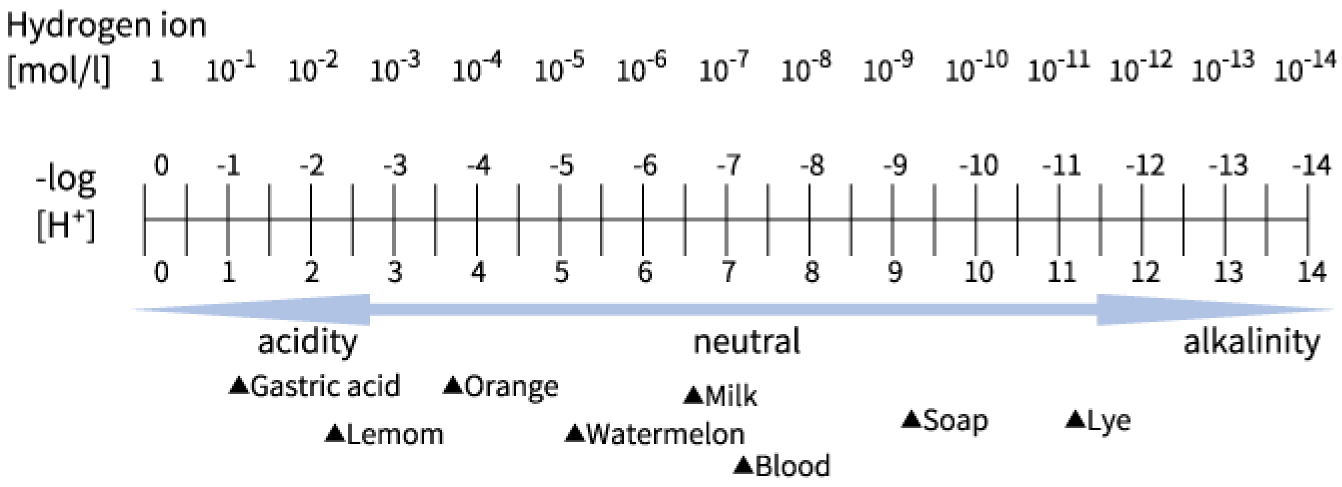


Arab International Academy
الأكاديمية العربية الدولية

تحليل الأغذية

❑ قياس pH

هناك العديد من الأجهزة المستخدمة في القياس



تحليل الأغذية

- قياس pH

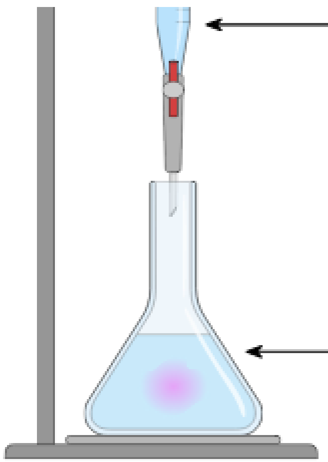
أهم الاحماض الموجودة في الأغذية

- حامض الأوكساليك
- حامض الفوسفوريك
- حامض التارتاريك
- حامض الماليك
- حامض الستريك
- حامض اللاكتيك
- حامض الاسكوربيك
- حامض الخليك
- فثلات البوتاسيوم الحامضية
- حامض الكربونيك

نوع الفاكهة	الحمض الرئيسي
تفاح	ماليك
موز	ماليك/ ستريك (٠,١مل)
كرز	ماليك
توت	ستريك
جريب فروت	ستريك
عنب	طرطريك/ ماليك ٠,٢مل
ليمون	ستريك
ليمون حامض	ستريك
برتقال	ستريك
برقوق	ستريك
كمثرى	ماليك/ ستريك
أناناس	ستريك
فراولة	ستريك
طماطم	ستريك

تحليل الأغذية

- ❑ عند التحليل نحتاج الى معرفة المصطلحات الاتية:
- ❑ **المعايرة Titration**



- هي عملية مخبرية في الكيمياء التحليلية من أجل التحليل الكمي يُعرف بها تركيز محلول حمضي مجهول بواسطة إضافة محلول قاعدي تركيزه معروف، أو العكس.
- عندما نستخدم المعايرة يحدث تفاعل بين حمض وقاعدي. ونتعرف على نقطة تعادل الحامض والقاعدة عن طريق إضافة كاشف لوني

الكاشف	اللون في الحالة الحمضية	منطقة تغير اللون حسب الأس الهيدروجيني	اللون في الحالة القلوية
ميثيل بنفسجي	أصفر	1.6–0.0	بنفسجي
Bromophenol Blue	أصفر	4.6–3.0	أزرق
ميثيل برتقالي	أحمر	4.4–3.1	أصفر
ميثيل أحمر	أحمر	6.3–4.4	أصفر
ليتموس	أحمر	8.0–5.0	أزرق
بروموثيمول أزرق	أصفر	7.6–6.0	أزرق
فينولفثالين	عديم اللون	10–8.3	بنفسجي
أليزارين أصفر	أصفر	12.0–10.1	أحمر

تحليل الأغذية

❑ تقدير الرطوبة

$$\text{نسبة الرطوبة \%} = \frac{\text{الوزن قبل التجفيف} - \text{الوزن بعد التجفيف}}{\text{الوزن قبل التجفيف}} \times 100$$

- ❑ لتقدير الرطوبة (الماء) في معظم الاغذية تستخدم الافران الهوائية أما أذا كانت العينة تحتوي على نسبة عالية من المواد السكرية فيفضل استخدام فرن التفريغ (70 -60 درجة مئوية -100 ملم زئبق) عند تجفيفها لتجنب تحلل المكونات وهدمها. أما إذا كانت العينة منتجات لحوم أو ما شابهها فيمكن استخدام الفرن العادي (100-105 درجة مئوية)
- ❑ هي كمية الماء القابلة للتبخر من العينة الغذائية

شكل فرن التفريغ الهوائي

تحليل الأغذية

- ❑ **أنواع المياه الموجودة في الغذاء**
  - الماء الحر
  - الماء المرتبط
- ❑ تحدث الرطوبة في الأطعمة في شكلين:

(1) الماء المرتبط بالمكونات الموجودة في الطعام (البروتينات والملح والسكريات)

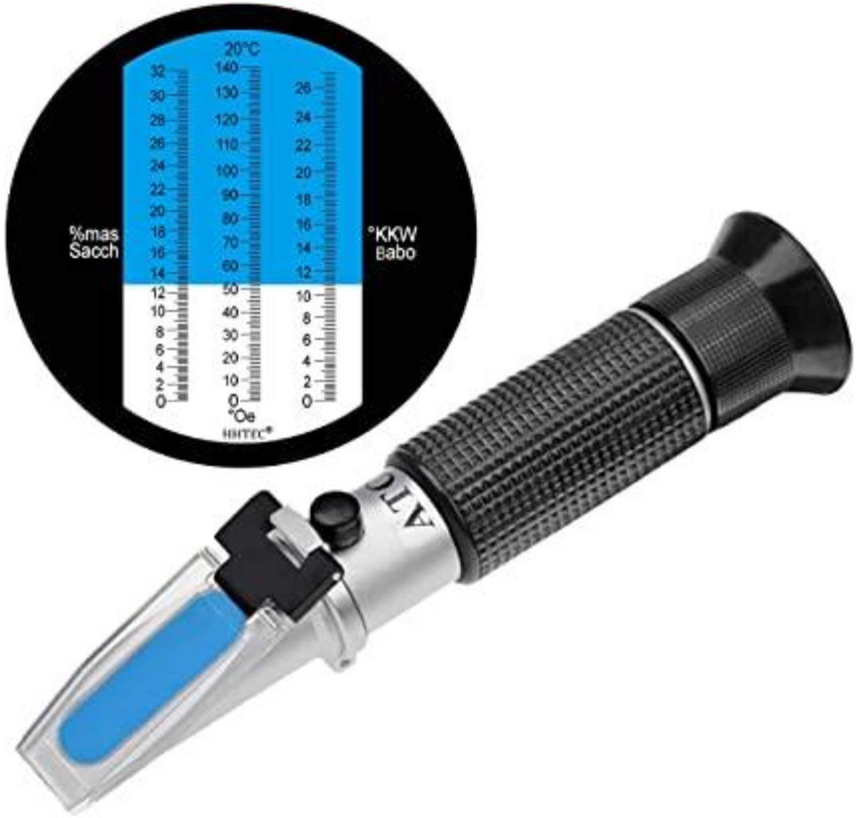
(2) الماء الحر أو غير المرتبط والمتوفر للنمو الميكروبي.

- ❑ يصف النشاط المائي (Aw) الماء المتاح للنمو الميكروبي ويتراوح من 0 (عظم جاف) إلى 1.0 (ماء نقي).

الأكاديمية العربية الدولية
Arab International Academy

تحليل الأغذية

- طرق قياس الرطوبة في المواد الغذائية:
- طريقة التجفيف في الفرن : حساب الوزن قبل وبعد التجفيف
- طريقة التقطير: تقطير الماء من المادة الغذائية باستخدام مذيب عضوي لا يمتزج مع الماء مثل اكزيلين أو التولوين أو البنزين ويقاس حجم الماء المتحرر
- الطرق الكيميائية (معايرة كارل – فيشر): يكون الماء الموجود في الغذاء أحد المواد المتفاعلة بحيث يتغير لون الكاشف عند انتهاء كامل لكمية المياه
- الطرق الإشعاعية: تبخر الماء نتيجة امتصاصه للطاقة الحرارية



Refractometer

Brix Hydrometer

Karl Fischer Titration

تحليل الأغذية

- ❑ تقدير المحتوى الرمادي – Ash analysis
  - قياس كمية المركبات غير العضوية الموجودة في الغذاء مثل Ca, K, Na
- ❑ مهم من أجل
  - البطاقة التغذوية على ملصق الأغذية
  - التغذية والجودة
  - التصنيع وثبات الصلاحية

تحليل الأغذية

- تقدير المحتوى الرمادي – Ash analysis
  - قياس كمية المركبات غير العضوية الموجودة في الغذاء مثل Ca, K, Na
- مهم من أجل
  - البطاقة التغذوية على ملصق الأغذية
  - التغذية والجودة
  - التصنيع وثبات الصلاحية
- **الأنواع الرئيسية الثلاثة لقياس محتوى الرماد:** الترميد الجاف، الترميد الرطب، البلازما

تحليل الأغذية

❑ الترميد الجاف

- حيث يتم حرق العينات في فرن احتراق على درجات حرارة تتراوح بين 500 إلى 600م فيتبخر الماء والمواد الطيارة وتحترق المواد العضوية.

- توزن العينة قبل وبعد الترميد لقياس تركيز الرماد الموجود.
- $\%\text{الرماد} = \frac{\text{وزن الرماد}}{\text{وزن العينة}} \times 100$
- تستخدم البواتق (البورسلين- الكوارتز - الصلب - البلاتين) في تقدير المحتوى الرمادي

تحليل الأغذية

❑ الترميد الرطب

- وتتم هذه الطريقة بوزن معين من عينة جافة ومطحونة توضع في دورق يحتوي على حامض النتريك يضاف إليها حامض الهيدروكلوريك ويسخن إذ تهضم المواد العضوية بالكامل وتصبح العينة عديمة اللون، درجة الحرارة والوقت اللازم يعتمد على نوع الحوامض والمواد المؤكسدة المستخدمة وعادة ما يتم الهضم في 10 دقائق إلى بضع ساعات في درجات حرارة حوالي 350°م والناتج يمكن أن يستخدم لتحليل العناصر المعدنية.

تحليل الأغذية

- البلازما

• توضع العينة في غرفة زجاجية مفرغة بواسطة مضخة تفريغ وفيه يتم ضخ كمية قليلة من الأوكسجين النشط إلى الغرفة ويحصل تكسير إلى الأوكسجين الناشئ يجري توليده بواسطة مولد مجال كهرومغناطيسي. المركبات العضوية في العينة سيحصل لها تأكسد سريع بالأوكسجين الناشئ وتتبخر الرطوبة بسبب درجة الحرارة المرتفعة.

تحليل الأغذية

❑ البلازما

- هذا ويعتبر أهم ما يميز طريقة بلازما لتقدير الرماد درجة الحرارة المنخفضة المستخدمة في تلك الطريقة (150م أو أقل) مما يؤدي لعدم تغيير التركيب الميكروسكوبي والبلوري للمعادن المراد تحليلها.
- كما يؤدي أيضاً لاحتمال أقل لفقد العناصر المعدنية. أما أهم ما يعيب تلك الطريقة فهو الحجم الضئيل والعدد القليل للعينات التي يمكن تحليلها في آن واحد وكذلك ارتفاع تكلفة الأجهزة المستخدمة في التقدير.

تحليل الأغذية

❑ طريقة الحرق بالميكروويف Microwave Ashing

- يمكن تقدير الرماد باستخدام الميكروويف المبرمجة بحيث تجفف العينة أولاً ثم حرقها باستخدام أشعة الميكروويف في عملية الهضم والأكسدة ومن مميزات هذه الطريقة تقليل الوقت اللازم إذ تصل إلى 40 دقيقة وهي ما يعادل 4 ساعات باستخدام طريقة أفران الحرق العادية.

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

- **وتشمل الطرق التحليلية للمركبات الكربوهيدراتية**

- الطرق الوصفية اللونية
- التقدير الكمي سواء الكيميائية، أو اللونية، أو الكرماتوجرافية (كروماتوغرافيا الورق، وكروماتوغرافيا الغاز GD لمشتقات السكريات، وكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC، كروماتوغرافيا السائل ذات الأداء العالي HPLC.
- الطرق الإنزيمية
- وطرق الإلكتروفوريسيس

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

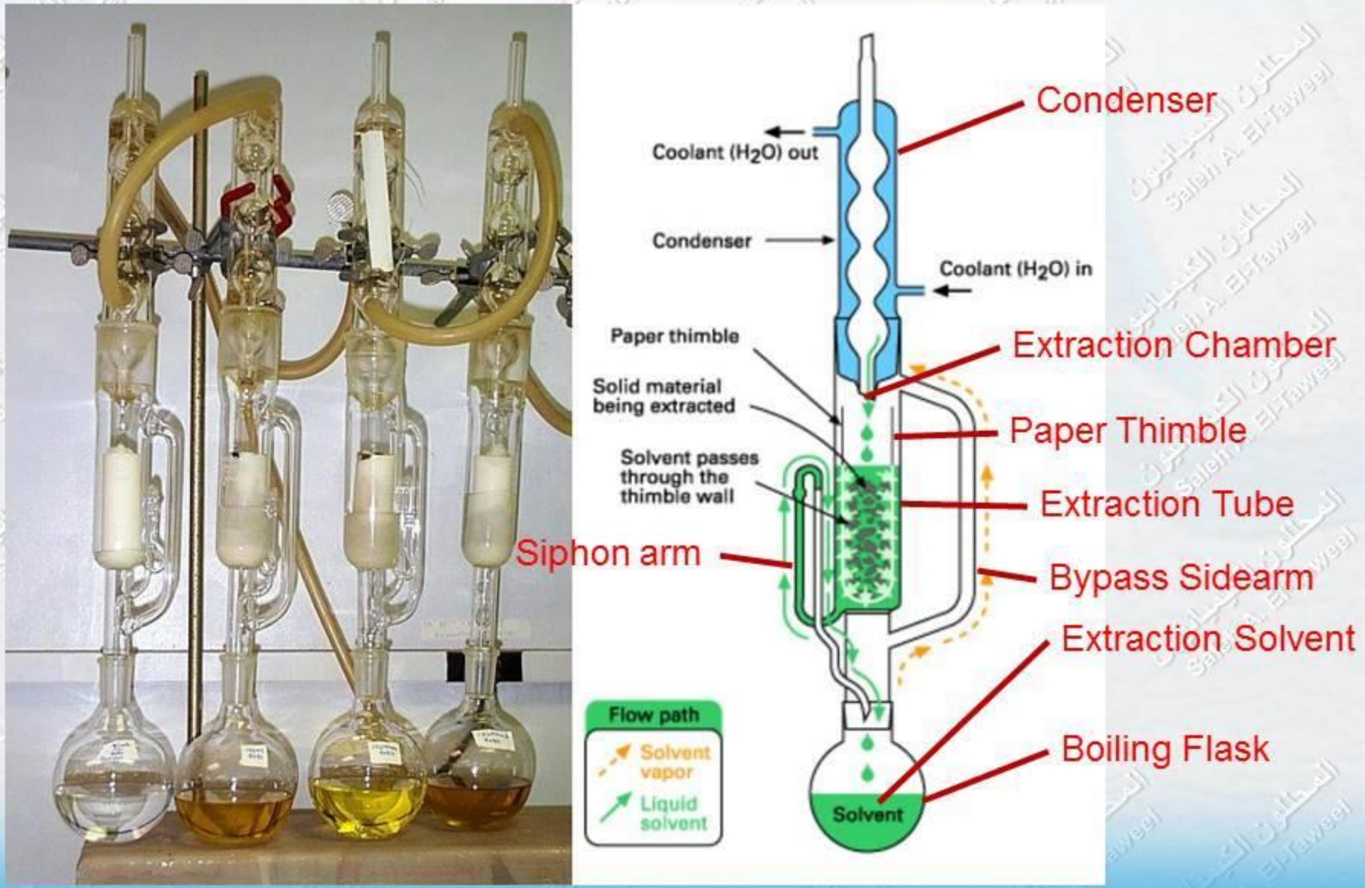
▪ **تجهيز العينة**

- يعتمد على نوع الغذاء المحلل وغرض التحويل
- هناك بعض الإجراءات الشائعة للعديد من تقنيات الفصل تشمل:

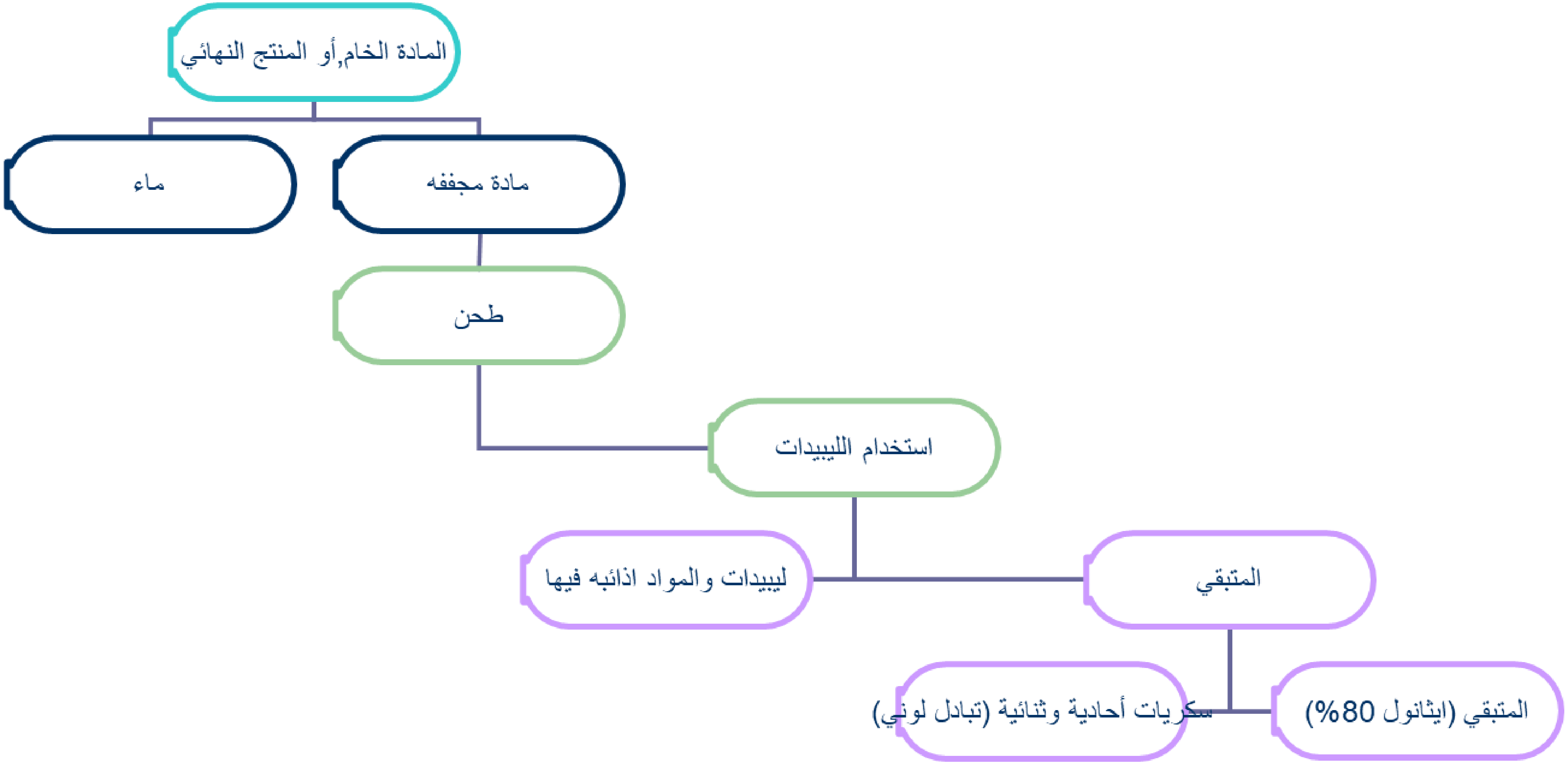
  - تجفف الأغذية عادة تحت التفريغ (لمنع الهدم الحراري) على 55م وضغط 100مم زئبق.
  - طحن إلى مسحوق ناعم (لتحسين استخلاص المذيب)
  - نزع الدهن defatted بمذيب استخلاص مخلوط الكلوروفورم والميثانول (5:95 ح/ح) في جهاز سوكسلت.

Examiners Chemist
المحللون الكيميائيون

الاستخلاص بطريقة سوكسلت Soxhlet



رسم تخطيطي لإعداد العينة للتحليل واستخلاص السكريات الأحادية والثنائية



تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

- تحضر الأغذية الصلبة بفرمها وتنعيمها قبل الاستخلاص بحيث لا يتأثر محتواها من الرطوبة والتركيب الكيمياوي بعدها تبدأ عملية الاستخلاص.
- الأغذية المحتوية على نشا يتم استخلاص السكريات منها على درجة حرارة منخفضة تتراوح ما بين 40-50 م مع الحرص بعدم تجاوز هذه الدرجة لتجنب ذوبان واستخلاص المواد النشوية معها.
- تضاف أحياناً كربونات الكالسيوم أو هيدروكسيد الصوديوم لتعادل الحوامض العضوية الموجودة طبيعياً مع المستخلص الغذائي من أجل تجنب تحلل السكروز إلى سكر محلول بهذه الحوامض أثناء التسخين.

تحليل الأغذية

تحليل الكربوهيدرات

- أما إذا كانت المستخلصات ذات نشاط إنزيمي واضح فعند هذه الحالة يضاف إليها كلوريد الزئبق Mercuric chloride لتثبيط هذه الإنزيمات وتجنب تحللها للسكريات أثناء فترة الانتظار أو الخزن الطويل لهذه العينات.

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

- يتم استخلاص السكريات من المصادر النباتية بواسطة محلول كحولي مقطر مرتين ومعادل بكربونات الكالسيوم
- يشترط بعد امتزاجه بماء العينة أن يهبط تركيزه في النهاية إلى 80% وتسخن العينة مع الكحول على حمام مائي لمدة 30 دقيقة وعلى حرارة واطئة يتم من خلالها تبخير الكحول
- يلي ذلك عملية التنقية للمستخلص المائي قبل تقدير السكريات فيه حيث يتم إزالة العكرة التي تسببها البروتينات والنشا الذائبة مع المستخلص

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

- تعتمد الطرق الكيميائية لتحليل السكريات الأحادية والعديدة أن معظم هذه المواد عبارة عن مواد مختزلة reducing agents والتي يمكن أن تتفاعل مع مركبات أخرى لإنتاج رواسب أو معقد ملون والذي يمكن أن يقدر.
- العديد من الطرق الكيميائية المختلفة متوفرة لتقدير الكربوهيدرات يمكن أن تقسم إلى ثلاثة أنواع categories :
  - المعايرة titration
  - الوزنية gravimetric
  - اللونية colorimetric

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

▪ طريقة لين-آينون (The Lane-Eynon method)

- طريقة معايرة لتحديد تركيز السكريات المختزلة في العينة.
- يتم استخدام السحاحة لإضافة محلول الكربوهيدرات الذي يتم تحليله إلى دورق يحتوي على كمية معروفة من محلول كبريتات النحاس المغلي ومؤشر أزرق الميثيلين.
- تتفاعل السكريات المختزلة في محلول الكربوهيدرات مع كبريتات النحاس الموجودة في القارورة.
- بمجرد تفاعل كل كبريتات النحاس في المحلول ، تؤدي أي إضافة أخرى لخفض السكريات إلى تغيير المؤشر من اللون الأزرق إلى الأبيض.
- يتم تسجيل حجم محلول السكر المطلوب للوصول إلى نقطة النهاية.
- لا يكون التفاعل قياسًا كيميائيًا ، مما يعني أنه من الضروري إعداد منحنى معايرة من خلال إجراء التجربة بسلسلة من المحاليل القياسية لتركيز الكربوهيدرات المعروف.

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

▪ طريقة لين-آينون (The Lane-Eynon method)

• العيوب

(1) النتائج التي تعتمد على أوقات التفاعل الدقيقة ودرجات الحرارة وتركيزات الكاشف المستخدمة ولذلك يجب التحكم في هذه المعلمات بعناية

(2) لا يمكنها التمييز بين الأنواع المختلفة من تقليل السكر

(3) لا يمكنها تحديد تركيز السكريات غير المختزلة بشكل مباشر

(4) من الممكن أن تتداخل من أنواع أخرى من الجزيئات التي تعمل كعوامل اختزال .

تحليل الأغذية

تحليل الكربوهيدرات

- طريقة Munson and Walker

- يتم تأكسد الكربوهيدرات بالتسخين في وجود كمية من كبريتات النحاسيك والخلات القاعدية alkaline tartrate تحت ظروف محكمة والتي تؤدي إلى تكوين راسب أوكسيد النحاسوز:

سكر مختزل + Cu^{2+} + قاعدة ← سكر مؤكسد + $CuO2$ (راسب)

- تركيز الراسب المتكون يمكن تقديره وزنياً (بواسطة ترشيح ثم تجفيف ثم وزن)، أو بالمعايرة (بإعادة تذويب الراسب ثم معايرته مع دليل مناسب).

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

- طريقة انثرون Anthrone Method

- تقدر هذه الطريقة كلاً من السكريات المختزلة وغير المختزلة
- تخلط العينة بحامض الكبريت sulfuric acid وكاشف Anthrone وبعد ذلك تغلى حتى إتمام التفاعل لإنتاج لون أزرق مخضر، ثم يترك المحلول ليبرد ثم تقاس شدة اللون absorbance عند طول موجي 630 نانومتر

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

- طريقة الفينول – حامض الكبريتيك :Phenol-Sulfuric Acid Method
- تقدر هذه الطريقة كلاً من السكريات المختزلة وغير المختزلة

- يوضع محلول مائي رائق من الكربوهيدرات المختبرة في أنبوبة اختبار، ثم يضاف الفينول وحامض الكبريتيك. المحلول يتحول إلى لون أصفر – برتقالي كنتيجة للتفاعل بين الكربوهيدرات والفينول تقاس شدة اللون عند 490 نانومتر

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

- الطرق الإنزيمية :Enzymatic Methods

- الأغذية السائلة يمكن أن تختبر مباشرة، بينما الأغذية الصلبة يجب أن تذوب في الماء أولاً

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

- D-Glucose/D-Fructose

- تقدير تركيز كلاً من الجلوكوز والفركتوز في العينة.
- يحول الجلوكوز إلى الجلوكوز –6 فوسفات G6P بإنزيم hexakinase وATP، ثم، يؤكسد G6Pبواسطة G6P-dehydrogenase (G6P-DH) في وجود NADP+

G6P + NADP+ gluconate-6-phosphate + NADPH + H+

- كمية(NADPH) المتكونة تتناسب مع تركيز G6P في العينة ويمكن أن تقاس لونياً spectrophotometricallyعند 340 نانومتر.
- يمكن تقدير تركيز الفركتوز بتحويله إلى جلوكوز، باستعمال إنزيم آخر متخصص، ثم يكرر إجراء التجربة السابقة.
- تركيز المالتوز والسكروز (سكريات ثنائية) في عينة بعد تقدير تركيز الجلوكوز والفركتوز حسب الطريقة السابقة. المالتوز والسكروز تكسر إلى وحداتهم من السكريات الأحادية بواسطة إنزيم a-glucosidase

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

▪ الطرق الطبيعية تشمل:

- البولاريميتر polarimetry
- معامل الانكسار refractive index
- الأشعة تحت الحمراء IR
- الكثافة (Density)

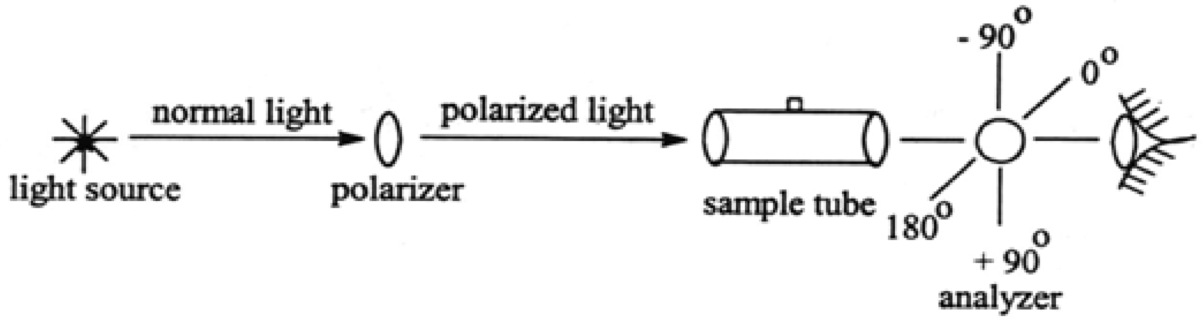
الأكاديمية العربية الدولية
Arab International Academy

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

- الطرق الطبيعية تشمل:

- البولاريميتر polarimetry



شكل ٨. مخطط لجهاز البولاريمتر.

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

- الطرق الطبيعية تشمل:

- معامل الانكسار refractive index
- علمياً، معامل الانكسار لمحاليل الكربوهيدرات يقاس عادة في خلايا الكوارتز
- معامل الانكسار لمحلول الكربوهيدرات يزيد بزيادة التركيز ولذا يمكن أن يستعمل لقياس كمية الكربوهيدرات المختبرة.
- معامل الانكسار RIأيضاً يعتمد على درجة الحرارة وطول الموجة.
- تتم القياسات عادة عند درجة حرارة 20م وطول موجة 589.3 نانومتر معينة.
- هذه الطريقة سريعة وبسيطة ويمكن أن تنفذ بآلات بسيطة محمولة يدوياً.
- تستعمل بشكل دوري (روتيني) في المصانع لتقدير تركيزات السكر في الشراب .syrupالعسل، الدبس molasses، منتجات الطماطم والمربيات .jams

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

- الطرق الطبيعية تشمل:

- الكثافة(Density)
- كثافة المادة هي قسمة كتلتها على حجمها.
- كثافة المحاليل المائية تزيد كلما زاد تركيز الكربوهيدرات.
- هكذا يمكن تقدير تركيز الكربوهيدرات بقياس الكثافة يمكن استعمال قناني الكثافة أو الهيدرومتر hydrometers.
- هذه التقنية تستعمل بشكل دوري في المصانع لتقدير تراكيز الكربوهيدرات في العصائر والمشروبات beverages.

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

▪ الطرق الطبيعية تشمل:

- الأشعة تحت الحمراء Infrared (IR)

- المادة مثل الكربوهيدرات تمتص الأشعة تحت الحمراء بسبب اهتزاز أو دوران مجموعات الجزيء عند أطوال موجية تختلف عن المواد الثانية.
- أجهزة التحليل المعتمدة على امتصاص الأشعة تحت الحمراء غير مدمرة للعينة وقادرة على القياسات السريعة، ولذا فهي مناسبة جداً للتحاليل السريعة on-line analysis أو للاستعمال في مختبر مراقبة الجودة، حيث تحلل العديد من العينات بشكل دوري (روتيني).
- الأجهزة الأكثر تطوير قادرة على تزويد معلومات حول التركيب الجزيئي للكربوهيدرات بالإضافة إلى التركيز مثل: أجهزة NMR و mass spectrometry.

Nuclear magnetic resonance NMR

mass spectrometry

تحليل الأغذية

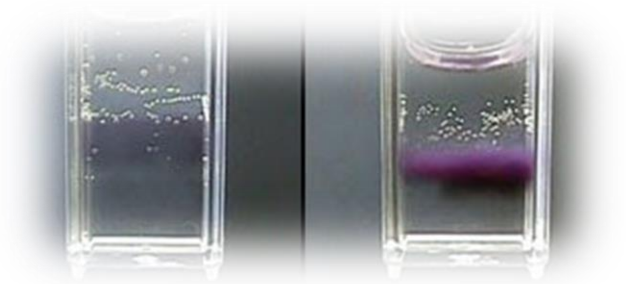
❑ تحليل الكربوهيدرات

▪ الطرق الطبيعية تشمل:

- طريقة كروماتوغرافيا السائل ذات الأداء العالي HPLC
- أفضل طرق تحليل السكريات الأحادية ويمكن استخدامها أيضاً في تقدير السكريات العديدة بعد تعرضها للتحليل المائي.
- تحلل السكريات تحليلاً وصفياً ويتم التعرف عليها ثم بحساب المساحة تحت المنحنى للـ peaks يصبح التحليل كمياً.
- ذات الأداء العالي بسرعة الإجراء، مع إمكان إجراءها على مدى واسع من تركيزات العينات موضع التحليل بالإضافة لدقتها ونتائجها المؤكدة لحد كبير.

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات



- اختبار موليش

- كشف عام عن السكريات
- يعتمد هذا الاختبار على تكون مركبات الفورفورال ومشتقاتها من الكربوهيدرات وذلك بتأثير الحوامض المركزة وسحب جزيئة ماء من السكر الأحادي.
- عند معاملة هذه المركبات مع مواد كيمياوية اخرى مثل مادة الفانافثول الكحولي تتكون نواتج معقدة ملونة (حلقة بنفسجية) تدل على وجود الكربوهيدرات او السكريات.

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

▪ أختبار ترومر

- للكشف عن السكريات المختزلة .
- تعتمد هذه التجربة على قابلية السكريات الاختزالية لاحتوائها على مجموعة الكربونيل الحرة لهذا فالسكريات لها القابلية على اختزال أيونات الفلزات في المحيط القاعدي مثل والفضة Ag^{+} مثل ايونات النحاس Cu^{++} وعند اختزالها لأيونات الفلزية تتأكسد السكريات المختزلة .
- يتكون راسب احمر في أنبوبة الاختبار التي تحتوي على محلول السكر

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

- اختبار بندكت

- للكشف عن السكريات المختزلة .

- يعتمد هذا الاختبار على اختزال ايونات النحاس ++Cu الى +Cu التي تترسب بشكل راسب أحمر من أوكسيد النحاسوز في المحلول القلوي وبالمقابل فأن جزيئة السكر تتأكسد .

- يتكون محلول بندكت من كبريتات النحاس , كربونات الصوديوم وسترات الصوديوم كعامل معقد

تحليل الأغذية

تحليل الكربوهيدرات

- أختبار سلفانوف .
- اختبارًا كيميائيًا يميز بين السكريات الألدوزية والكيتوزية
- يتم اضافة قطرات من كاشف مكون من ريزورسينول مذابة في محلول مكون من الماء و حمض الهيدروكلوريك بنسبة 1:1 إلى المحلول المراد الكشف عنه و من ثم يتم تسخين المحلول ، فإذا تكون راسب أحمر دل على وجود الفركتوز .

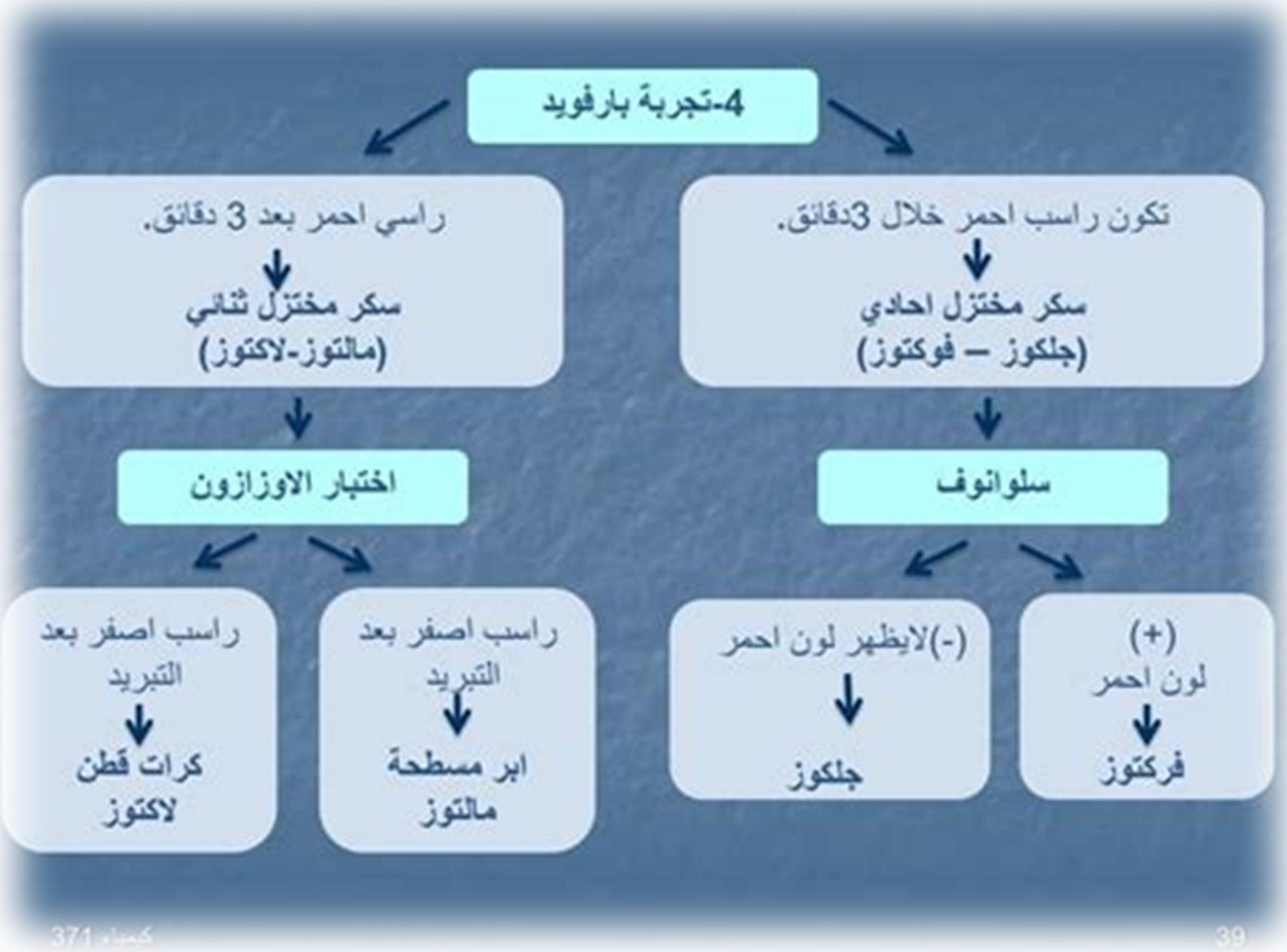
- يعتمد هذا الاختبار على تكون هيدروكسي مثيل فورفورال Hydroxy-4 furfural m

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

- أختبار بارفويد

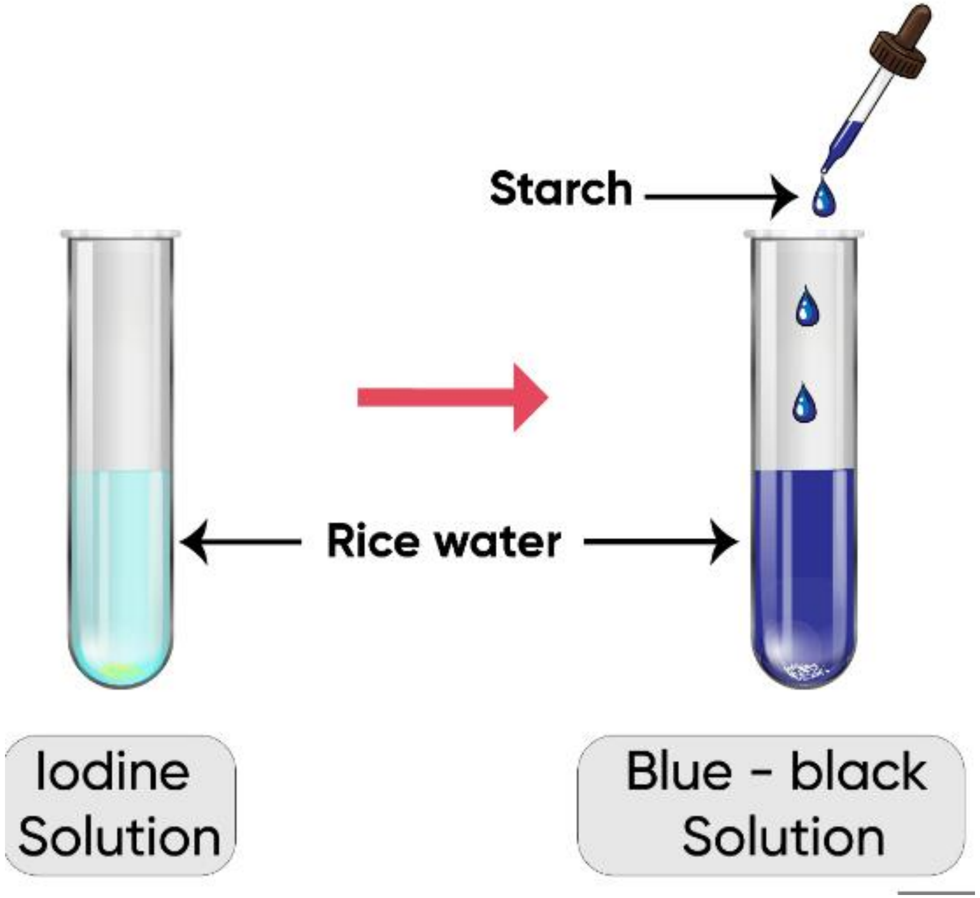
- التمييز بين السكريات الاحادية والثنائية
- تتأكسد السكريات الاحادية في محاليل الحوامض المخففة بصورة اسرع من السكريات الثنائية , وهذا الاختلاف هو الأساس الذي يعتمده هذا التحليل للتمييز بين السكريات الاحادية والثنائية
- يحضر محلول يعرف بكاشف بارفويد و هو خليط من حمض الخليك و خلات النحاس(II) و لون المحلول أزرق حيث يضاف هذا الكاشف على السائل المراد الكشف عنه في أنبوبة اختبار ثم تسخن الأنبوبة ، فإذا تكون راسب أحمر طوبي من أكسيد النحاس (II) دل ذلك على وجود سكر مختزل .
- يمكن للسكريات الثنائية تتفاعل أيضاً مع هذا الكاشف ولكن التفاعل يكون بطيء جداً.


4-تجربة بارفويد
تكون راسب احمر خلال 3دقائق.
سكر مختزل احادي
(جلكوز – فوكتوز)
راسي احمر بعد 3 دقائق.
سكر مختزل ثنائي
(مالتوز-لاكتوز)
سلوانوف
اختبار الاوزازون
(+)
لون احمر
فركتوز
(-)لايظهر لون احمر
جلكوز
راسب اصفر بعد التبريد
ابر مسطحة
مالتوز
راسب اصفر بعد التبريد
كرات قطن
لاكتوز
كيمياء 371
39

تحليل الأغذية

❑ تحليل الكربوهيدرات

- اختبار اليود
  - الكشف عن السكريات المتعددة .
- السكريات المتعددة تعطي الوانا مختلفة مع اليود حيث يمتص من على سطح النشا والدكسترين والجلايكوجين معطيا اللون الأزرق مع النشا، والبنفسجي مع الدكسترين ومع الجلايكوجين يعطي اللون الاحمر المائل الى البني



تحليل الأغذية

❑ تحليل الألياف الغذائية

- تصنف الألياف عمومًا على أنها قابلة للذوبان في الماء أو غير قابلة للذوبان. يذوب نوع الألياف القابل للذوبان في الماء في الماء لتشكيل مادة تشبه الهلام. يساعد على خفض مستويات الكوليسترول والجلوكوز في الدم. توجد الألياف القابلة للذوبان في الشوفان والبازلاء والفول والتفاح والحمضيات والجزر والشعير. يعزز نوع الألياف غير القابل للذوبان في الماء حركة المواد عبر الجهاز الهضمي ويزيد من كتلة البراز ، لذا فهو مفيد لمن يعانون من الإمساك. يعتبر دقيق القمح الكامل ونخالة القمح والمكسرات والفاصوليا والخضروات مثل القرنبيط والفاصوليا الخضراء والبطاطس مصادر جيدة للألياف غير القابلة للذوبان.

تحليل الأغذية

❑ تحليل الألياف الغذائية

- تعتمد تحليلات الألياف الغذائية على ثلاثة مبادئ مختلفة:

• الوزن بعد إزالة المكونات غير الليفية (الدهون – البروتينات- النشأ)

• التحديدات اللونية للكربوهيدرات

• التحديد الدقيق للمكونات الأحادية بواسطة كروماتوغرافيا الغاز والسائل GLC أو اللوني السائل عالي الأداء HPLC

• محاليل الايثانول المركزة في أغلب الأحيان تستعمل لترسيب الألياف من المكونات الأخرى بشكل انتقائي.

الأكاديمية العربية الدولية
Arab International Academy

تحليل الأغذية

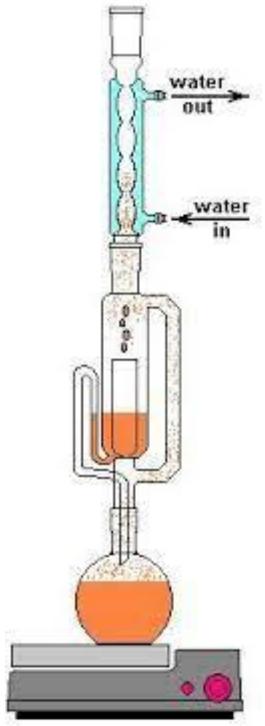
❑ تحليل الليبيدات Analysis of Lipids

- الزيوت النباتية والدهون الحيوانية أحد المكونات الرئيسية في الأغذية وتتميز بأنها مصدر غني للطاقة
- تجهيز العينة للتحليل يشمل التجفيف لإزالة المياه على درجات معتدلة لمنع النتائج العكسية
- تطحن العينات المجففة بشكل ناعم قبل الاستخلاص بالمذيب للحصول على عينة أكثر تجانساً ولزيادة المساحة السطحية لليبيد المعرضة للمذيب
- تحرير الليبيدات المرتبطة بالبروتينات والسكريات إلى أشكال قابلة للاستخلاص بسهولة، مثال: عينة تهضم بواسطة تسخينها لمدة ساعة في وجود حمض الهيدروكلوريك
- اختيار المذيب المناسب يعتبر لاثيل ايثر Ethyl ether وبتروليم اثير petroleum etherهي المذيبات المستعملة الأكثر شيوعاً، ولكن البنتان pentaneو الهكسان hexaneيستعملان أيضاً لبعض الأغذية.

تحليل الأغذية

❑ تحليل الليبيدات Analysis of Lipids

- تقدير الدهن الخام.
- المستخلص الاثيري
- الدهن الخام عبارة عن الجزء من المادة العضوية القابل للذوبان في المذيبات العضوية (الاثير - الاثير البترولي – الكحول – البنزين – الكلوروفورم – رابع كلوريد الكربون). ومنها الدهن الحقيقي و الاحماض الدهنية الحرة والفوسفو لبيدات والصبغات النباتية والزيوت العطرية والاستيرولات.
- استخلاص الدهن الخام باستخدام الاثير او الاثير البترولي بوضع العينة المراد استخلاص الدهن منها داخل جسم جهاز سوكسلت وتشغيل الجهاز لمدة 16 – 18 ساعة علي الترتيب.
- رابط لشرح الطريقة:
- https://www.youtube.com/watch?v=mLq35x0g46g&ab_channel=mpnorganic

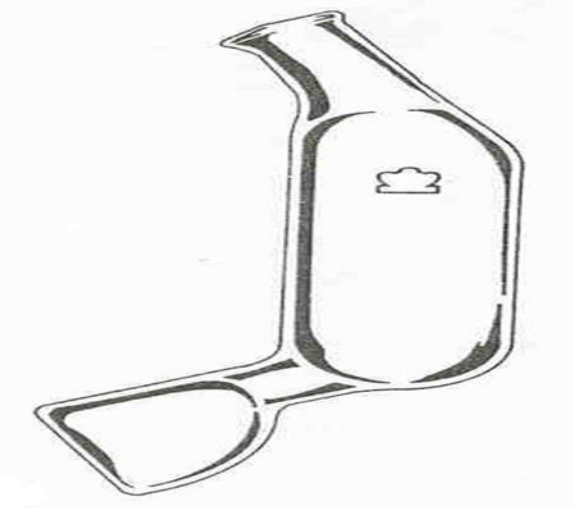


تحليل الأغذية

❑ تحليل الليبيدات Analysis of Lipids

- جهاز الماجونير Majonnier Apparatus

- لاستخلاص الدهن في منتجات الألبان ، الخبز ومنتجات الحبوب على مبدأ الاستخلاص السائل / السائل.



تحليل الأغذية

❑ تحليل الليبيدات Analysis of Lipids

- طريقة بابكوك Babcock Method
- تؤخذ كمية محددة من الحليب بدقة بواسطة ماصة pipetteإلى دورق مصمم خصيصاً - قنينة Babcock-.
- يخلط حمض الكبريتيك sulfuric acid بالحليب ويرج حتى التجانس والذي يهضم البروتين. يولد حرارة، ويحلل غشاء حبيبات الدهن المحي بالقطرات، وبذلك يحرر الدهن.
- عمل طرد مركزي للعينة بينما هي تسخن (55-60°م) والذي يسبب ارتفاع الدهن السائل إلى رقبة قنينة باكوك. إن رقبة القنينة مدرجة لإعطاء كمية دهن الحليب موجودة كنسبة مئوية.

تحليل الأغذية

❑ تحليل الليبيدات Analysis of Lipids

▪ طريقة جربر Gerber Method

- تضع كمية من العينة المراد تحليلها
- استعمال خليط من حمض الكبريتيك وكحول الايزوايمايل isoamyl alcohol
- تسخين العينة في حمام مائي 65 م لمدة 5 دقائق
- يتم عمل طرد مركزي 1100 rpm لمدة 5 دقائق
- يتم قياس النسبة المئوية
- يستعمل كحول الايزوايمايل لمنع تفحم السكريات بالحرارة وحمض الكبريتيك

تحليل الأغذية

❑ تحليل الليبيدات Analysis of Lipids

- الكروماتوجرافيا chromatography
  - thin layer chromatography (TLC)،
  - غاز الكروماتوجرافيا gas chromatography (GC)،
  - كروماتوجرافيا السائل عالي الكفاءة high pressure liquid chromatography (HPLC).

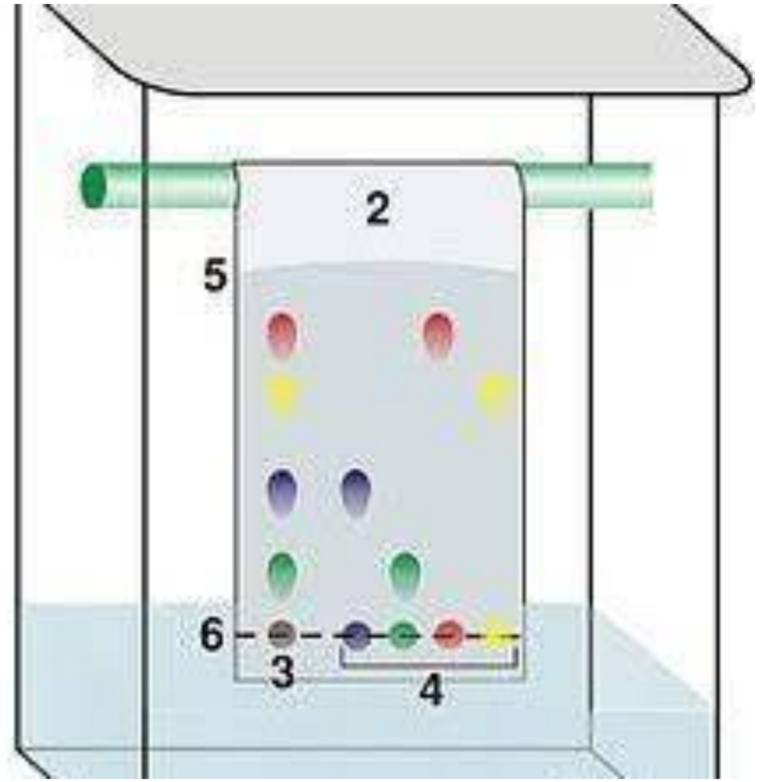
تحليل الأغذية

❑ تحليل الليبيدات Analysis of Lipids

▪ Thin layer chromatography (TLC)

▪ يستعمل Thin layer chromatography بشكل رئيسي لفصل وتقدير تركيز الأنواع المختلفة لمجموعات الليبيد في الأغذية، مثال: monoacylglycerols, diacylglycerols, triacylglycerols، الكوليسترول، أكسيدات الكوليسترول والفوسفوليبيدات

- وهو عبارة عن ألواح زجاجية مكسوة بمادة امتصاص مناسبة وتوضع في مذيب ملائم. توضع (عدة نقط) كمية صغيرة من عينة الليبيد التي سيتحلل على لوح TLC.
- مع مرور الوقت، يتحرك المذيب إلى أعلى اللوح بسبب القوة الشعرية ويفصل أقسام الليبيد المختلفة على أساس صلتهم بمادة الامتصاص.
- في نهاية عملية الفصل، يرش اللوح بصبغة لكي يجعل البقع مرئية.
- مقارنة المسافة التي تحركتها البقع بمركبات قياسية standards معلومة التركيب، يصبح من الممكن تمييز الليبيدات المختبرة.
- البقع يمكن أن تقشط وتحلل لاحقاً باستخدام تقنيات أخرى، مثل NMR, GC أو مطياف الكتلة MS.
- من مميزات هذه الطريقة سهولة اختيار مادة الادمصاص حسب نوع المادة المراد فصلها وسهولة فصل المواد القطبية والمتطايرة.



Thin layer chromatography (TLC)

تحليل الأغذية

❑ تحليل الليبيدات Analysis of Lipids

- غاز الكروماتوجرافيا (gas chromatography (GC،

- الجلسريدات الثلاثية triglycerols والأحماض الدهنية الحرة ليست متطايرة جداً لذا فإنه من الصعب أن تحلل باستعمال جهاز GC.
- لهذا السبب الليبيدات عادة تشتق derivitized قبل التحليل من أجل زيادة درجة تطايرها.
- التصبن للجلسريدات الثلاثية أي تكسيرها إلى جليسيرول glycerol وأحماض دهنية حرة, وثم تجرى عملية methylation.

Triacylglycerol + (CH, OH, NaOH) → Fatty acid methyl esters (FAMEs) + methylated glycerol

- عملية التصبن تخفض الوزن الجزيئي وعملية methylation, تخفض القطبية polarity،وكلا الاثنين تزيد من درجة التطاير لليبيدات.
- ثم يحلل تركيز FAMEs الموجودة في العينة باستعمال GC من خلال وحدة الحقن injection chamber، تسخن العينة في وحدة الحقن من أجل أن تتطاير (تتبخر) FAMEs وبعد ذلك تحمل إلى عمود الفصل بواسطة الغاز الناقل الساخن carrier gas، عندما تمر FAMEs من خلال العمود فإنه يتم فصلهم إلى عدد من القمم peaks بناءً على الاختلافات في أوزانهم الجزيئية وقطبيتهم، والتي يمكن أن تحسب باستعمال كاشف مناسب.

تحليل الأغذية

❑ تحليل الليبيدات Analysis of Lipids

▪ معامل الانكسار :Refractive Index

- يعرف معامل الانكسار IR في الزيوت بأنه معدل سرعة الضوء في الهواء إلى سرعة الضوء في الزيت.
- تقاس عادة العينات باستخدام جهاز الرافراكتومتر Refractometer عند 20 أو 25م للزيت و 40م للدهن حيث أن الدهن يذوب عند هذه الدرجة.
- يستخدم RIللتحكم في عمليات الهدرجة
- يقل RIكلما قل الرقم اليودي وكذا يستخدم لقياس النقاوة.

تحليل الأغذية

❑ تحليل الليبيدات Analysis of Lipids

- عملية التصبن

- وتتلخص طريقته بأن يضاف زيادة من هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي للعينة ثم يسخن المحلول لصوبنة الدهن.
- هيدروكسيد البوتاسيوم غير المتفاعل يعاير محلول قياسي من حامض Hcl فيستخدم الفيتوفيثالين ككاشف ثم يحسب رقم التصبن.
- ويمكن قياس رقم التصبن حسابياً كما في المعادلة التالية:

$$\text{رقم التصبن} = \frac{100 \times 56.1 \times 3}{[(\text{متوسط الوزن الجزيئي} \times 3) + 92.09] - (11\times3)}$$

حيث أن:

56.1 = الوزن الجزيئي لـ KOH

92.09 = الوزن الجزيئي للجليسيرول

حيث أن متوسط الوزن الجزيئي = هو مجموع Fractional الأوزان الجزيئية للأحماض الدهنية في العينة.

تحليل الأغذية

❑ تحليل الليبيدات Analysis of Lipids

▪ نسبة الاحماض الدهنية

- الأحماض الدهنية الحرة هي عبارة عن النسبة بالوزن لأحماض دهنية معينة.
- الرقم الحمضي acid value فإنه مليجرام من KOH اللازمة لمعادلة الأحماض الحرة الموجودة في 1 جرام من الدهن أو الزيت
- يمكن تحويل الأحماض الدهنية الحرة إلى الرقم الحمضي والعكس صحيح باستخدام معامل تحويل

%FFA (as oleic) x 1.99 = Acid value

- وتتلخص طريقة قياس الأحماض الدهنية الحرة أن تؤخذ عينة من الدهن السائل ودليل الفينول فثالين ككاشف تضاف مع بعض ثم تعاير مع NaOH وتحسب نسبة الأحماض الدهنية الحرة كما في المعادلة التالية:

$$\%FFA\ (as\ oleic) = \frac{ml\ alkali \times N\ of\ alkali \times 28.2\ mg}{sample\ weight}$$

تحليل الأغذية

❑ تحليل الليبيدات Analysis of Lipids

- الرقم اليودي

- عدد جرامات اليود اللازمة لتشبع الروابط الزوجية في 100 جرام من العينة.
- يستخدم هذا التقدير في قياس درجة عدم التشبع ونسبة الأحماض الدهنية غير المشبعة في الزيت أو الدهن كما يستخدم في تتبع المراحل المختلفة لعملية الهدرجة، وفي الكشف عن غش الزيوت والدهون.

تحليل الأغذية

❑ تحليل الليبيدات Analysis of Lipids

- الرقم اليودي

وزن معين من الزيت أو الدهن يذاب في المذيب وهذا يتفاعل مع كمية معلومات من اليود أو أحد الهالوجينات الأخرى. زيادة الهالوجين للرابطة المزدوجة كما في المعادلة:

ICl + R – CH = CH – CH – R → R – CHI – CHCl – R + ICl
(excess) (remaining)

محلول من يوديد البوتاسيوم يضاف ليقلل الزيادة من ICl ويحرر الأيودين

ICl + 2KI → Kcl + KI + 12

ثم يعاير اليود المتحرر بواسطة محلول ثيوكبريتات الصوديوم مستخدماً النشا ككاشف كما في المعادلة:

I2 + نشا + 2Na2 S2 O3 → 2NaI + نشا + Na2 S4 O6
(أزرق) (عديم اللون)

ثم يحسب الرقم اليودي كما في المعادلة:

$$\text{الرقم اليودي} = \frac{(\text{ح} - \text{ح}1) \times \text{ع} \times 126.9 \times 100}{\text{وزن العينة (جرام)} \times 100}$$

حيث أن:

ح = حجم الثيوكبريتات بالمللتر التي استهلكت في البلانك
ح1 = حجم الثيوكبريتات بالمللتر التي استهلكت في التجربة
ع = عيارية الثيوكبريتات

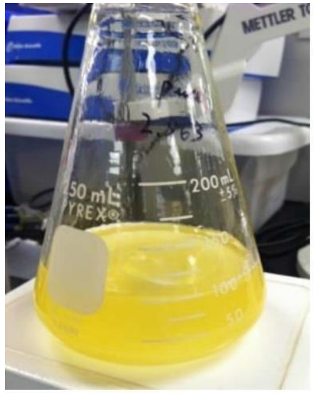
تحليل الأغذية

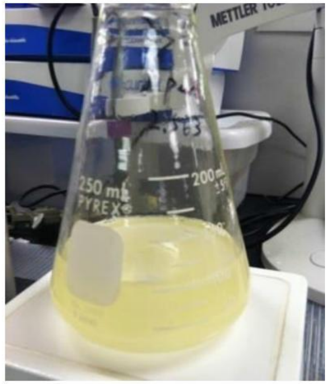
❑ تحليل الليبيدات Analysis of Lipids

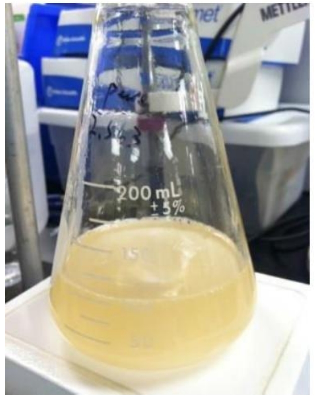
- **رقم البيروكسيد Peroxide Value**
- عدد ملليمكافئات البيروكسيد الموجودة في 1كجم زيت أو دهن.
- يستخدم في تقدير درجة التزنخ الاكسيدي للزيوت والدهون حيث أن تكوين الهيدروبيروكسيدات في المراحل الأولى يعطي فكرة عن درجة صلاحية الزيوت للاستهلاك الآدمي، والهيدروبيروكسيدات عديمة الطعم واللون ولكنها تتحلل بسرعة لتعطي الداهيدات ذات رائحة ونكهة قوية وكريهة.
- ترتبط قيمة البيروكسيد إلى حد ما بالنكهة المنبعثة من الألدهيدات وناتجات الأكسدة الأخرى.
- لا يعتمد عليه بصورة قاطعة في الحكم على درجة تزنخ الزيوت والدهون حيث يحدث له تكسير مما يعطي نتائج غير دقيقة عند ربط قيم البيروكسيد بالصفات الحسية للزيوت ودرجات التزنخ.

تحليل الأغذية

❑ تحليل الليبيدات Analysis of Lipids







▪ رقم البيروكسيد Peroxide Value

<u>ويمكن إيجاز طريقة إجراء هذا الاختبار فيما يلي:</u>

الزيت أو الدهن يذاب في مخلوط من حامض الخليك الثلجي – ايزواوكتان (2:3) ثم يضاف يوديد البوتاسيوم المشبع والذي يتفاعل مع البيروكسيد ومن ثم يتحرر اليود كما في المعادلة:

$$\underset{\text{زيادة}}{RooH + K^+ I^-} \xrightarrow{M^+ + \text{heat}} RoH + K^+ OH^- + 12$$

ثم يعاير اليود المتحرر بواسطة ثيوكبريتات الصوديوم في وجود دليل النشا

$$\underset{\text{(أزرق)}}{I_2 + starch} + 2NaS_2O_3 \rightarrow 2NaI + \underset{\text{(عديم اللون)}}{starch} + Na_2S_4O_6$$

ثم يحسب رقم البيروكسيد كما في المعادلة التالية:

$$\text{رقم البيروكسيد (ملليمكافئ/كجم زيت أو دهن)} = \frac{\text{ح} \times \text{ع} \times 100}{\text{وزن العينة (جرام)}}$$

حيث أن:

ح = حجم ثيوكبريتات الصوديوم بالملليتر

ع = عيارية ثيوكبريتات الصوديوم

تحليل الأغذية

❑ تحليل الليبيدات Analysis of Lipids

- **قيمة الانسيدين والأكسدة الكلسية Anisidine Value and Totox Value**
- يعبر رقم الانسيدين عن كمية اللدهيدات التي تكونت في الزيت أثناء الأكسدة والتحلل (أثناء عملية القلي) والتي تتمثل في 2- alkenals، 2, 4-alkadienals حيث تتفاعل تلك المركبات مع مركب p-anisidine تحت الظروف الحامضية وتكون معقد وردي اللون يتناسب تركيزه طردياً مع كمية اللدهيدات وتقاس نواتج التفاعل لونياً باستخدام جهاز الاسبكتروفوتومتر.
- الأكسدة الكلسية يعبر عن قيمة الأكسدة الكلية للزيوت أو الدهون ويعرف بأنه عبارة عن ضعف رقم البيروكسيد مضافاً إليه قيمة الانسيدين

Totox Value = 2-peroxide value + p-ansidine

تحليل الأغذية

❑ تحليل الليبيدات Analysis of Lipids

- قيمة الانسيدين والأكسدة الكلسية :Anisidine Value and Totox Value

- وتتلخص طريقته بأن الزيت أو الدهن يذاب في الايزواوكتان iso-octane وهذا بتفاعل الانسيدين وبعد 10 دقائق يقرأ الامتصاص عند 350 نانومتر ثم تحسب قيمة الانسيدين كما في المعادلة:

$$\text{قيمة الانسيدين} = \frac{25 \text{ x } (1.2 \text{ AS} - \text{AB})}{\text{sample weight (g)}}$$

حيث:
AS = الامتصاص بعد التفاعل
AB = الامتصاص قبل التفاعل

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- يكون تحليل البروتين مطلوباً عند الرغبة في معرفة:
  - محتوى الغذاء من البروتين.
  - تركيبه من الأحماض الأمينية.
  - نسبة بروتين معين من غذاء ما.
  - محتوى بروتين ما أثناء عملية عزل وتنقية البروتينات.
  - تقييم المركبات النيتروجينية اللابروتينية.
  - القيمة الغذائية للبروتين (كالقيمة الهضمية، كفاءة تحويل البروتين، الميزان النيتروجيني).

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- **طريقة كلداهل :Kjeldahl Method**
- تقسم إلى ثلاث خطوات، الهضم والمعادلة والمعايرة.
- يهضم الغذاء مع حامض قوي لكي يحرر النيتروجين والذي يمكن أن يقدر بواسطة تقنية معايرة مناسبة، ثم تحسب كمية البروتين الموجودة من تركيز النيتروجين في الغذاء

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- طريقة كلداهل :Kjeldahl Method
- تطحن الأغذية الصلبة بحيث تمر من منخل سعة ثقوبه 20 ثقباً في البوصة الطولية ثم تؤخذ عينة ممثلة ومتجانسة.

• توزن عينة الغذاء التي ستحلل في دورق الهضم digestion flask وبعد ذلك تهضم بتسخينها في وجود حامض الكبريتيك sulfuric acid (عامل تأكسد يعمل على هضم الغذاء). وكبريتات الصوديوم اللامائي anhydrous sodium sulfate (لتسريع التفاعل برفع درجة الغليان) ومحفز، مثل النحاس، السيلينيوم، التيتانيوم، أو الزئبق (لتسريع التفاعل).

• يحول الهضم أي نيتروجين في الغذاء (ما عدا الذي على شكل نيترات أو نيتريت nitrates or nitrites) إلى الأمونيا ammonia، ومواد عضوية أخرى إلى (CO_2) $9(H_2O)$. غاز الأمونيا (NH_3) (ammonia gas) لا يتحرر في محلول الحامض لأن الأمونيا تكون على شكل أيون الأمونيوم (NH_4^+) (ammonium ion) والذي يرتبط مع أيون الكبريت (SO_4^{2-}) وهكذا يبقى في المحلول:

$$N\ (food) \rightarrow (NH_4)_2SO_4 \qquad (1)$$

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- طريقة كلداهل :Kjeldahl Method
- بعد إكمال عملية الهضم يوصل دورق الهضم بدور الاستقبال receiving flaskبواسطة أنبوب المحلول في دورق الهضم يصبح قلوي بإضافة هيدروكسيد الصوديوم sodium hydroxide، والذي يحول كبريتات الأمونيوم إلى غاز الأمونيا:

$$(NH_4)_2\ SO_4 + 2\ NaOH \rightarrow 2NH_3 = 2H_2O + Na_2\ SO_4\ (2)$$

- يتحرر غاز الأمونيا المتكون من المحلول وينتقل من دورق الهضم إلى دورق الاستقبال، والذي يحتوي كمية زائدة من حامض البوريك boric acid
- الأس الهيدروجيني pH المنخفض للمحلول في دورق الاستقبال يحول غاز الأمونيا إلى أيون الأمونيوم، ويحول حامض البوريك إلى أيون البورات borate ion

$$NH_3 + N_3BO_3\ \text{(boric acid)} \rightarrow NH_4^+ + H_2BO_3^-\ \text{(borate Ion)} \qquad (3)$$

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- **طريقة كلداهل :Kjeldahl Method**
- يقدر محتوى النيتروجين بمعايرة بورات الأمونيوم ammonium borate المتكونة مع محلول قياسي لحمض الكبريتيك أو الهيدروكلوريك hydrochloric acid، ويستعمل دليل مناسب لتحديد نقطة النهاية للتفاعل:

$$H_2BO_3^- \rightarrow H_3BO_3 \quad (4)$$

- تركيز أيون الهيدروجين (in moles) المطلوب للوصول إلى نقطة النهاية يكون مكافئة إلى تركيز النيتروجين الموجود في عينة الغذاء الأصلية (معادلة 3). المعادلة التالية يمكن أن تستعمل لتقدير تركيز النيتروجين في عينة تزن جرامات مستعملاً محلول حامض XM HCl للمعايرة:

$$\%N = (x\ moles/1000cm3) \times [(vs - vb)\ cm3/mg] \times (14\ g/moles) \times 100 \quad (5)$$

حيث (vs) و (vb) حجوم المعايرة للعينة والبلانك blank، و (14 g) الوزن الجزيئي لنتروجين (N).

- تجرى عادة عملية عينة بلانك في نفس الوقت الذي تجرى فيه المادة المحللة للأخذ في الحسبان أي بقايا للنيتروجين (نيتروجين متبقي) والذي قد يكون في الكواشف المستعملة لإجراء التحليل. عندما يقدر محتوى النيتروجين فإنه يحول إلى محتوى البروتين باستعمال معامل التحويل الملائم:

$$\%Protein = F \times \%N$$

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- طريقة كلداهل :Kjeldahl Method

- يتراوح محتوى بروتين الأغذية من النيتروجين ما بين 13.4 إلى 19.1% لكن يفترض عادة أن مخلوط البروتين النقي يحتوي على 16% نيتروجين، ولذلك يقدر عادة محتوى العينة من البروتين بضرب نسبة النيتروجين في معامل 100÷16= 6.25. وبطبيعة الحال يختلف تركيز النيتروجين في البروتينات المختلفة وبالتالي تتباين معاملات تحويل النيتروجين إلى بروتين

الغذاء	% النيتروجين في البروتين	المعامل
البيض أو اللحم	16.00	6.25
الحليب	15.70	6.38
القمح	18.76	5.33
الذرة	17.70	5.65
الشوفان	18.66	5.36
فول الصويا	18.22	5.52
الأرز	19.34	5.17

تحليل الأغذية

تحليل البروتينات Analysis of proteins

- طريقة دوماس المحسنة Enhanced Dumas Method

- تحرق عينة معلومة الكتلة عند درجة حرارة عالية حوالي 900م في وجود الأوكسجين. هذا يؤدي إلى إطلاق CO_2 و H_2O و N_2. يزال CO_2 و H_2O بمرور الغازات على الأعمدة الخاصة والتي تمتصها. ثم يقاس محتوى النيتروجين بتمرير الغازات الباقية خلال عمود يحتوي في نهايته على مقدر ذو التوصيل الحراري thermal conductivity detector. يساعد العمود على فصل النيتروجين من أي بقايا من CO_2 و H_2O والتي ربما بقيت في مجرى الغاز.
- تعاير الآلة بواسطة تحليل مادة نقية وتحتوي على تركيز معلوم من النيتروجين، مثل (EDTA) وهكذا الإشارة من المقدر ذو التوصيل الحراري يمكن أن تحول إلى محتوى النيتروجين. كما هو الحال مع طريقة كلداهل من الضروري تحويل تركيز النيتروجين في العينة إلى محتوى البروتين، باستعمال معاملات التحويل المناسبة والتي تعتمد على التتابع الدقيق للأحماض الأمينية في البروتين.

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- **طرق استعمال الطيف المرئي – فوق البنفسجي: Methods using UV-visible spectroscopy**
- ابتكرت عدد من الطرق لقياس تركيز البروتين، والتي تعتمد على الطيف المرئي – فوق البنفسجي. هذه الطرق تستعمل إما القدرة الطبيعية للبروتين لامتصاص أو (تبعثر أو تشتيت) الضوء في منطقة المرئي – فوق البنفسجي من الطيف الإلكترو مغناطيسي، أو تحور البروتينات كيميائياً أو طبيعياً لجعلها تمتص (أو تبعثر) الضوء في هذه المنطقة. إن المبدأ الأساسي وراء كل واحدة من هذه الاختبارات متشابهة. أولاً يجهز منحنى معياري calibration curve للامتصاص absorbanceأو (للعكارة turbidity)مقابل تركيز البروتين باستعمال سلسلة من محاليل البروتين معلومة التركيز، ثم يقاس الامتصاص (العكارة) للمحلول المراد تحليله عند نفس طول الموجة، وتركيز بروتينه يقدر من المنحنى المعياري. إن الاختلاف الرئيسي بين الاختبارات هو المجموعات الكيميائية التي تكون مسئولة عن امتصاص أو تبعثر الأشعة، مثال: الروابط الببتيدية، المجموعات الجانبية العطرية، المجموعات القاعدية والبروتينات المتكتلة.

الأكاديمية العربية الدولية
Arab International Academy

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- طرق استعمال الطيف المرئي – فوق البنفسجي: Methods using UV-visible spectroscopy

1.القياس المباشر عند: Direct measurement at (280 nm)

- يمتص التربتوفان وثيروسين الضوء فوق البنفسجي بقوة عند 280 نانومتر. محتوى تربتوفان وثيروسين للعديد من البروتينات يبقى ثاباً جداً، ولذا فإن الامتصاص لمحاليل البروتين عند 280 نانومتر يمكن أن يستعمل لتقدير تركيزها. مزايا هذه الطريقة هي أن العملية سهلة (بسيطة) الإجراء (التنفيذ)، غير متلفة للعينة، ولا تتطلب مذيبات خاصة. العيب الرئيسي هو أن الأحماض النووية nucleic acidsتمتص أيضاً بقوة عند 280 نانومتر ويمكن أن تتداخل مع قياس البروتين وخاصة إذا وجد بتركيزات كافية. بالرغم من ذلك، طورت طرق للتغلب على هذه المشكلة، بواسطة قياس الامتصاص عند طولين موجبين مختلفين.

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- طرق استعمال الطيف المرئي – فوق البنفسجي: Methods using UV-visible spectroscopy

2. طريقة بيوريت :Biuret Method

- يتم تكون لون بنفسجي أرجواني violet-purplish عندما تتفاعل أيونات النحاس Cu^{2+}مع الروابط الببتيدية في الظروف القلوية. محلول بيوريت biuret reagent، والذي يحتوي على جميع المواد الكيميائية المطلوبة لتنفيذ التحليل، يمكن أن يحصل عليه بشكل تجاري. يتم خلطه مع محلول البروتين وبعد ذلك يترك لمدة 15-30 دقيقة قبل أن يقرأ الامتصاص عند 540 نانومتر. الميزة الرئيسية لهذه التقنية هو أنه ليس هناك تدخل من المواد التي تمتص عند أطوال موجبة منخفضة والتقنية أقل حساسية إلى نوع البروتين لأنها تستعمل الامتصاص الذي يتطلب الروابط الببتيدية والتي تكون موجودة في كل البروتينات، بدلاً من مجموعات جانبية معينة. ولكن، لها حساسية منخفضة نسبياً مقارنة بطرق الطيف المرئي – فوق البنفسجي الأخرى.

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- طرق استعمال الطيف المرئي – فوق البنفسجي: Methods using UV-visible spectroscopy

3. طريقة لووري :Lowry Method

- تجمع طريقة لووري محلول بيوريت مع محلول آخر Folin-Ciocalteau phenol reagent والذي يتفاعل مع بقايا ثيروسين وتربتوفان في البروتينات.
- هذا يعطي لون مزرق والذي يمكن أن يقرأ ما بين 500-700 نانومتر اعتماداً على الحساسية المطلوبة. هناك قمة peakصغيرة عند حوالي 500 نانومتر يمكن أن تستعمل لتقدير تركيزات البروتين العالية وقمة كبيرة عند حوالي 750 نانومتر يمكن أن تستعمل لتقدير تركيزات البروتين المنخفضة. هذه الطريقة أكثر حساسية إلى التركيزات المنخفضة من البروتينات من طريقة بيوريت.

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

▪ طرق استعمال الطيف المرئي – فوق البنفسجي: Methods using UV-visible spectroscopy

4. طرق الارتباط بالصبغة: Dye binding methods:

- تضاف كمية زائدة معلومة من صبغة مشحونة سالباً anionicإلى محلول بروتين والذي رقمه الهيدروجيني pHمعدل لكي يكون البروتين مشحوناً إيجابياً (وبمعنى آخر أقل من نقطة التعادل الكهربائي < the isoelectric point.) تشكل البروتينات مركباً عديم الذوبان مع الصبغة بسبب التجاذب الكهرو ستاتيكي بين الجزيئات، لكن الصبغة غير المرتبطة تبقى ذائبة. ترتبط الصبغة السالبة anionic dyeمع المجموعات الموجبة cationic groupsلبقايا الأحماض الأمينية القاعدية (آرجنين، هستدين وليسين) ومع مجموعات الأمين الحرة الطرفية. كمية الصبغة غير المرتبطة المتبقية في المحلول بعد إزالة معقد البروتين – الصبغة غير الذائب (مثال: بواسطة الطرد المركزي) تقدر بقياس امتصاصها.

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- طرق استعمال الطيف المرئي – فوق البنفسجي: Methods using UV-visible spectroscopy

5. طريقة قياس العكارة: Turbimetric Method

جزيئات البروتين القابلة عادة للذوبان في المحلول يمكن أن تجعل تترسب بواسطة إضافة بعض المواد الكيميائية، مثال: حامض ثالث كلور الخليك trichloroacetic، بسبب راسب البروتين للمحلول أن يصبح عكر. وهكذا فإن تركيز البروتين يمكن أن يقدر بقياس درجة العكارة.

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- **فصل وتمثيل بروتين Protein Separation and Characterization:**
- تفصل البروتينات على أساس الاختلافات في خواصها الفيز وكيميائية، مثل الحجم، الشحنة، صفات الامتصاص، قابلة الذوبان الحراري. يعتمد اختبار تقنية الفصل المناسبة على عدد من العوامل، تشتمل على: أسباب تنفيذ التحليل، كمية العينة المتوفرة، النقاوة المطلوبة، الأجهزة المتوفرة، نوع البروتينات الموجودة والتكلفة. الطرق التي تفصل كميات كبيرة large scale متوفرة من أجل عزل البروتين الخام من كميات كبيرة من البروتينات، بينما الطرق التي تفصل كميات قليلة small scale متوفرة للبروتينات الثمينة أو المتوفر فقط بكميات قليلة. أحد العوامل التي يجب أن يؤخذ في الاعتبار أثناء إجراء عملية الفصل هو احتمال أن التركيب الثلاثي الأبعاد الأصلي لجزيئات البروتين قد يتغير .

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- فصل وتمثيل بروتين :Protein Separation and Characterization
- الترسيب بالأملاح :Salting Out
- تترسب البروتينات في المحاليل المائية عندما يتجاوز تركيز الملح مستوى حرج، والذي يعرف بالتمليح الخارجي (Salting out)، لأن الماء يكون مرتبطاً مع الأملاح، ولذا يكون غير متوفر لتمييه hydrate البروتينات من الشائع استعمال كبريتات الأمونيوم $(NH_4)_2SO_4$ لأنه لها قابلية ذوبان عالية في الماء، ويمكن استعمال الأملاح الأخرى، مثل: NaCl أو KCl.

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- فصل وتمثيل بروتين Protein Separation and Characterization:
- الترسيب بالأملاح :Salting Out
- عموماً هناك إجراء من خطوتين لتزيد كفاءة عملية الفصل. في الخطوة الأولى، يضاف الملح عند تركيز أقل بقليل من التركيز اللازم لترسيب البروتين المختبر، ثم يعمل طرد مركزي للمحلول لإزالة أي بروتينات والتي تكون أقل قابلية للذوبان من البروتين المختبر. ثم يزاد تركيز الملح إلى نقطة أعلى بقليل من تلك المطلوبة لتسبب ترسب للبروتين. هذا يؤدي إلى ترسيب البروتين المختبر (والذي يمكن أن يفصل بواسطة عملية الطرد المركزي)، لكن يبقى بروتينات أكثر قابلية للذوبان في المحلول. المشكلة الرئيسية لهذه الطريقة هي أن التركيزات الكبيرة من الملح تلوث المحلول، والتي يجب أن تزال قبل إجراء عملية الإذابة مرة أخرى resolubized للبروتين، مثال: بواسطة عملية dialysis أو ultrafiltration.

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- **فصل وتمثيل بروتين :Protein Separation and Characterization**
- الترسيب عند نقطة التعادل الكهربائي :Isoelectric Precipitation
- نقطة التعادل الكهربائي (isoelectric point (IPللبروتين هي الرقم الهيدروجيني والتي يتكون عندها الشحنة الصافية على البروتين صفر. تعمل البروتينات إلى التجمع والترسيب عند IPالها لأنه ليس هناك نفور كهربائي ساكن electrostatic repulsionيفصلهم عن بعض. البروتينات لها نقاط تعادل كهربائي مختلفة بسبب الاختلاف في تتابع أحماضه الأمينية (بمعنى آخر: الأعداد النسبية لمجموعات anionicومجموعات (cationic، ولهذا يمكن فصلهم (البروتينات) عن طريق تعديل الرقم الهيدروجيني للمحلول. عندما تعدل pH إلى IPالبروتين معين فإن ترسيبه يترك البروتينات الأخرى في المحلول.

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- فصل وتمثيل بروتين :Protein Separation and Characterization
- فصل البروتينات بالمذيبات :Solvent Fractionation
- تعتمد قابلية الذوبان للبروتين على ثابت العازل الكهربائي dielectric constant للمحلول والذي يحيط بها لأن هذا يعدل من مقدار التفاعلات الكهربائية الساكنة electrostatic interactions بين المجموعات المشحونة، عندما ينخفض ثابت العازل الكهربائي للمحلول فإن مقدار التفاعلات الكهربائية الساكنة بين الأنواع المشحونة يزداد. هذا يؤدي إلى نقص قابلية ذوبان البروتينات في المحلول لأنها تصبح أقل تأين ionized، ولذا فإن نفور الكهرباء الساكنة بينهم ليس كافٍ لمنعهم من التجمع. ثابت العازل الكهربائي للمحاليل المائية يمكن ان يخفض بإضافة مذيبات عضوية ذائبة بالماء، مثل الايثانول أو الاسيتون. كمية المذيب العضوي اللازمة للترسيب تعتمد على البروتين ولذا يمكن فصل البروتينات بناء على هذه القاعدة. الكمية القصوى من المذيب العضوي اللازمة لترسيب البروتين يتفاوت من حوالي 5 إلى 60%. تجرى عملية التجزئة بالمذيب عادة عند صفر مئوي أو أقل لمنع حدوث دنترة denaturation للبروتين والذي يسببه الارتفاع في درجة الحرارة والذي يحدث عندما يتم خلط المذيب العضوي مع الماء.

تحليل الأغذية

تحليل البروتينات Analysis of proteins

- فصل وتمثيل بروتين :Protein Separation and Characterization
- كروماتوجرافيا
- كروماتوجرافيا الالفة والتبادل الأيوني affinity and ion-exchange chromatographyنوعان رئيسيان في كروماتوجرافي الادمصاص adsoprion chromtography شائعة الاستعمال لفصل البروتينات. يمكن أن تنفذ عملية الفصل باستعمال إما كروماتوجرافي العمود المفتوح أو كروماتوجرافي السائل ذات الضغط العالي (high-pressure liquid HPLC) chromatography.
- يستعمل تحليل الأحماض الأمينية لتقدير تركيب البروتينات من الأحماض الأمينية. تحلل أولاً عينة البروتين (مثال: باستعمال حامض قوي) لتحرير الأحماض الأمينية، والتي تفصل بعد ذلك باستعمال الكروماتوجرافيا، مثال: كروماتورجافي التبادل الأيوني، كروماتورجافي الألفة أو كروماتوجرافي الامتصاص.

تحليل الأغذية

تحليل البروتينات Analysis of proteins

- فصل وتمثيل بروتين :Protein Separation and Characterization
- كروماتوجرافي التبادل الأيوني :Ion Exchange Chromatography
- تعرف كروماتوجرافي التبادل الأيوني كعملية تبادل الادمصاص بين جزيئات البروتينات المشحونة، والأيونات بالمحلول المنظم ويتم ذلك على سطح المادة العاملة الصلبة الراتنجية. وتعرف المادة الصلبة matrix التي تحمل شحنات موجبة بالمبادل الأيوني anion exchanger ويرتبط هذا المبادل الأيوني بالأيونات أو الجزيئات الشحنة. ويطلق على المادة الصلبة العاملة للشحنات السالبة بالمبادل الكاتيوني cation exchanger ويرتبط بالأيونات أو الجزيئات موجبة الشحنة. ومن أكثر أنواع المبادلات الأيونية شيوعاً مشتق ثنائي ايثيل أمينو ايثيل diethylaminoethyl ويليه شيوعاً مادتي الكربوكس ميثيل، والفوسفوكاتيون.
- وعند فصل البروتينات باستخدام المبادلات الأيونية تدمص بعد ضبط رقم pH والقوة الأيونية للمحلول المنظم لمعظمه درجة استجابة البروتين للمادة المدمصة. ثم تزاح البروتينات موضع الاعتبار اختيارياً من عمود الفصل بتعبير القوة الأيونية والـ pH تدريجياً لمحلول الإزاحة، حيث يؤدي تغيير تركيب محلول الإزاحة المنظم eluting buffer لتغيير كثافة شحنات البروتين، فتقل قابليتها للادمصاص على مادة التبادل الأيوني، فتخرج من العمود البروتينات الأقل قوة ارتباطاً ثم الأكثر، فالأكثر.

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- **فصل وتمثيل بروتين Protein Separation and Characterization:**
- كروماتوجرافيا الاستجابة :Affinity Chromatography
- كروماتوجرافيا الاستجابة هي أحد أنواع كروماتوجرافيا الادمصاص، وفيها يفصل البروتين بواسطة مادة صلبة حاملة تحتوي على مادة ارتباط تعاوني ligand covalentlyعبارة عن جزيء له صفات ارتباط عكسية ومتخصصة وفريدة للبروتين.
- ولفصل البروتينات يمرر مخلوط البروتين الذائب في محلول منظم خلال عمود يحتوي على مادة الارتباط التعاوني المرتبطة بمادة صلبة حاملة لها. ونتيجة لتركيب المحلول المنظم من قوة أيونية ورقم pH، وتركيز البروتين وكذلك درجة حرارته يرتبط البروتين مع مادة الارتباط على سطح المادة الحاملة لها. أما البروتينات الأخرى غير ذات العلاقة والتي لا تستجيب لمادة الارتباط فإنها تخرج من العمود دون ارتباط به. يتم بعد ذلك تفكيك ادمصاص أو ارتباط البروتين من مادة الارتباط بالعمود باستخدام محلول إزاحة مغاير من حيث رقم الـ pH، درجة الحرارة أو تركيز الملح وقوته الأيونية فيفصل البروتين أو شقوق البروتينات تباعاً من العمود طبقاً لقوى ارتباطها.
- إن كل من كروماتوجرافي التبادل الأيوني والاستجابة تستعمل لفصل البروتين والأحماض الأمينية في المختبر حيث أنهما غير مناسبين لفصل الأحجام الكبيرة.

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- فصل وتمثيل بروتين **Protein Separation and Characterization:**
- فصل البروتينات متباينة الأحجام :Separation by Size
- البروتين يمكن أيضاً أن يفصل طبقاً لحجمه حيث يتراوح الوزن الجزيئي للبروتينات من 10000 إلى ما يربو على المليون دالتون، ويعني ذلك أن حجم جزيئات البروتينات يعتبر أحد المعايير الهامة والصفات التي تستخدم في فصل البروتينات. وبذلك يمكن فصل البروتينات المتباينة في أنصاف أقطار جزيئاتها. وقد تتساوى البروتينات أو تقترب أوزانها الجزيئية من بعضها البعض ولكنها تختلف في متوسط أنصاف أقطارها ولذلك يمكن فصلها بسهولة برغم تماثل أوزانها الجزيئية.

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- فصل وتمثيل بروتين **Protein Separation and Characterization:**
- فصل البروتينات متباينة الأحجام Separation by Size:
- الديلسة Dialysis:
- تستعمل الديلسة لفصل الجزيئات في المحلول باستخدام أغشية شبه منفذة والتي تسمح بمرور الجزيئات الأصغر من سعة ثقب الغشاء وتمنع مرور الجزيئات الأكبر ولإجراء عملية الديلسة يوضع محلول البروتين في أنابيب غسيل الكلية والتي يقفل أحد أطرافها وتوضع في حجم كبير من الماء أو المحلول المنظم ويحرك الأنبوب ببطيء فتنتشر الجزيئات ذات الأحجام الصغيرة من داخل الأنبوب إلى الخارج للماء أو المحلول المنظم فيما يدخل الماء أو المحلول المنظم لداخل الأنبوب.
- وتعتبر طريقة الديلسة من طرق الفصل البطيئة ويستغرق زمن إنجازها حوالي 12 ساعة. وتستعمل كثيراً في المختبر وهذه الطريقة في أغلب الأحيان تستعمل لإزالة الملح من محلول البروتين بعد عملية الفصل بالتمليح.

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- فصل وتمثيل بروتين :Protein Separation and Characterization
- فصل البروتينات متباينة الأحجام :Separation by Size
- كروماتوجرافيا الفصل بالإقصاء الحجمي :Size exclusion chromatography
- وتعرف أيضاً تلك الطريقة باسم كروماتوجرافيا الترشيح بالجيل Gel filtration، وهي طريقة من طرق الفصل في الأعمدة وتستخدم لفصل شقوق البروتينات اعتماداً على تباين أحجامها، حيث يعبأ العمود بمواد متبلمرة مثل الأجاروز أو الدكستران (agaros, dextran) تكون أشكال جسيماتها عبارة عن كريات سبحية مسامية وعند مرور محلول بروتينات من خلال تلك المواد المتبلمرة، تخرج الجزيئات الكبيرة من ثقوب الكريات السبحية وتتحرك بسرعة في العمود وتزاح منه في وقت قصير، أما الجزيئات الصغيرة الحجم فتدخل في ثقوب الكريات السبحية pores of the beads وتتأخر في سرعة سريانا ومن ثم تتحرك ببطئ شديد خلال العمود، أما الجزيئات متوسطة الحجم فتتحرك بسرعة متوسطة وتخرج من العمود بعد الجزيئات الكبيرة، ويعني ذلك أن جزيئات شقوق البروتين تزاح من العمود بترتيب تنازلي الأكبر حجماً، فالمتوسطة الحجم، وأخيراً الأقل حجماً.
- وتستخدم هذه الطريقة لإزالة الأملاح، وتغيير المحاليل المنظمة، وفي فصل مخلوط من البروتينات إلى شقوقه كل على حدة، وكذلك لتقديرات الأوزان الجزيئية للبروتينات.

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- فصل وتمثيل بروتين **Protein Separation and Characterization:**
- فصل البروتينات متباينة الأحجام Separation by Size:
- فصل البروتينات بالهجرة في المجال الكهربائيSeparation by Electropharoses
- يعرف الإلكتروفوريسيس بعملية هجرة الجزيئات المستخدمة في محلول باستخدام مجال كهربائي يحرك تلك الجزيئات.

تحليل الأغذية

تحليل البروتينات Analysis of proteins

- **فصل وتمثيل بروتين :Protein Separation and Characterization**
- فصل البروتينات بالهجرة في المجال الكهربائيSeparation by Electropharoses
- إلكتروفوريسيس الدنترة Denaturing Electrophoresis
- وفي هذه الطريقة يستخدم مع جيل البولي أكريلاميد منظف أنبوبي وهو كبريتات دوديسيل الصوديوم sodium dodecyl sulphate (SDS) ويتم به فصل تحت وحدات subunits البروتينات طبقاً لوزنها الجزيئي. وعادة يحتوي المحلول المنظم المستخدم في الفصل على الـ SDS ومادة مختزلة، فتفكك البروتينات إلى تحت وحداتها ومن أمثلة المواد المختزلة المستخدمة في هذه الطريقة مواد الميركابتوايثانول، وثنائي الثيوريتول dithioreitol واللتان تختزلان الروابط ثنائية الكبريت disulfide bands في تحت وحدات البروتين أو ما بين تحت وحداته between subunits وتصبح البروتينات التي ترتبط بكبريتات دوديسيل الصوديوم SDS سالبة الشحنة وتفصل بالإلكتروفوريسي اعتماداً على حجمها فقط.

تحليل الأغذية

تحليل البروتينات Analysis of proteins

- **فصل وتمثيل بروتين Protein Separation and Characterization:**
- فصل البروتينات بالهجرة في المجال الكهربائي Separation by Electropharoses
- إلكتروفوريسيس الدنترة Denaturing Electrophoresis
- يتكون جهاز الإلكتروفوريسيس من مصدر التيار الكهربائي power supply، ومادة جيل البولي أكريلاميد، ومستودعين للمحلول النظم. وينظم إلكترود المحلول المنظم الـ pH للمحافظة على الشحنة المناسبة على البروتين ثم يوصل التيار الكهربائي خلال جيل البولي أكريلاميد. وتشمل أنظمة المحاليل المنظمة، محلول منظم أيوني ألا وهو tis-(hydrooxymethyl) amino methane مع الجيل الذي يتحرك عليه البروتين عند رقم pH = 8؟8، وكذلك محلول خلات كاتويني cationic acetate buffer عند pH = 4.3.
- ويتم تشكيل مادة جيل البولي أكريلاميد ببلمرة الأكريلاميد مع كمية قليلة من دليل الروابط المتقاطعة N,N-methylenebisacrylamide في وجود عامل هو رباعي الميثلين ثنائي الامين tetramethylenediamine (TEMED)، ومصدر للشقوق الحرة وهو مركب فوق كبريتات الأمونيوم ammonium persulfate.

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- فصل وتمثيل بروتين **Protein Separation and Characterization:**
- فصل البروتينات بالهجرة في المجال الكهربائيSeparation by Electropharoses
- إلكتروفوريسيس الدنترة Denaturing Electrophoresis
- وتستخدم عادة مادة جيل غير مستمر لتحسين سريان البروتين خلال هذا المخلوط المعقد. وتتكون مادة هذا الجيل من جز متكدس stacking gelله مسام كبيرة (عادة من 3-4% أكريلاميد) وجيل للسريان resolving gelذي حجم مسام أصغر. ويستخدم الجزء المتكدس من الجيل كما هو واضح من تسميته لتكديس أو لتركيز البروتين في مناطق ضيقة جداً قبل دخوله إلى جيل السريان.
- وعند pH = 6.8بحيث تدرج في الجهد بين الكلوريد (شحنته السالبة العالية) والجليسين (ذا الشحنة السالبة المنخفضة) في المحلول المنظم للإلكترود. والذي يعمل على حجز وتكديس البروتينات في مناطق ضيقة جداً بين الأيونات. وتؤدي الهجرة في جيل السريان عند قيم pHمختلفة لقطع وظهور التدرج في فرق الجهد مما يسمح بفصل البروتينات إلى مناطق منفصلة .discreate bands
- وعادة يجرى اختبار حجم ثقوب جيل السريان طبقاً للوزن الجزيئي للبروتينات ويتباين كذلك بتبديل تركيز الأكريلاميد في المحلول. وعادة ما تفصل البروتينات على جيل سريان يحتوي على 4-15% من الأكريلاميد.

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- فصل وتمثيل بروتين :Protein Separation and Characterization
- فصل البروتينات بالهجرة في المجال الكهربائيSeparation by Electropharoses
- إلكتروفوريسيس الدنترة Denaturing Electrophoresis
- ولأداء عملية الفصل، توضع البروتينات في المحلول المنظم عند رقم الـ pHالمناسب في قمة الجيل المتكدس، ثم تضاف صبغة البروموفينول الزرقاء لمحلول البروتين، وتلك الصبغة عبارة عن جزيئات صغيرة تهاجر أمام البروتينات وتستخدم لتبين تقدم عملية الهجرة والفصل. وعقب انتهاء عملية السريان في جهاز الإلكرتوفوريسيس يتم إظهار مناطق (حزم) شقوق البروتينات على الجيل باستخدام صبغة مناسبة للبروتين كصبغة كوماسي الزرقاء اللامعة coomassie brilliant blueأو صبغة فضة .silver stainكما يمكن أيضاً استخدام صبغات إنزيمية متخصصة أو أجسام مضادة معينة للكشف عن نوع محدد من البروتين.
- وبعد ذلك يتم حساب الحركة النسبية أو الإلكتروفوريتية (Rm)لكل حزمة بروتين انفصلت بهذا النظام كما يلي:

$$\text{الحركة النسبية } (Rm) = \frac{\text{المسافة التي قطعها البروتين المهاجر من بداية جيل السريان}}{\text{المسافة من بداية جيل الفصل وطول مسار الصبغة}}$$

الأكاديمية العربية الدولية
Arab International Academy

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- فصل وتمثيل بروتين **Protein Separation and Characterization:**
- تحليل الأحماض الأمينية :Amino Acid Analysis
- تحليل الأحماض الأمينية يستخدم لتقدير مكونات الأحماض الأمينية في البروتين. فعينة البروتين يعمل لها أولاً تحلل بواسطة حمض قوي لتنفصل الأحماض الأمينية ثم تتم عملية الفصل والتعرف على الأحماض الأمينية بواسطة الكروماتوجرافيا مثل طريقة التبادل الأيوني أو كروماتوجرافيا الامتصاص absorption chromatography وأكروماتوجرافيا الاستجابة affinity chromatography.

تحليل الأغذية

❑ تحليل البروتينات Analysis of proteins

- **فصل وتمثيل بروتين :Protein Separation and Characterization**
- فصل البروتينات عند نقطة تعادلها الكهربي :Isoelectric Focusing
- تعتبر طريقة فصل البروتينات عند نقطة تعادلها الكهربي من طرق الإلكتروفوريسي "المعدلة" حيث تفصل البروتينات المشحونة في مجال كهربي على مادة تتدرج فيها قيم الـ pHباستخدام مركبات أمفوليتية ampholytes، ينتقل البروتين إلى منطقة يكون فيها pHمساوياً لنقطة التعادل الكهربائي وعندما تصل البروتينات المتحركة على الجيل إلى الموضع الذي تتساوى فيه قيمة pHالجيل مع نقطة تعادلها الكهربي، حينئذ، تثبت البروتينات عند هذا الموضع ولا تتحرك حيث أنها لا تشحن. ويعتبر سريان البروتينات على جيل من هذا النوع من أفضل نظم فصل البروتينات، ويمكن استخدامه لفصل بروتينات ذات نقظ تعادل كهربائية PIsتختلف عن بعضها البعض بمقدار قد يقل حتى عن 0.02 وحدة pH، لذا فإنه من الأفضل اختيار جيل مناسب للبروتين المراد فصله.

تحليل الأغذية

❑ جهاز الفصل السائل اللوني عالي الكفائهHIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

- جهاز الـ HPLCالآن هو أحد أهم الطرق المستخدمة في الكيمياء التحليلية له القدرة على فصل وتمييز وعد المركبات الموجودة في أي عينة فهو جهاز يعتمد على الفصل الفيزيائي للمادة الفعالة عن طريق طورين أحدهما ثابت والأخر متحرك , ويمثل ذلك بظهور قمة حيث تحسب المساحة داخلها وتقارن بمساحة القمة للمحلول القياسي معلوم التركيز ويساوي تركيز العينة المراد حساب تركيزها.
- تعتبر تقنية الكروماتوجرافيا أهم تقنية في تقنيات الفصل الكيميائي بين المواد، وأكثرها شيوعًا في مختلف الصناعات ومجالات البحث المختلفة. تتمايز أنواعها فمنها الوسط المتحرك mobile phase، والوسط الثابت stationary phase.

تحليل الأغذية

❑ جهاز الفصل السائل اللوني عالي الكفائه HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

- ما هو الـ HPLC؟
- تتعدد أنواع الكروماتوغرافيا-كما ذكر سابقًا- حسب تعدد أنواع الوسط المتحرك والوسط الثابت، فمثلًا ضَيْفنا في هذا المقال (High-performance liquid chromatography) يعتمد على وسط متحرك سائل في عمله، لذا سمي بهذا الاسم. طُوِّر هذا الجهاز في أواخر الستينيات والسبعينيات ولاقى رواجًا كتقنية فصل، لكل من تحليل وفصل المواد في العديد من المجالات.. تتزايد تطبيقات هذا الجهاز بنجاح يومًا بعد يوم، فتمت إضافة تحليل الأحماض النووية والكربوهيدرات، وتحليل عدمية التناظر (chiral analysis) التي سُميت بهذا الاسم للتمييز بينها وبين كروماتوغرافيا العمود البسيطة (column chromatography).

تحليل الأغذية

❑ جهاز الفصل السائل اللوني عالي الكفائه HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

- يتكون الجهاز من 8 مكونات رئيسية:

1. وعاء الوسط المتحرك – (mobile phase reservoir): هو دورق ((flask، أو مجرد وعاء تجاري بشرط أن يكون نقيًا نظيفاً مفرغًا من الهواء والغازات؛ حتى لا يتسبب في خطأ في التحليل. كما يجب تنقيته من الشوائب عند إعداد الوسط المتحرك؛ لمنع تعطل الجهاز والخطأ في التحاليل.

2. نظام توصيل المذيب – (solvent delivery system): هو مضخة لضمان السريان الحر للوسط المتحرك بشكل مستمر ودقيق وبنبضٍ ثابت. هناك نوعان يستخدمان في HPLC: مضخة حقنية ذات مسمار ((screw-driven syringe type، وهي بالرغم من امتيازها بسهولة التحكم في معدل السريان إلا أنها غير مناسبة لتغيير المذيب. تتكون المضخة المزدوجة الترددية ذات المكابس (Reciprocating piston) من غرفة أسطوانية تُملأ وتُفرغ بواسطة الحركة الأمامية والخلفية للمكابس، وتشمل مزايا هذه التقنية حجمها الداخلي الصغير الذي يراوح بين 35 إلى 40 ميكرولتر، مع ضغط خارجي كبير يصل إلى 10000 رطل لكل بوصة مربعة (.psi) من استخدامات الجهاز المهمة، الفصل المتدرج (gradient elution) بمعدلات سريان ثابتة حيث لا تتأثر- بشكل ملحوظ- بأي من؛ الضغط العكسي للعمود (column back-pressure) ولا لزوجة المذيب.

تحليل الأغذية

❑ جهاز الفصل السائل اللوني عالي الكفائه HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

- يتكون الجهاز من 8 مكونات رئيسية:

3. نظام إدخال العينة: يمكن أن يكون آلي أو يدوي ويستخدم صمامات، عند فتحها يمكن ملأ تجويف العينة (loop sample) بحجم من 10 إلى 50 ميكرولتر. وعند غلق الصمامات تذهب العينة إلى مجرى الوسط المتحرك ذي الضغط العالي حيث يُرسل إلى العمود حيث يتم تحليلها. يجب أن تكون العينة في حالة سائلة وتُذاب في محلول إذا كانت في حالة صلبة، حيث يكون المذيب منسجمًا مع الوسط المتحرك والثابت، وتُحقن العينة بكمية تتراوح من 1لـ100 ميكرولتر.

تحليل الأغذية

❑ جهاز الفصل السائل اللوني عالي الكفائه HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

- يتكون الجهاز من 8 مكونات رئيسية:

4. العمود: هو قلب الجهاز، حيث تحدث عملية الفصل. عادةً ما يكون مصنوعًا من الفولاذ غير قابل للصدأ ومضاد للتآكل وينقسم إلى نوعين: ١- الأعمدة التحليلية: هي النوع الأساسي وتوجد في جميع الأجهزة ويترواح طولها من 5 إلى 25 سم وبقطر داخلي من 3 مم إلى 5 مم محشو بمادة الوسط الثابت وهي جزيئات بحجم 5 ميكرومتر.وفي الثمانينات، تطورت سرعة الفصل بسبب تقليل القطر وزيادة الطول. ٢- الأعمدة الأولية ((precolumns، وتنقسم إلى نوعين. الأول، العمود النابش للفضلات (scavenger column)ويقع بين منطقة حقن العينة ووعاء الوسط المتحرك ويقوم بتحسين جودة الوسط المتحرك، والثاني، العمود الحارس (Guard column)ويقع بين العمود التحليلي ومنطقة حقن العينة ويقوم بإزالة الشوائب من المذيب. كما ينقسم حشو العمود المُستخدَم في هذا الجهاز إلى نوعين: حزم مُغلَفة (pellicular)وهي بوليمرات على هيئة خرزات كروية وغير مسامية يتراوح قطرها من30 إلى 40 مم، مُغلَفة بطبقة رقيقة مسامية من السيليكا أو الألومينا أو الراتنج القادر على التبادل الأيوني ((Ion-exchange resin، والذي يستخدم الآن لفصل البروتينات والجزيئات الحيوية كبيرة الحجم، والنوع الآخر من الحشو هو الحشو المسامي، وعادة يحتوي على جزيئات صغيرة يترواح قطرها بين 3ل10مم وتتكون من السيليكا أو الألومينا أوالراتنج القادر على التبادل الأيوني والسيليكا تُعتبَر أكثر المواد المُستخدَمة شيوعًا في حشو العمود وأحيانًا تُحاط بطبقة عضوية رقيقة ترتبط بالسطح الداخلي للعمود كيميائيًا أو فيزيائيًا).

تحليل الأغذية

جهاز الفصل السائل اللوني عالي الكفائه HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

- يتكون الجهاز من 8 مكونات رئيسية:

5. الكاشف (detector): وظيفته مراقبة المواد المُذابة المراد استخلاصها عند خروجها من العمود؛ فهو يبعث إشارات كهربية تتناسب مع مستوى خاصية معينة لدى مادة الوسط المتحرك أو للمادة المُستخرَجة. وهناك الكثير من الأنواع:

كاشف الأشعة البنفسجية ((U.V. absorbance detectors
.الكاشف الفلوريسيني ((fluoresce detectors
.الكواشف الكهروكيميائية ((electrochemical detectors
.كواشف التوصيلية ((conductivity detectors
.كواشف معامل الانكسار ((refractive index detectors
.مطياف الكتلة ((mass spectrometer

تحليل الأغذية

❑ جهاز الفصل السائل اللوني عالي الكفائه HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

- يتكون الجهاز من 8 مكونات رئيسية:

6. الأنابيب الرابطة: هي مصنوعة من مادة خاملة لا تتفاعل مع مادة الوسط المتحرك والمذيبات، وتكون في العادة مصنوعة من الحديد غير قابل للصدأ أو من البلاستيك الخامل.

7. جهاز حاسوب أو مسجل: يستخدَم كجهاز مُجمِع للبيانات؛ حيث يكون متصلًا بالكاشف فيلتقط الإشارات الإلكترونية الآتية منه ثم يقوم بتحليلها وإخراجها في شكل رسوم بيانية تسمى كروماتوغرام (chromatogram).

8. وعاء الفضلات.

تحليل الأغذية

❑ جهاز الفصل السائل اللوني عالي الكفائه HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

- ما هي أنواع الجهاز؟

1. الكروماتوغرافيا التجزيئية – (:PARTITION CHROMATOGRAPHY)

من أكثر الأنواع استخدامًا ويتكون الوسط الثابت من سائل غير قابل للذوبان في سائل الوسط المتحرك، ويتفرع هذا النوع إلى فرعين. الأول «liquid-liquid partition chromatography»؛ حيث تُثبت جزيئات الوسط الثابت فيه على سطح مواد الحشو بالامتزاز. الثاني « liquid-bonded-phase chromatography»حيث يتشكل الوسط الثابت فيه من أنواع عضوية ترتبط كيميائيًا بسطح مواد الحشو.

2. كروماتوغرافيا الامتزاز – (:ADSORPTION CHROMATOGRAPHY)

هو الطراز القديم للكروماتوغرافيا السائلة، ويتضمن الكثير من التقنيات والمبادئ التي تُطبق على النوع التجزيئي (حيث يعتمد على الامتزاز في عملية الفصل أيضًا) تُطبق أيضًا على هذا النوع، أما الوسط الثابت فهو من السيليكا أو الألومينا فقط.

3. كروماتوغرافيا الأيونات – (:ION CHROMATOGRAPHY)

يتميز هذا النوع بأن الوسط الثابت فيه عبارة عن راتنج مُبادِل للأيونات، سواء الأنيونات أو الكاتيونات. يوجد في العمود ويُستخدم لفصل الأنواع المشحونة، وتتم عملية الكشف عبر القياسات التوصيلية.

تحليل الأغذية

- ❑ جهاز الفصل السائل اللوني عالي الكفائه HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

- ما هي أنواع الجهاز؟

4. كروماتوغرافيا الأحجام – (:SIZE-EXCLUSION CHROMATOGRAPHY)

كروماتوغرافيا الأحجام أو كروماتوغرافيا الجل. تنطبق على الأنواع ذات الحجم الجزيئي الكبير، ومواد الحشو تحتوي على جزيئات صغيرة من السيلكا أو البوليمر التي تحتوي على شبكة من الثقوب؛ حيث تستطيع جزيئات المُذيب والمُذاب الانتشار.

5. كروماتوغرافيا الانجذاب – (:AFFINITY CHROMATOGRAPHY)

يُستخدَم في هذا النوع كاشف (reagent) يسمى ربيطة الانجذاب (affinity ligand). ويكون مرتبطًا بشكل تساهمي بدُعامة صلبة. الربيطة، هي- عادة، أجسام أو مثبطات إنزيمات أو أي مواد تستطيع الارتباط بشكل انتقائي بالجزيئات المُراد تحليلها من العينة حين مرورها، حيث تستطيع هذه الجزيئات الانجذاب أو الارتباط بربيطات الانجذاب ويتم احتجازها في العمود.

6. كروماتوغرافيا عديمة التناظر – (:CHIRAL CHROMATOGRAPHY)

يعتبر هذا النوع من أكبر التطورات في تقنية الكروماتوغرافيا؛ حيث تمكن هذه التقنية من فصل المواد حسب التناظر المرآتي (chirality). هنا، عامل الفصل قد يكون مادة مضافة إلى الوسط المتحرك أو العامل نفسه وهو الوسط الثابت. يبقى الشرط المهم أن يكون له نفس الخصائص التناظرية لإحدى الأشكال، ليتمكن من فصلها.

تحليل الأغذية

❑ جهاز الكروماتوجرافيا الغازية GAS CHROMATOGRAPHY -GS-FID

- ما هي كروماتوجرافيا الغاز؟
- جاءت تسمية هذا النوع من الكروماتوجرافيا بالغازي لِكوْن الوسَط المتحرك الذي يعمل على نقل مواد العينة غازيًا، لذا فهناك غازٌ يعمل على تحريك مواد العينة خلال أنبوب، ويتم فصْل كل مُكوّن من مكونات العينة أثناء حركتها في الغاز.

تحليل الأغذية

❑ جهاز الكروماتوجرافيا الغازية GAS CHROMATOGRAPHY -GS-FID

- كيفية عملها:
- كما ذكرنا من قبل، فإنه بشكل عام يكون لدينا وَسَطان في الكروماتوجرافيا: الأول هو الوسط المتحرك الذي يعمل على نقل مُكونات العينة معه أثناء حركته، والثاني هو الوسط الثابت الذي لا يتغير مكانه مع الوقت ويعمل في الغالب على تثبيط حركة مكونات العينة.
- في كروماتوجرافيا الغاز وكما يظهر من اسمها يكون الوسط المتحرك هو الغاز، كما تَكون العينة أيضًا على شكل غاز أو يتم تحويلها إلى غاز لكي يستطيع الجهاز التعامل معها. أما الوسط الثابت فيكون سائلًا أو صلبًا.
- في بداية الأمر يتم حَقْن العينة المطلوبة داخل الجهاز، ويتم تسخينها لكي تتحول إلى غاز ليستطيع الجهاز التعامل معها. بعد ذلك يقوم الجهاز بضخّ غاز خامل (يُستخدم غاز خامل حتى لا يتفاعل مع مكونات العينة) لكي يقوم بتحريك مكونات العينة من مكانها خلال العمود (أنبوب طويل ذو قُطْر صغير) حتى تصل إلى المكشاف الذي يتعرف على المادة التي تصل إليه ويرسل البيانات إلى الحاسب الآلي.

تحليل الأغذية

❑ جهاز الكروماتوجرافيا الغازية GAS CHROMATOGRAPHY -GS-FID

- مكونات الجهاز وكيفية عمل كل جزء:
- إدخال العينة:
- في البداية يتم وضع العينة في المكان المخصص لها، ثمّ تُسخّن، فتبدأ مكوناتها بالتطاير لتكون غازًا. بعد ذلك يتم إدخال العينةإلى المجرى الذي به الغاز الناقل ليتم نقلها عبر الجهاز. ويُمكن تجاوز مرحلة تسخين العينة إذا كانت مكوناتها سريعة التكسُّر في درجات الحرارة العالية، فعندئذٍ تُحقن في مجرى الغاز الناقل مباشرة.
- الغاز الناقل:
- يأتي الغاز الذي يقوم بدور الوسط المتحرك معبّأً في اسطوانات، ويتم وصْل هذه الاسطوانات بالجهاز لحقْن الغاز إلى داخل الجهاز. ويُمرَّر هذا الغاز على فلاتر ليتم تنقيته والتأكد من نقائه تمامًا وعدم وجود أي شوائب يمكنها التفاعل مع مواد العينة بصورة أو بأخرى.
- ويختلف ضغط الغاز المطلوب حسب العينة التي يتم تحليلها، ونوع التطبيق الذي نستخدم فيه الكروماتوجرافيا. لذا يتم التحكم في ضغط الغاز دائمًا وتغييره حسب الاحتياج. كما يختلف أيضا نوع الغاز المستخدم تبعًا لنوع العينة المراد تحليلها، حيث يمكن استخدام الهيدروجين أو النيتروجين أو الهيليوم. ويُشترط ألّا يكون الغاز قادرًا على التفاعل مع مواد العينة لكي لا يغير من خصائصها.

تحليل الأغذية

❑ جهاز الكروماتوجرافيا الغازية GAS CHROMATOGRAPHY -GS-FID

- مكونات الجهاز وكيفية عمل كل جزء:
- العمود:
- الآن نأتي إلى طريقة الفصْل، وفيها نفصل المادة الى المكوّنات الاساسية والفرعية المكوّنة لها. وفكرتها بسيطة تمامًا، فكما ذكرنا في مقال سابق تكون الفكرة الأساسية في عملية الفصل هي اختلاف قدرة كل مادة من مواد العينة على التفاعل مع الوسط الثابت((Stationary phase، حيث تختلف فترة الارتباط بين المادة والوسط الثابت حسب خصائص المادة. هنا يأتي دور العمود الذي يحتوي على الوسط الثابت حيث يكون الوسط الثابت هنا إمّا سائلًا أو صلبًا. كما يختلف نوع العمود المستخدم على حسب التطبيق أيضًا، حيث تختلف المواد التي تُكوّن العمود من الداخل كما يختلف طول وقُطر العمود فيمكن استخدام عمود عبارة عن أنبوبة شعرية طويلة أو يكون العمود ذا قُطرٍ أكبر ويحتوي على بعض المواد بالداخل.
- الفرن الكهربائي:
- يقوم الفرن بالتحكم في درجة حرارة العمود حتى لا تتحوّل مواد العينة إلى سائل مرة أخرى داخل العمود. أيضًا يتم استخدام الفرن في حالة اختلاف درجة الغليان بين كل مادة من مواد العينة حيث يتم رفع درجة حرارة الفرن تدريجيًا بطريقة ملائمة للعينة المستخدمة.

تحليل الأغذية

جهاز الكروماتوجرافيا الغازية GAS CHROMATOGRAPHY -GS-FID

- مكونات الجهاز وكيفية عمل كل جزء:
- المكشاف:
- يُسمَّى الجهاز الذي يقوم بالكشف عن وصول مادة ما إلى نهاية المطاف بالمكشاف، ويوجد منه العديد من الأنواع التي لكلٍّ منها طريقة عملٍ مختلفة عن الأخرى. حيث يختلف المكشاف المستخدم حسب التطبيق، ونوع المعلومات التي نريدها، وما إذا كنا نريد القيام بتحليل كمي أو كيفي. يعتمد كل نوع على بعض الخصائص الكيميائية والفيزيائية للمواد، حيث يقوم بالكشف عن المادة عندما تظهر الخاصية المميّزة لها، ثم يقوم بتكبير الإشارة وتحويلها إلى إشارة كهربائية يتم إرسالها إلى الحاسب الآلي.
- ومن أنواع المكشاف:
- Flame Ionization (FID)
- Electron Capture (ECD)
- Flame Photometric (FPD)
- Nitrogen Phosphorous (NPD)
- Thermal Conductivity (TCD)
- Mass Spectrometer (MS)

الأكاديمية العربية الدولية
Arab International Academy

تحليل الأغذية

❑ جهاز الكروماتوجرافيا الغازية GAS CHROMATOGRAPHY -GS-FID

- مكونات الجهاز وكيفية عمل كل جزء:
- تسجيل البيانات:
- عند الكشف عن وجود مُركّب ما يتم إرسال الإشارة من المكشاف إلى جهاز الحاسب الالي الذي يقوم بدوره بترجمة المعلومات التي تصل إليه إلى رسم بياني يسمَّى بـ (الكروماتوجرام- chromatogram)الذي نستطيع تحليله ومعرفة نوع المُركّبات منه بسهول

تحليل الأغذية

❑ جهاز قياس الطيف المرئي فوق البنفسجي UV-VIS-SPECTROPHOTOMETER

- يستخدم مقياس الطيف الضوئي للانبعاثات لتحليل القواعد المعدنية المختلفة مثل المعادن القاعدية Feو Coو Niو Tiو Cuو Alو Pbو Mgو Zn. وأيضاً فإن التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء يعتبر الطريقة الأكثر فعالية لقياس الطيف. وجهاز التحليل بالطيف يكون بتكلفة معقولة وتسمح هذه للعلماء والباحثين بإجراء تجارب بكميات كبيرة.
- يستخدم هذا النوع من الطيف من قبل العديد من المنظمات الزراعية والصيدلانية. بصرف النظر عن كونها فعالة من حيث التكلفة ، طريقة اللطيف اللوني موثوقة للغاية ودائمة ويمكن أن تستوعب عدة عينات. قياس الطيف بالأشعة تحت الحمراء لا يتعلق فقط بتغطية التحليل الكيميائي. بل و يساعد حتى في عملية معرفة التركيز للمواد والجزيئات. كما أنه يسهل الكيميائيين لتحقيق تفاعلات كيميائي بسهولة وتنتج نتائج دقيقة وكذا لدراسات المكونات الصيدلانية الفعالة للأدوية.
- وبالتالي ، يساهم مقياس الطيف الضوئي في توفير أدوات أساسية في مختلف مؤسسات البحث والتطوير والمختبرات الصناعية أو الطبية. هذه الطريقة موثوق بها للغاية ودائمة واقتصادية وتشمل التحليل ، الحركية ، مسح الطيف ومكوناته المتعددة ، حتى أنه يمكن إجراء كل اختبارات الحيوية لوظائف جسم الانسان الحيوية بكفاءة.

UV-1800
RAYLEIGH

تحليل الأغذية

❑ جهاز الترحيل الكهربائي GEL ELECTROPHORESIS

- هذا الجهاز يستخدم الهلام الكهربائي لفصل الجزيئات الكبيرة مثل الحمض النووي ، الحمض النووي DNA & RNA\ والبروتينات.

يتم فصل قطع الحمض النووي وفقا لحجمها.

المراجع

- https://yju.edu.ye/faculties/faculty_of_medical_sciences/medical-labs/laboratory-sections/%D9%85%D8%B9%D9%85%D9%84-%D8%A7%D9%84%D8%AA%D8%AD%D9%84%D9%8A%D9%84-%D8%A7%D9%84%D8%A2%D9%84%D9%8A/
- كتاب تحليل الأغذية / ا.د عبد الرحمن صالح الخليفة / د. عوض دفع الله حسن