الأكاديمية العربية الدولية

الأكاديمية العربية الدولية

المقررات الجامعية

www.aiacademy.info | care@aiacademy.info

تحليل الأغذية

تأليف
أ. د. عبدالرحمن صالح الخليفة
د. عوض دفع الله حسن

جامعة الملك سعود
النشر العلمي و المطابع

تحليل الأغذية

تأليف

الأستاذ الدكتور عبدالرحمن صالح الخليفة الدكتور عوض دفع الله

قسم علوم الأغذية والتغذية بكلية علوم الأغذية والزراعة

جامعة الملك سعود

النشر العلمي والمطابع - جامعة الملك سعود

ص.ب ٦٨٩٥٣ - الرياض ١١٥٣٧ - المملكة العربية السعودية

ⓒ جامعة الملك سعود، ١٤٣٠هـ (٢٠٠٩م)

فهرسة مكتبة الملك فهد الوطنية أثناء النشر

تحليل الأغذية: عبدالرحمن صالح الخليفة؛ عوض دفع الله.- الرياض، ١٤٢٩هـ.

٣٦١ ص؛ ١٧ ×٢٤سم.

ردمك: ١-٤٠٥-٥٥-٩٩٦٠-٩٧٨

١- الأغذية - تحليل أ. دفع الله، عوض (مؤلف مشارك) ب - العنوان

ديوي ٦٦٤,٠٧ ١٤٢٩/٦٤٨٠

رقم الإيداع: ١٤٢٩/٦٤٨٠

ردمك: ١-٤٠٥-٥٥-٩٩٦٠-٩٧٨

حكمت هذا الكتاب لجنة متخصصة، شكلها المجلس العلمي بالجامعة، وقد وافق المجلس العلمي على نشره، بعد اطلاعه على تقارير المحكمين - في اجتماعه الخامس عشر للعام الدراسي ١٤٢٨/١٤٢٩هـ المعقود بتاريخ ١٤٢٩/٤/٢٨هـ الموافق ٢٠٠٨/٥/٤م.

النشر العلمي والمطابع ١٤٣٠هـ

المقدمة

لإجراء أي بحث أو دراسة في مجال علوم وتكنولوجيا الأغذية سواء لقطاع التصنيع الغذائي أو للجهات الصحية الحكومية أو كجزء أساسي من نشاط الجامعات يستلزم الأمر تقدير تركيب الغذاء. وبمعرفة تركيب المادة الغذائية يمكن تقدير القيمة الغذائية، والتعرف على الصفات الوظيفية وضمان السلامة الصحية للمنتجات الغذائية. وعادة ما تملي طبيعة المادة الغذائية على المحلل اختيار الطريقة المناسبة للتحليل حيث أن نفس المكون تتغير طريقة تحليله تبعاً لطبيعة المادة الغذائية المراد تحليلها. ويعتمد نجاح أي تحليل لأي مكون من مكونات الغذاء على الاختيار المناسب لطريقة التحليل بحيث تتواءم مع طبيعة المنتج ثم إعداد العينة بالطريقة الصحيحة، وإجراء التحليل بعناية بواسطة متخصصين يدركون أهمية كل خطوة من خطوات التحليل، وفي النهاية تتم عملية حساب النتائج.

ولتحليل الأغذية دوراً رئيسياً في تحقيق رغبات المستهلك في الحصول على السلعة الغذائية المناسبة. فالمستهلك الواعي لا يتناول الغذاء إلا إذا توفرت لديه معلومات كافية عن تركيبه العام ومحتواه من الفيتامينات والعناصر المعدنية ومقدار سعراته الحرارية. لذلك أصبحت بطاقة المنتج (البطاقة الغذائية) ضرورة في أي منتج. وبطبيعة الحال فإن تلك المعلومات لن تتوفر إلا بالتحليل الكيميائي الدقيق للغذاء وعليه فإن شركات إنتاج الأغذية بدأت في المنافسة في منتجاتها لكي تفي بمتطلبات المستهلكين.

وتجدر الإشارة إلى أن هناك عوامل عديدة تؤثر على قيمة النتائج المتحصل عليها لذا فإن هناك اعتبارات خاصة بكل طريقة تحليل مثل درجة تخصصها، ودقتها، وحساسيتها، بالإضافة لدرجة التأكد من صحة النتائج.

لذا فإن هذا الكتاب يخرج ليسد فجوة في الكتاب الدراسي والمرجعية في مجال تحليل الأغذية لطلاب أقسام علوم الأغذية والتغذية والأقسام الأخرى ذات العلاقة وعموم العاملين في مجال صناعة الأغذية والمختبرات. أتمنى أن يكون هذا الكتاب إثراء للمكتبة العربية في مجال تحليل الأغذية.

والله من وراء القصد.

المؤلفان

قائمة المختصرات المعتمدة

الاختصار	الاسم الانجليزي	الاسم العربي
AACC	American Association of Cereal Chemists	الجمعية الأمريكية لكيمائي الحبوب
AAS	Atomic Absorption Spectroscopy	قياس طيف الامتصاص الذري
AC	Alternating Current	تيار متغير
ADP	Adinosine-5-diphosphate	أدينوسين ثنائي الفوسفات
AES	Atomic Emission Spectroscopy	قياس طيف الانبعاث الذري
AOAC	Association of Official Analytical Chemists	الجمعية الرسمية للمحللين الكيميائيين
AOCS	American Oil Chemists Society	الجمعية الأمريكية لكيميائي الزيوت
ATP	Adenosine-5-triphosphate	أدينوسين ثلاثي الفوسفات
BHA	Butylated Hydroxyanisole	ببتيلاتيد هيدروكسي انيسول
BHT	Butylated Hydroxytolune	بيتيلاتيد هيدروكسي تولولين
CI	Chemical Ionization	التأين الكيميائي
CI	Confidence interval	مستوى الثقة
CV	Coefficient of Variance	معامل التباين
DE	Degree of estrification	درجة الأسترة
ECD	Electron capture detector	كشاف مسك الإلكترونات

الاختصار	الاسم الانجليزي	الاسم العربي
EIA	Enzyme immunoassay	التحليل المناعي الإنزيمي
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay	التحليل بربط الإنزيم بالامتصاص المناعي
ERH	Equilibrium Relative Humidity	الرطوبة النسبية المتزنة
FAME	Fatty Acids Methyl Esters	أسترات ميثيل الأحماض الدهنية
FAO	Food and Agriculture Organization	هيئة الأغذية والزراعة
FDA	Food and Drug Administration	هيئة الأغذية والأدوية
FFA	Free Fatty Acid	الحامض الدهني الحر
FID	Flame Ionization Detector	كشاف التأين باللهب
FSIS	Food Safety and Inspection Service	خدمة سلامة وفحص الأغذية
GC	Gas Chromatography	كروماتو جرافيا الغاز
GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spectroscopy	كروماتو جرافيا الغاز –مقياس طيف الكتلة
GLC	Gas Liquid Chromatography	كروماتوجرافيا الغاز-السائل
GMP	Good Manufacturing Practice	الممارسة العملية السليمة
HACCP	Hazard Analysis Critical Control Points	تحليل مخاطر نقط التحكم الحرجة
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	كروماتو جرافيا السائل ذات الأداء العالي
IAs	Immunoassay	التحليلات المناعية
IFT	Institute of Food Technology	معهد تكنولوجيا الاغذية
IR	Infrared	الأشعة تحت الحمراء

الاختصار	الاسم الانجليزي	الاسم العربي
ISA	Ionic Strength Adjuster	ضابط القوة الأيونية
ISE	Ion Selective Electrode	الكترود انتقائى للأيونات
ISO	International Standardization Organization	المنظمة الدولية للتقييس
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives	اللجنة المشتركة لمنظمة الزراعة والأغذية ومنظمة الصحة العالمية للمضافات
KFR	Karl Fisher Reagent	دليل كارل فيشر
KHP	Potassium Acid Phthalate	فثلات البوتاسيوم الحامضية
mEq	Mill equivalent	ملليمكافئات
MHz	Mega Hertz	ميجاهيرتز
MS	Mass Spectroscopy	مطياف الكتلة
MW	Molecular Weight	الوزن الجزيئى
NMR	Nuclear Magnetic Resonance	التأرجح النووي المغناطيسي
SOI	Oil Stability Index	معامل ثبات الزيت
PAGE	Polacrylamide Gel Electrophoresis	الكتروفوريسس جل البولي أكريلاميد
pI	Isoelectric Point	نقطة التعادل الكهربي
ppb	Parts Per Billion	جزء من البليون
ppm	Parts Per Million	جزء من المليون
ppt	Parts Per Trillion	جزء من التريليون
RI	Refractive Index	معامل الانكسار
RIA	Radioimmunoassay	التحليل المناعي الإشعاعي

الاختصار	الاسم الانجليزي	الاسم العربي
SD	Standard Deviation	الانحراف المعياري
SDS	Sodium Dodecyl Sulphate	كبريتات دوديسيل الصوديوم
SE	Standard Error	الخطأ القياسي
SEC	Size Exclusion Chromatography	كروماتوجرافيا الإقصاء الحجمي
SEF	Solid Non Fat	المواد الصلبة اللادهنية
TBA	Thiobarbutric Acid	حامض الثيوباربيتوريك
TLC	Thin Layer Chromatography	كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة
TMC	Trimethylsillyl	ثلاثي ميثيل السلايل
TS	Total Solids	المواد الصلبة الكلية
TSS	Total Soluble Solids	المواد الصلبة الذائبة الكلية
USDA	United States Department of Agriculture	إدارة الزراعة الأمريكية
UV	Ultra Violet	الأشعة فوق البنفسجية
Vis	Visible	الأشعة المرئية
wwb	Wet Weight Basis	على أساس الوزن الرطب
AOM	Active Oxygen Method	طريقة الأكسجين النشط
ASE	Accelerated Solvent Extraction	الاستخلاص المتسرع بالمذيب
BCA	Bicinchoninic Acid	حامض البسنكوننك
BOD	Biochemical Demand	متطلبات الأكسجين الكيميو حيوي
BSA	Bovine Serum Albumin	مصالات الالبومين البقري
COD	Chemical Oxygen Demand	مطلبات الاكسجين الكيميائية
C-PER	Calculated protein efficiency ratio	نسبة كفاءة البروتين

الاختصار	الاسم الانجليزي	الاسم العربي
dwb	Dry weight basis	على أساس الوزن الجاف
EDTA	Ethlylenediaminetetraacetic Acid	الاثلين ثنائي الأمين رباعي حمض الخليك
EEC	European Economic Community	المجموعة الاقتصادية الأوروبية
FCC	Food Chemical Codex	مخطوطة كيماويات الأغذية
FPD	Flame Photometric Detector	كشاف اللهب الضوئي
IU	International Unit	وحدة دولية
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry	الإتحاد الدولي للكيمياء البحتة والتطبيقية
LC	Liquid Chromatography	الكروماتوجرافيا السائلة
LC-MS	Liquid Chromatography Mass Spectroscopy	الكروماتوجرافيا السائلة – مطياف الكتلة
NIR	Near Infra Red	الأشعة تحت الحمراء القريبة

المحتويات

المقدمة ..... هـ

قائمة المختصرات المعتمدة ..... ز

الفصل الأول

الطرق الإحصائية لتقييم البيانات التحليلية

(١,١) مدخل ١

(١,٢) تنظيم البيانات وتمثيلها بيانياً ١

(١,٣) مقياس النزعة المركزية ٢

(١,٤) المتوسط الحسابي ٢

(١,٥) الوسيط ٣

(١,٦) مستوى الثقة في التحليل ٤

(١,٧) التخصصية ٤

(١,٨) الدقة والتوافق ٥

(١,٩) الحساسية ١٧

(١,١٠) توفيق المنحنيات: الانحدار الخطي ١٨

(١,١١) الانحدار الخطي ١٨

(١,١٢) معامل الارتباط ٢١

(١,١٣) كتابة التقرير ٢٣
(١,١٤) الأرقام المعنوية ٢٣
(١,١٥) تقريب الأعداد ٢٤

الفصل الثاني

نظم سحب العينات وإعداد العينة لغرض التحليل

(٢,١) مقدمة ٢٧
(٢,٢) انتقاء طريقة سحب العينات ٢٧
(٢,٣) تعاريف الاتحاد الدولي للكيمياء البحتة والتطبيقية في مجال العينات ٢٩
(٢,٤) خطط أخذ العينات ٣٠
(٢,٥) خطط أخذ العينات بالصفات أو بالمتغيرات ٣٢
(٢,٦) مخاطر أخذ العينات ٣٤
(٢,٧) طرق أخذ العينات ٣٥
(٢,٧,١) المجتمعات المتجانسة وغير المتجانسة ٣٥
(٢,٧,٢) الطريقة اليدوية ٣٦
(أ) السارق ٣٦
(ب) المحاول ٣٨
(جـ) أنبوبة سحب العينات ٣٨
(د) بريمة أخذ العينات ٣٨
(هـ) سكين أخذ العينات (القاطع) ٣٨
(و) آلة الحفر ٣٨
(٢,٧,٣) الطريقة المستمرة ٣٩

(أ) المجزئ الأخدودي ٣٩
(ب) ساحب العينات الدائري ٣٩
(جـ) ساحب الخط المستقيم ٤٠
(٢,٧,٤) اعتبارات إحصائية ٤١
(أ) أخذ العينات عند عدم تساوي الاحتمالية ٤١
(ب) الطريقة الاجتهادية ٤١
(جـ) الطريقة الملائمة لأخذ العينات ٤٢
(د) طريقة أخذ العينات المقيدة ٤٢
(هـ) طريقة الكوتا ٤٢
(و) أخذ العينات عند تساوي الاحتمالية ٤٢
(٢,٧,٥) أخذ العينات بطريقة عشوائية ٤٢
(أ) المعاينة العشوائية البسيطة ٤٢
(ب) الطريقة العشوائية النظامية ٤٣
(جـ) الطريقة العشوائية الطبقية ٤٣
(د) العينة العشوائية العنقودية ٤٣
(هـ) الطريقة المركبة لأخذ العينات ٤٤
(٢,٨) إعداد العينات للتحليل ٤٤
(٢,٨,١) تصغير الحجم ٤٤
(٢,٩) حفظ العينة ٤٩
(٢,٩,١) تثبيط نشاط الإنزيمات ٥٠
(٢,٩,٢) التغيرات الكيماوية والفيزيوكيماوية ٥٠

(٢,٩,٣) التلوث الميكروبي ٥٠

الفصل الثالث

طرق قياس تركيز أيون الهيدروجين pH والحموضة المعايرة

(٣,١) مقدمة ٥٣
(٣,٢) حسابات تفاعلات التعادل ٥٤
(٣,٣) تفاعلات الحموضة والقلوية ٥٦
(٣,٤) تفاعلات الأكسدة / الاختزال ٥٦
(٣,٥) معادلات التعادل والتخفيف ٥٨
(٣,٦) توازن الحامض والقلوي ٥٩
(٣,٧) حساب الـ pH للكولا ٦١
(٣,٨) pH ٦١
(٣,٩) جهاز قياس الرقم الهيدروجيني ٦٣
(٣,٩,١) القواعد العامة لجهاز قياس الـ pH ٦٤
(٣,٩,٢) القطب المرجعي ٦٦
(٣,٩,٣) قطب الكالوميل المشبع ٦٦
(٣,٩,٤) القطب الكاشف ٦٨
(٣,٩,٥) تصميم القطب الزجاجي ٦٩
(٣,٩,٦) الأقطاب المدمجة ٦٩
(٣,٩,٧) إرشادات لاستخدام جهاز قياس الـ pH ٧٠
(٣,١٠) الحموضة المعايرة ٧١
(٣,١١) القدرة التنظيمية ٧١

(٣,١٢) المعايرة بقياس فرق الجهد..... ٧٥
(٣,١٣) الأدلة ٧٦
(٣,١٤) تحضير الكواشف..... ٧٨
(٣,١٤,١) القلوي القياسي..... ٧٨
(٣,١٤,٢) الحامض القياسي ٧٨
(٣,١٥) تحليل العينة ٧٩
(٣,١٦) محتوى الأغذية من الأحماض..... ٨٠

الفصل الرابع

تقدير الرطوبة والمواد الصلبة

(٤,١) مقدمة ٨٣
(٤,٢) خواص الماء في الأغذية ٨٤
(٤,٣) تحضير العينة ٨٧
(٤,٤) طرق تقدير الرطوبة ٨٨
(٤,٤,١) طرق التجفيف ٨٨
(أ) الأفران العادية..... ٩٠
(ب) أفران تحت التفريغ ٩٠
(جـ) أفران الميكروويف ٩٠
(د) الأشعة تحت الحمراء ٩٠
الاعتبارات التي يجب مراعاتها عند تقدير الرطوبة بطرق التجفيف..... ٩١
١- تحلل مكونات الغذاء الأخرى ٩١
٢- حجم العينة..... ٩١

٣- تجنب تكوين قشرة صلبة ٩٢
٤- الأطباق..... ٩٢
٥- العينات عالية الرطوبة..... ٩٢
٦- نوع الماء..... ٩٢
٧- المواد الطيارة ٩٢
٨- السكريات ٩٣
(٤,٤,٢) طرق التقطير ٩٣
(٤,٤,٣) طرق التفاعل الكيميائي ٩٥
(أ) طريقة كارل فيشر ٩٥
(ب) طريقة إنتاج الغاز ٩٦
(٤,٤,٤) الطرق الفيزيائية..... ٩٦
(أ) طريقة الثابت الكهربي ٩٧
(ب) قياس معامل التوصيل الكهربي ٩٧
(جـ) طرق تقدير الكثافة ٩٨
(د) طريقة الرفراكتوميتر..... ٩٨

الفصل الخامس

تحليل الرماد والعناصر المعدنية

(٥,١) مقدمة..... ١٠١
(٥,٢) تقدير محتوى الرماد..... ١٠٢
(٥,٢,١) إعداد العينة للتحليل ١٠٢
(٥,٢,٢) الترميد الجاف ١٠٣

(٥,٢,٣) الترميد الرطب ١٠٥
(٥,٢,٤) طريقة البلازما لتقدير الرماد على درجات حرارة منخفضة..... ١٠٦
(٥,٢,٥) طريقة الحرق بالميكروويف ١٠٧
(٥,٣) تقدير الرماد القابل للذوبان وغير القابل للذوبان..... ١٠٧
(٥,٤) الرماد غير الذائب في الأحماض ١٠٧
(٥,٥) قلوية الرماد ١٠٨
(٥,٦) مقارنة بين طرق الترميد المختلفة ١٠٨
(٥,٧) تحليل العناصر المعدنية ١٠٨
(٥,٧,١) تقدير العناصر المعدنية باستخدام جهاز قياس طيف الامتصاص
الذري أو جهاز طيف الانبعاث..... ١٠٩
(٥,٧,٢) تقدير العناصر المعدنية بتفاعلات الأكسدة والاختزال ١١٢
(٥,٧,٣) طريقة المعايرة بالترسيب..... ١١٤
(٥,٧,٤) الطرق اللونية لتقدير العناصر المعدنية ١١٤
(٥,٧,٥) تقدير العناصر بالإلكترودات الاختيارية للأيونات ١١٥

الفصل السادس

تحليل الكربوهيدرات

(٦,١) مقدمة..... ١١٩
(٦,٢) تصنيف الكربوهيدرات ١٢٠
(٦,٢,١) السكريات الأحادية ١٢٠
(٦,٢,٢) السكريات قليلة التسكر ١٢٠
(٦,٢,٣) السكريات عديدة التسكر..... ١٢٠

(٦,٣) تجهيز العينة ١٢٤
(٦,٤) استخلاص وتنقية المركبات الكربوهيدراتية ١٢٦
(٦,٥) طرق تقدير الكربوهيدرات ١٢٨
(٦,٥,١) الطرق الكيميائية ١٢٨
(٦,٥,٢) طرق المعايرة ١٢٩
(٦,٥,٣) الطرق الوزنية ١٣٠
(٦,٥,٤) الطرق اللونية ١٣٠
(أ) طريقة انثرون ١٣٠
(ب) طريقة الفينول – حمض الكبريتيك ١٣١
(٦,٥,٥) الطرق الإنزيمية ١٣١
(أ) الجلوكوز – الفركتوز ١٣٢
(ب) المالتوز – السكروز ١٣٢
(٦,٥,٦) الطرق الطبيعية ١٣٣
(أ) الاستقطاب (البولاريميتر) ١٣٣
(ب) معامل الانكسار ١٣٤
(جـ) الكثافة ١٣٤
(د) الأشعة تحت الحمراء ١٣٥
(٦,٥,٧) طريقة الإنزيمات المثبتة ١٣٥
(٦,٥,٨) طريقة التحليل المتخصصة للسكريات الأحادية وسكريات
الأوليجو ١٣٦
(أ) كروماتوجرافيا السائل ذات الضغط العالي ١٣٦

١- الأطوار (الأوساط) الثابتة ١٣٦
٢- كروماتوجرافيا الطور العادي..... ١٣٧
٣- كروماتوجرافيا التبادل الكاتيوني..... ١٣٨
٤- كروماتوجرافيا الطور العاكس..... ١٣٨
(ب) تحليل السكريات بكروماتوجرافيا الغاز ١٣٩
(٩,٥,٦) تحليل السكريات العديدة والألياف الغذائية..... ١٤٠
(أ) تحليل النشا..... ١٤١
١- تجهيز العينة ١٤٢
٢- طرق التحليل ١٤٣
٣- قياس درجة جلتنة النشا ١٤٤
(ب) المركبات غير النشوية كالصموغ والمركبات الغروية ١٤٤

الفصل السابع

الألياف الغذائية

(١,٧) مقدمة..... ١٤٧
(٢,٧) المركبات الرئيسية للألياف الغذائية..... ١٤٨
(١,٢,٧) السكريات المتعددة لجدار الخلية..... ١٤٨
(٢,٢,٧) السكريات المتعددة عبر جدار الخلايا..... ١٤٨
(٣,٢,٧) اللجنين ١٤٩
(٣,٧) الإجراءات الشائعة في تجهيز وتحليل العينة ١٤٩
(٤,٧) الطرق الوزنية..... ١٥٠
(١,٤,٧) طريقة الألياف الخام..... ١٥٠

(٧,٤,٢) طريقة الألياف الكلية الذائبة وغير الذائبة ١٥١
(٧,٥) الطرق الكيميائية ١٥١
(٧,٥,١) طريقة انجلست كمنجز ١٥٢

الفصل الثامن

تحليل الليبيدات

(٨,١) مقدمة..... ١٥٣
(٨,٢) اختيار وحفظ العينة ١٥٤
(٨,٣) تجهيز العينة ١٥٤
(٨,٣,١) معاملات ما قبل الاستخلاص..... ١٥٤
(أ) التجفيف ١٥٤
(ب) حجم الجزئيات ١٥٥
(جـ) التحليل الحامضي ١٥٥
(د) اختيار المذيب ١٥٥
(٨,٣,٢) الاستخلاص بالمذيب بشكل دفعات..... ١٥٦
(٨,٣,٣) طرق الاستخلاص بالمذيب بشكل مستمر ١٥٧
(٨,٣,٤) الاستخلاص بالمذيب بشكل متقطع ١٥٨
(أ) طريقة سوكسلت المثال الشائع للطريقة المتقطعة..... ١٥٨
(٨,٣,٥) الاستخلاص بالهضم..... ١٦٠
(٨,٣,٦) الاستخلاص بالمذيب بشكل سريع ١٦١
(٨,٣,٧) الاستخلاص بواسطة سائل تحت الظروف فوق الحرجة ١٦١
(٨,٣,٨) طرق الاستخلاص بغير المذيبات السائلة..... ١٦٢

(أ) طريقة بابكوك ١٦٢
(ب) طريقة جربر ١٦٤
(جـ) طريقة المنظفات ١٦٤
(د) الطرق الآلية ١٦٤
أولاً: قياس الخصائص الطبيعية ١٦٥
ثانياً: الموجات فوق الصوتية ١٦٥
(٨,٣,٩) قياس ادمصاص الأشعة ١٦٥
(أ) الأشعة المرئية - فوق البنفسجية ١٦٥
(ب) الأشعة تحت الحمراء ١٦٦
(جـ) الرنين المغناطيسي النووي ١٦٦
(د) امتصاص الأشعة السينية ١٦٦
(٨,٣,١٠) قياس تبعثر الأشعة ١٦٦
(أ) تبعثر الضوء ١٦٦
(ب) تبعثر فوق الصوتي ١٦٦
(٨,٤) مقارنة الطرق ١٦٧
(٨,٥) تقدير تركيب الليبيد ١٦٨
(٨,٥,١) المقدمة ١٦٨
(٨,٥,٢) تجهيز العينة ١٦٩
(٨,٥,٣) الفصل والتحليل بواسطة الكروماتوجرافيا ١٧٠
(٨,٥,٤) فصل الليبيدات بواسطة TLC ١٧١
(٨,٥,٥) استرات ميثيل الحمض الدهني بواسطة GC ١٧١

(٨,٥,٦) الطرق الكيميائية ١٧٢
الخواص الكيموفيزيائية ١٧٢
(أ) معامل الانكسار ١٧٢
(ب) رقم التصبن ١٧٣
(جـ) الأحماض الدهنية الحرة والرقم الحمضي ١٧٤
(د) الرقم اليودي ١٧٥
(هـ) رقم البروكسيد ١٧٧
(و) قيمة الأنسيدين والأكسدة الكلسية ١٧٨
(ز) اختيار حامض الثيوباربتيوريك ١٧٩

الفصل التاسع

تحليل البروتينات

(٩,١) مقدمة ١٨١
(٩,٢) أهمية التحليل ١٨٢
(٩,٣) تقدير تركيز البروتين الكلي ١٨٣
(٩,٣,١) طريقة كلداهل ١٨٤
(أ) المبادئ ١٨٤
(ب) الهضم ١٨٥
(جـ) التقطير (المعادلة) ١٨٥
(د) المعايرة ١٨٦
(هـ) معامل التحويل ١٨٦
(و) المميزات والعيوب ١٨٧

(٩,٣,٢) طريقة دوماس المحسنة ١٨٧
(أ) المبادئ الرئيسية..... ١٨٨
(ب) المميزات والعيوب ١٨٨
(٩,٣,٣) طرق استعمال الطيف المرئي - فوق البنفسجي ١٨٩
(٩,٣,٤) القياسي المباشر عند موجة ضوئية طولها ٢٨٠ نانومتر..... ١٨٩
(٩,٣,٥) طريقة بيوريت ١٩٠
(٩,٣,٦) طريقة لوري ١٩٠
(٩,٣,٧) طرق الارتباط بالصبغة..... ١٩١
(٩,٣,٨) طريقة قياس العكارة ١٩١
(أ) المميزات والعيوب..... ١٩١
(٩,٣,٩) التقنيات الآلية الأخرى..... ١٩٢
(أ) المبادئ ١٩٢
١- مقياس الخواص الطبيعية الكلية ١٩٢
٢- مقياس الأشعة الممتصة..... ١٩٣
٣- مقياس تبعثر الأشعة ١٩٣
(ب) المميزات والعيوب ١٩٤
(٩,٣,١٠) مقارنة الطرق..... ١٩٤
(٩,٤) فصل وتمثيل البروتين..... ١٩٦
(٩,٥) طرق تعتمد على صفات القابلية للذوبان المختلفة..... ١٩٧
(٩,٦) الترسيب بالأملاح ١٩٧
(٩,٧) الترسيب عند نقطة التعادل الكهربائي ١٩٨

(٩,٨) فصل البروتينات بالمذيبات ١٩٨
(٩,٩) الدنترة بالبروتينات الملوثة ١٩٩
(٩,١٠) الفصل بسبب خصائص الادمصاص المختلفة ١٩٩
(٩,١١) تحليل الأحماض الأمينية ٢٠٠
(٩,١١,١) كروماتوجرافي التبادل الأيوني ٢٠٠
(٩,١١,٢) كروماتوجرافيا الألفة ٢٠١
(٩,١٢) فصل البروتينات متباينة الأحجام ٢٠١
(٩,١٢,١) الديلسة ٢٠٢
(٩,١٢,٢) كروماتوجرافيا الفصل بالإقصاء الحجمي ٢٠٢
(٩,١٢,٣) فصل البروتينات بالهجرة في المجال الكهربائي ٢٠٣
(أ) إلكتروفوريسيس الدنترة ٢٠٣
(ب) فصل البروتينات عند نقطة تعادلها الكهربي ٢٠٥
(٩,١٣) تحليل الأحماض الأمينية ٢٠٦

الفصل العاشر

التحليل الطيفي

(١٠,١) مقدمة ٢٠٧
(١٠,٢) الضوء ٢٠٨
(١٠,٢,١) خصائص الضوء ٢٠٨
(١٠,٣) حالات الطاقة للمادة ٢١٣
(١٠,٣,١) الطبيعة الكمية للمادة ٢١٣
(١٠,٤) مستويات الطاقة الالكترونية والاهتزازية والدورانية ٢١٤

(١٠,٥) انتقالات مستويات الطاقة في التحليل الطيفي ٢١٧
(١٠,٥,١) امتصاص الأشعة ٢١٧
(١٠,٥,٢) انبعاث الأشعة ٢٢١

الفصل الحادي عشر

طرق التحليل الطيفي في المجال فوق البنفسجي والمرئي

(١١,١) مقدمة ٢٢٥
(١١,٢) طرق الامتصاص الطيفي في الـ (Uv-Vis) ٢٢٦
(١١,٢,١) أساسيات طرق الامتصاص الطيفي ٢٢٦
(١١,٣) الحيود عن قانون بيير ٢٣٣
(١١,٤) منحنى المعايرة القياسية ٢٣٨
(١١,٥) تأثير الخطأ غير المميز للأجهزة على قراءات الامتصاصية ٢٤١
(١١,٦) أجهزة الطيف الضوئي ٢٤٢
(١١,٦,١) تصميم الجهاز ٢٤٨
(١١,٦,٢) النظام آحادي الحزمة ٢٤٩
(١١,٦,٣) النظام ثنائي الحزمة ٢٤٩

الفصل الثاني عشر

الاستطياف الامتصاصي الذري والانبعاثي الذري

(١٢,١) مقدمة ٢٥٣
(١٢,٢) الأساس العلمي ٢٥٣
(١٢,٣) منشأ الطيف الذري ٢٥٤
(١٢,٤) التذرية (فصل العنصر إلى ذراته) ٢٥٦

(١٢,٥) استطياف الامتصاص الذري ٢٥٨
(١٢,٦) مبادئ الاستطياف الامتصاصي الذري بواسطة اللهب ٢٥٨
(١٢,٧) التركيب العام لأجهزة استطياف الامتصاص الذري ٢٦١
١- مصدر الإشعاع ٢٦٣
٢- المذرة ٢٦٤
٣- مفردة الضوء ٢٦٥
٤- الكاشف/ القارئة ٢٦٥
(١٢,٨) تطبيقات استطياف الامتصاص الذري ٢٦٦
١- الاستخدامات ٢٦٦
٢- اعتبارات عملية ٢٦٧
٣- المحاليل القياسية ٢٦٧
٤- الزجاجيات والبواتق ٢٦٧
(١٢,٩) طريقة التقدير ٢٦٧
(١٢,١٠) المعايرة ٢٦٨
(١٢,١١) التداخلات ٢٧٠

الفصل الثالث عشر

طرق الفصل الكروماتوجرافي

(١٣,١) مقدمة ٢٧١
(١٣,٢) مصطلحات وتعاريف ٢٧١
(١٣,٣) الاستخلاص ٢٧٢
(١٣,٣,١) الاستخلاص بطريقة الدفعات ٢٧٢

(١٣,٣,٢) طريقة الاستخلاص المستمر ٢٧٣
(١٣,٣,٣) الاستخلاص بطريقة التيار المعاكس ٢٧٣
(١٣,٤) مصطلحات عامة ٢٧٣
(١٣,٥) طرق التحليل الكروماتوجرافي ٢٧٤
(١٣,٥,١) التحليل الكروماتوجرافي في الطور السائل ٢٧٤
(١٣,٥,٢) كروماتوجرافيا الادمصاص ٢٧٤
(١٣,٥,٢,١) خطوات التحليل ٢٧٥
١- انتخاب المادة الحاملة الملائمة ٢٧٥
٢- تجهيز عمود الفصل ٢٧٥
٣- المذيب ٢٧٥
٤- الفصل ٢٧٥
٥- الإظهار ٢٧٧
٦- التعرف على المواد ٢٧٧
(١٣,٥,٣) كروماتوجرافيا التبادل الأيوني ٢٧٨
١- مواد تبادل كاتيونية قوية (شديدة الحموضة) ٢٧٩
٢- مجموعة السلفونيك ٢٨٠
٣- مواد تبادل أنيونية قوية (شديدة القلوية) ٢٨٠
٤- مواد تبادل أنيونية متوسطة (قلوية) ٢٨٠
(١٣,٥,٤) الكروماتوجرافيا الجيلية ٢٨٠
(١٣,٥,٥) كروماتوجرافيا الألفة ٢٨٢
(١٣,٥,٦) كروماتوجرافيا الفصل التجزيئي ٢٨٤

(١٣,٥,٧) التحليل الكروماتوجرافي بالورق ٢٨٤
١- الأدوات والأجهزة التي تستخدم في التحليل الكروماتوجرافي على الورقة ٢٨٥
٢- التقدير الكمي للمواد المنفصلة على الكروماتوجرام ٢٨٦
(١٣,٥,٨) التحليل الكروماتوجرافي بالطبقة الرقيقة ٢٨٧
(أ) طريقة العمل ٢٨٨
١- إعداد الألواح ٢٨٨
٢- إضافة العينة ٢٨٨
٣- الإظهار ٢٨٨
٤- التقدير الوصفي والكمي ٢٨٨
(١٣,٥,٩) التحليل الكروماتوجرافي التجزيئي عن طريق الأعمدة ٢٨٨
١- التحليل النوعي ٢٩٠
٢- كفاءة العمود الكروماتوجرافي ٢٩١
٣- التحليل الكمي ٢٩٣
٤- ارتفاع القمة مقابل مساحة القمة ٢٩٣
٥- القياس الخارجي مقابل الداخلي ٢٩٥
(١٣,٥,١٠) الكروماتوجرافيا الغازية ٢٩٧
١- نظام حقن العينة ٢٩٨
٢- أعمدة الفصل ٢٩٨
٣- الغاز الحامل ٣٠٠
٤- وحدة التسخين ٣٠٠
٥- الكاشف ٣٠٠
٦- كاشف التأين اللهبي ٣٠١

٧- كاشف التوصيل الحراري ٣٠٢
(١٣,٥,١١) الكروماتوجرافيا السائلة ذات الأداء العالي ٣٠٥
المراجع
أولاً: المراجع العربية ٣١١
ثانياً: المراجع الأجنبية ٣١١
ثبت المصطلحات
أولاً: عربي - إنجليزي ٣١٣
ثانياً: إنجليزي - عربي ٣٣٤
كشاف الموضوعات ٣٥٥

الفصل الأول

الطرق الإحصائية لتقييم البيانات التحليلية
Evaluatin of Analytical Data

(١,١) مدخل

إن مجال تحليل الأغذية، مثله مثل أي نوع آخر من أنواع التحليل، يستلزم كثيراً من الجهد والوقت في تعلم المبادئ والطرق واستخدام الأجهزة والتمكن من إتقان الأساليب التقنية المتنوعة. ومع أن هذه المجالات في غاية الأهمية، لكن معظم جهودنا ستضيع هباءً إذا لم تكن هناك طرقاً لتقييم البيانات المتحصل عليها من التجارب التحليلية المختلفة. وهناك عدة معالجات رياضية متاحة تعطي فكرة عن مدى تنفيذ تجارب معينة أو عن مدى مقدرتنا في إعادة نتائج تلك التجارب. ومن هذه المعالجات الرياضية سيكون التركيز على علم الإحصاء والذي يمكن تطبيقه على معظم الطرق التحليلية، وعلى كيفية تقييم التحاليل المكررة لنفس العينة فيما يتعلق بالدقة والتوافق فضلاً على تحديد التوافق الخطي الأفضل لبيانات المنحنيات القياسية.

(١,٢) تنظيم البيانات وتمثيلها بيانياً

عند تحليل البيانات الإحصائية العددية، سواء كانت منفصلة Discrete أو مستمرة Continuous فإنه بادئ ذي بدء يتم إيجاد تكرار كل قيمة ثم ترتيبها تصاعدياً أو

تنازلياً لتكوين ما يعرف بالجدول التكراري أو التوزيع التكراري Frequency Tables وبعد ذلك يمكن تمثيلها بيانياً بأحد الأشكال الأربعة التالية:

١- المدرج التكراري Frequency Histogram.

٢- المضلع التكراري Frequency Polygon.

٣- لوحة العمود التكراري Frequency Bar Chart.

٤- المنحنى التكراري Frequency Curve.

ويتم في العادة تكوين الجدول التكراري بترتيب المشاهدات تصاعدياً ابتداءً من الأصغر وانتهاءً بالأكبر، بعد ذلك يتم حساب المدى Range والذي هو عبارة عن الفرق بين أكبر وأصغر مشاهدة.

(١,٣) مقاييس النزعة المركزية Measures of Central Tendency

تستخدم هذه المقاييس لتحديد القيمة الأكثر تمثيلاً لمجموعة من البيانات والتي تتجمع أو تتمركز معظم القيم حولها. وتسمى هذه القيمة عادة بالقيمة المتوسطة. ومن المقاييس التي تستعمل لحساب هذه القيمة:

(١,٤) المتوسط الحسابي The Arithmetic Mean

لزيادة الدقة والتوافق يكرر تحليل العينة عدة مرات ومع أن عدد هذه المرات يختلف بين مختبر ومختبر، إلا أن أقل عدد يجب أن يكون هو ثلاثة مرات. ولأننا عادة لا نكون متأكدين من أي القيم الناتجة هي الأقرب للقيمة الحقيقية، فإننا نقوم باستخراج المتوسط الحسابي (أو القيمة الوسط) باستخدام كل القيم المتحصل عليها ونسجل فقط قيمة المتوسط الحسابي في التقرير. يرمز إلى المتوسط الحسابي بالرمز "س-" (تقرأ سين عليها شرطة) ويحسب وفقاً للمعادلة التالية:

$$\bar{س} = \frac{س_1 + س_2 + س_3 + \ldots\ldots + س_ن}{ن} = \frac{\Sigma س}{ن} \quad (١)$$

حيث:

$\bar{س}$ = المتوسط الحسابي

$س_1$، $س_2$، ... الخ = المفردات الإحصائية (المشاهدات)

ن = عدد المفردات

Σ = المجموع الجبري للمفردات (تقرأ سيجما)

وكمثال، لنفترض أننا قمنا بتقدير محتوى الرطوبة في قطعة همبرغر غير مطبوخة، أربع مرات وتحصلنا على النتائج التالية: ٦٤,٥٣٪، ٦٤,٤٥٪، ٦٥,١٠٪، ٦٤,٧٨٪.

$$\bar{س} = \frac{٦٤,٥٣ + ٦٤,٤٥ + ٦٥,١٠ + ٦٤,٧٨}{٤} = ٦٤,٧٢٪$$

وهكذا تكتب النتيجة في التقرير "٦٤,٧٢٪ محتوى الرطوبة" وحين نسجل المتوسط الحسابي كنتيجة في التقرير فنحن نشير إلى أن هذه القيمة هي أفضل تقديرات التجربة، ونحن هنا لا نتكلم عن مدى حقيقة أو دقة هذه القيمة، فبعض القيم الفردية قد تكون أقرب إلى القيمة الحقيقية ولكن ولأنه لا سبيل إلى معرفة هذا فإننا نسجل فقط قيمة المتوسط الحسابي.

(١,٥) الوسيط The Medium

هناك مقياس آخر يمكن استخدامه وهو "الوسيط The Medium" وهو عبارة عن القيمة الوسط بين مجموعة من البيانات. وكقاعدة فإن نصف القيم التجريبية ستكون

أقل من قيمة الوسيط والنصف الآخر أعلى من قيمة الوسيط. ولكن هذا المقياس – الوسيط – لا يستخدم كثيراً لتفوق المتوسط الحسابي عليه كمُقَدِّر إحصائي ممتاز.

(١,٦) مستوى الثقة في التحليل Reliability of Analysis

عودة إلى مثالنا السابق، تذكر أننا تحصلنا على متوسط حسابي لمحتوى الرطوبة، ولكن ليست هناك إشارة إلى مدى تكرر الاختبارات أو مدى قرب نتائجنا من القيمة الحقيقية. لا شك أن مستوى الثقة في التحليل Reliability of analysis أو بمعنى آخر اتساق النتائج التحليلية يختلف تبعاً لعوامل محددة تؤثر بدورها على دقة وتكرارية (أي جودة) النتائج المتحصل عليها؛ ويمكن القول بأن ذلك يتضمن أربعة عوامل رئيسية، هي:

١- التخصصية Specificity

٢- الدقة Accuracy

٣- التوافق Precision

٤- الحساسية Sensitivity

(١,٧) التخصصية Specificity

يقصد بالتخصصية أن تكون حساسية طريقة التحليل المتبعة مقصورة على المكون الذي يتم تقديره فقط؛ وفي حالات معينة يسمح بحدوث تداخلات لبعض المكونات الأخرى ولكن بدرجة ضئيلة جداً ويمكن تحييد هذا التداخل عن طريق إجراء تجربة تقدير ضابطة (بلانك Blank) تحت نفس الظروف التي يتم عندها قياس العينة ولكن مع استبدال كمية العينة بالماء المقطر، ويتم طرح قيمة البلانك من قيمة العينة وبهذا يمكن تحييد التداخل.

(١,٨) الدقة والتوافق Accuracy and Precision

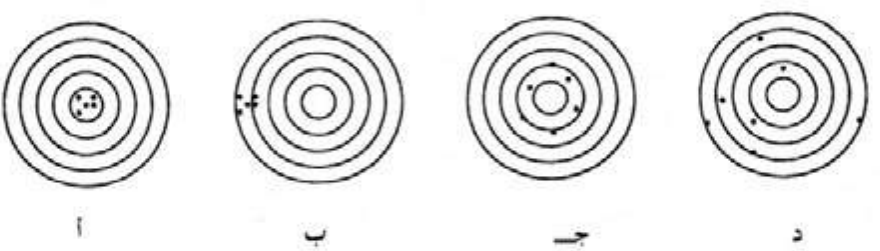
إن واحدة من أكثر المسائل المربكة للطلاب في مجال تحليل البيانات هي إدراك مفاهيم الدقة والتوافق. وكثيراً ما يستخدم هذين المصطلحين أحدهما مكان الآخر، مما يزيد من تلك الربكة وذلك الخلط لدى الطلاب . أما إذا تأملنا في الغرض الذي من أجله أجرينا هذا التحليل فسوف تتضح معاني هذين المصطلحين كثيراً.

عند إجراء التجارب نتحصل أولاً على النتائج الأولية الفردية ثم منها نتحصل على المتوسط الحسابي (س ̄)، والسؤال يجب أن يكون كالآتي: هل كانت قياساتنا الفردية متقاربة؟ وهل هي قريبة من القيمة الحقيقية؟ هذين السؤالين يشتملان على مفهوم الدقة والتوافق. والآن سنحاول شرح مفهوم هذين المصطلحين بتوسع أكثر.

يدل مصطلح الدقة Accuracy على مدى تقارب قياس معين إلى القيمة الحقيقية أو بمعنى آخر فإن دقة الظروف التحليلية تعني مدى التطابق بين متوسط قيم تقدير مكون ما في مادة غذائية ما والنسبة الفعلية لهذا المكون في تلك المادة. وفي مثال تقدير رطوبة عينات الهمبرغر لنتذكر أننا تحصلنا على متوسط حسابي يساوي ٦٤,٧٢٪. ولنفترض أن قيمة الرطوبة الحقيقية لتلك العينة من الهمبرغر تساوي ٦٥,٠٥٪؛ وبمقارنة هذين الرقمين فقد تستنتج ظاهراً أن نتائجك على درجة عالية من الصحة لأنها قريبة جداً من القيمة الحقيقية.

تكمن المشكلة في تحديد الدقة أننا نكون في معظم الأوقات غير متأكدين من القيمة الحقيقية بالنسبة لأنواع معينة من المواد يمكننا شراء عينات معروفة من هيئة المواصفات القياسية ثم مقارنة نتائجنا مع هذه العينات وبهذه الطريقة فقط سوف نتعرف على مدى دقة طرق التحليل التي نتبعها. وهناك طريقة أخرى وهي مقارنة نتائجنا مع نتائج مختبرات أخرى بافتراض أن نتائج تلك المختبرات مضبوطة ودقيقة.

أما المصطلح الآخر الذي يسهل تحديده أكثر من مصطلح الدقة فهو مصطلح التوافق Precision. وهذا المصطلح هو مقياس لمدى تقارب القياسات المكررة بعضها البعض. فإذا نتج عن الاختبارات المتكررة نتائج متشابهة فسوف نستنتج أن هذه النتائج متوافقة. ومن وجهة نظر إحصائية بحتة فيطلق على مصطلح التوافق اسم "الخطأ الإحصائي" عندما نتحدث عن "التباين" أو "التغيرات" في التجربة؛ لذلك فإن مفاهيم "التوافق" و "التباين" و "الخطأ" مرتبطة ببعضها ارتباطاً وثيقاً. يمكن توضيح الفرق بين التوافق والدقة بالشكل التالي:



الشكل رقم (١,١). مقارنة التوافق بالدقة (أ) توافق جيد ودقة جيدة؛ (ب) توافق جيد ودقة منخفضة؛ (جـ) توافق منخفض ودقة جيدة؛ (د) توافق منخفض ودقة منخفضة.

تخيل أنك تستخدم مسدساً في التصويب على هدف يمثل قيم التجربة. ويمثل "قلب الرمية" القيمة الحقيقية أما الأهداف التي تصيبها الرصاصات فتمثل القيم الفردية للتجربة. وكما نرى في الشكل (أ) فقد تكون القيم قريبة من بعضها بدرجة كبيرة (توافق جيد) وقريبة من "قلب الرمية" (دقة جيدة) وقد تكون هناك حالات يكون التوافق فيها جيداً لكن الدقة منخفضة (ب)؛ أما أسوأ الحالات فهي عندما تكون الدقة والتوافق جميعها منخفضة (د) وفي هذه الحالة يصعب تفسير النتائج. وتنتج هذه الحالة بسبب الأخطاء أو التباين في التحاليل.

عند تقييمنا للبيانات، هناك عدة اختبارات تستخدم عادة لإعطاء فكرة عن مدى تغير قيم التجربة عند تكرار الاختبار (مؤشرات التوافق). وهناك طريقة سهلة لرصد التغيرات أو التشتت وهي أن نحدد مدى Range قيم التجربة. والمدى هو عبارة عن الفرق بين أكبر وأصغر مشاهدة. ولكن هذا المقياس (المدى) ليس بذي فائدة كبيرة ولذلك فلا يستخدم كثيراً في تقييم البيانات.

إن أفضل قياس، على الأرجح، لتقييم التوافق في البيانات التحليلية هو الانحراف المعياري Standard Deviation. ويقيس الانحراف المعياري مدى انتشار قيم التجربة ويعطي فكرة جيدة عن تقارب القيم لبعضها البعض. عند تقييم مقياس الانحراف المعياري يجب أن نتذكر دائماً أننا لا نستطيع أبداً أن نقوم بتحليل كامل المادة الغذائية. إن هذا سيكون صعباً، إن لم يكن مستحيلاً، ومضيعة للوقت. لذا فإن الحسابات التي نستخدمها هي فقط تقديرات للقيمة الحقيقية المجهولة.

في حالة المجتمع Population (عندما يكون عدد المشاهدات أكثر من ١٢٠) نرمز للانحراف المعياري بالحرف اللاتيني سيجما (δ) ويحسب وفقاً للمعادلة رقم (٢) بافتراض أن كل المادة الغذائية قد تم تحليلها:

$$\delta = \sqrt{\frac{\Sigma (س - \mu)^2}{ن}} \qquad (٢)$$

حيث إن:

δ = الانحراف المعياري للمجتمع

س = القيم الفردية للعينة

μ = المتوسط الحسابي الحقيقي

ن = العدد الكلي لعينات المجتمع

Σ = المجموع الجبري لمربع الفرق بين القيم الفردية والمتوسط الحسابي

ولأننا لا نعلم قيمة المتوسط الحسابي الحقيقية فسنلجأ إلى تبسيط هذه المعادلة حتى نستطيع استخدامها مع البيانات الحقيقية. وفي هذه الحالة سنطلق على مصطلح "سيقما δ" مصطلح الانحراف المعياري للعينة ونرمز له ب "SD" ويحسب وفقاً للمعادلة رقم "٣" حيث تحل "س̄" محل "μ" (المتوسط الحسابي الحقيقي) وتمثل "ن" عدد العينات المسحوبة من المجتمع:

$$SD = \sqrt{\frac{\Sigma (س - \bar{س})^2}{ن}} \qquad (٣)$$

إذا كان عدد التقديرات المكررة صغير (حوالي أو أقل من ٣٠)، وهذا شائع في معظم التجارب، تستبدل "ن" بالتعبير "ن-١) وتستخدم المعادلة رقم "٤" بدلاً عن رقم "٣":-

$$SD = \sqrt{\frac{\Sigma (س - \bar{س})^2}{ن - ١}} \qquad (٤)$$

كما تستخدم هذه المعادلة أيضاً في حالة تقدير الانحراف المعياري للمجموعات. واعتماداً على أي من المعادلات السابقة التي تستخدم فيمكن التعبير عن الانحراف المعياري في التقرير كـ SD_n أو δ_n أو SD_{n-1} أو δ_{n-1}. ويوضح الجدول رقم (١,١) مثالاً لتقدير الانحراف المعياري.

الجدول رقم (١,١). تقدير الانحراف المعياري لنسبة الرطوبة في عينات الهمبرغر النيئة.

القياس	الرطوبة ٪	الفرق من المتوسط الحسابي $س - \bar{س}$	$(س - \bar{س})^2$
١	٦٤,٥٣	٠,١٩ -	٠,٠٣٦١
٢	٦٤,٤٥	٠,٢٧ -	٠,٠٧٢٩
٣	٦٥,١٠	٠,٣٨ +	٠,١٤٤٤
٤	٦٤,٧٨	٠,٠٦ +	٠,٠٠٣٦
	$\Sigma س = ٢٥٨,٨٦$		$\Sigma(س-\bar{س})^2 = ٠,٢٥٧$

$$\bar{س} = \frac{\Sigma س}{ن} = \frac{٢٥٨,٨٦}{٤} = ٦٤,٧٢$$

$$SD = \sqrt{\frac{\Sigma (س - \bar{س})^2}{ن - ١}} = \sqrt{\frac{٠,٢٥٧}{٣}} = ٠,٢٩٢٧$$

ويعبر عن النتائج التحليلية كما يلي:

متوسط الرطوبة لعينات الهمبرغر = ٦٤,٧٢ ± ٠,٢٩٣

أي أن التقدير = المتوسط ± قيمة الانحراف القياسي

وبعد أن تحصلنا على المتوسط الحسابي والانحراف المعياري فعلينا بعدها أن نحاول تفسير هذه الأرقام. هناك طريقة بسيطة لتصور الانحراف المعياري وهو حساب ما يعرف بمعامل التباين أو معامل الاختلاف Coefficient of Variation أو اختصاراً CV وهو أيضاً يعرف بمصطلح "الانحراف المعياري النسبي Relative

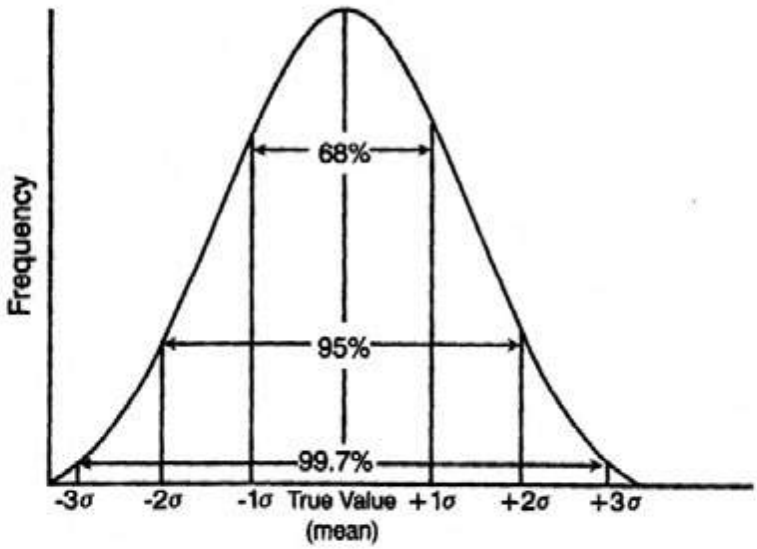
Standard Deviation" ويمكن توضيح ذلك بالمعادلات الحسابية التالية والمطبقة على عينات الهمبرغر

$$\text{معامل الاختلاف CV} = \frac{SD}{\bar{س}} \times ١٠٠ \qquad (٥)$$

$$CV = \frac{٠,٢٩٣}{٦٤,٧٢} \times ١٠٠ = ٠,٤٥٣٪$$

ونستنتج من هذا أن الانحراف المعياري في هذا المثال يمثل فقط ٠,٤٥٣٪ من المتوسط الحسابي، وهو رقم صغير يشير إلى مستوى عالي من التوافق للمكررات. وكقاعدة عامة فإن معامل الاختلاف CV إذا كان أقل من ٥٪ تعتبر النتيجة مقبولة، مع ملاحظة أنها تعتمد على نوعية التحليل.

وهناك طريقة أخرى لتقييم معنى مصطلح الانحراف المعياري وهي معرفة أصله في النظرية الإحصائية. إن معظم المجتمعات Populations التي توجد في الطبيعة (في حالتنا هذه هي قيم عينات الهمبرغر أو متوسطاتها الحسابية) يكون لها توزيع طبيعي Normal Distribution وأمثلة ذلك دراسة الظواهر والأمور التي تحدث بصورة طبيعية كأوزان الناس وأطوالهم وأطوال عرانيس الذرة وما إلى ذلك وكل هذه تعطي توزيعاً في صورة منحنى له شكل الناقوس Bell-shaped. وإذا ما قمنا بقياس عدد لا نهائي من العينات فستتحصل على توزيع يشبه الموجود في الشكل رقم (١,٢):



الشكل رقم (١,٢). منحنى توزيع طبيعي لمجتمع ما أو لمجموعة من التحاليل

في المجتمعات ذات التوزيع الطبيعي تقع ٦٨٪ من تلك القيم في حدود ±١ انحراف معياري (± انحراف معياري واحد) من الوسط الحسابي؛ ٩٥٪ تقع في حدود ±٢σ و ٩٩,٧٪ في حدود ±٣σ (انظر الشكل رقم ١,٢)؛ بمعنى آخر فهناك احتمالية أقل من ١٪ أن تقع عينة في ذلك المجتمع خارج ±٣ انحرافات معيارية من قيمة الوسط الحسابي.

هناك طريقة أخرى لفهم منحنى التوزيع الطبيعي وهي أن نتذكر أن احتمالية إيجاد المتوسط الحسابي الحقيقي تقع في حدود فترات ثقة Confidence Intervals معينة كما يبينها الانحراف المعياري. إذا كان عدد العينات كبيراً فيمكننا تحديد فترة الثقة حول المتوسط الحسابي باستخدام المَعْلَمْ الإحصائي المسمى "القيمة Z". ولحساب هذه القيمة ننظر أولاً في جداول إحصائية عن قيمة Z بعد أن نقرر درجة الثقة المطلوبة. والجدول التالي يوضح بعض قيمة Z:

الجدول رقم (١,٢). بعض قيم z لاختبار المستويات العليا والدنيا جميعاً.

درجة الثقة	قيمة z
٪٨٠	١,٢٩
٪٩٠	١,٦٤
٪٩٥	١,٩٦
٪٩٩	٢,٥٨
٪٩٩,٩	٣,٢٩

ويحسب حد الثقة لبيانات الهمبرغر، بافتراض درجة ثقة تساوي ٩٥٪، وفقاً للمعادلة التالية:

$$\text{حد الثقة} = \bar{س} \pm Z \times \frac{SD}{\sqrt{ن}} \qquad (٦)$$

ونظراً لأن الحسابات لا تصلح إذا كان عدد العينات صغيراً فسوف نفترض أن عدد عيناتنا هو ٢٥ بدلاً عن أربعة عينات ففي هذه الحالة يكون حد الثقة (بدرجة ثقة = ٩٥٪) هو:

$$\text{حد الثقة} = ٦٤,٧٢ \pm ١,٩٦ \times \frac{٠,٢٩٢٧}{\sqrt{٢٥}} = ٦٤,٧٢ \pm ٠,١١٥٪$$

ولأن عدد العينات في مثالنا هو أربعة فقط يجب هنا حساب حدود الثقة باستخدام الجداول الإحصائية لاختبار الطالب (t-test). وفي هذه الحالة يجب أن نراجع قيمة "t" من الجداول الخاصة بها على أساس درجة الحرية المحسوبة degree of freedom

والتي تساوي عدد العينات مطروحاً منها واحد (ن – ١) مع معرفة مستوى الثقة المطلوبة. ولحساب حد الثقة لعينات الهمبرغر الأربعة مع ٣ درجات حرية (٤ – ١):

$$\text{حد الثقة} = \bar{س} \pm \text{قيمة } t \times \frac{SD}{\sqrt{ن}} \qquad (٧)$$

$$\text{حد الثقة (٩٥٪ مستوى ثقة)} = ٦٤,٧٢ \pm ٣,١٨ \times \frac{٠,٢٩٢٧}{\sqrt{٢٥}} = ٦٤,٧٢ \pm ٠,٤٦٥٪$$

ولتفسير هذه الأرقام يمكننا القول بأنه مع درجة ثقة ٩٥٪ فإن متوسط نسبة الرطوبة الحقيقي يقع في حدود ٦٤,٧٢ ± ٠,٤٦٥٪ أو يقع بين ٦٥,١٨٥٪ و٦٤,٢٥٥٪.

الجدول رقم (١,٣). قيم "t" لدرجات الثقة المختلفة.

درجات الحرية	درجة الثقة		
(ن–١)	٩٥٪	٩٩٪	٩٩,٩٪
١	١٢,٧٠	٦٣,٧٠	٦٣,٦٠
٢	٤,٣٠	٩,٦٣	١٣,٦٠
٣	٣,١٨	٥,٨٤	١٢,٩٠
٤	٢,٧٨	٤,٦٠	٨,٦١
٥	٢,٥٧	٤,٠٣	٦,٨٦
٦	٢,٤٥	٣,٧١	٥,٩٦
٧	٢,٣٦	٣,٥٠	٥,٤٠
٨	٢,٣١	٣,٥٦	٥,٠٤
٩	٢,٢٦	٣,٢٥	٤,٧٨
١٠	٢,٢٣	٣,١٧	٤,٥٩

$$\frac{SD}{\sqrt{n}}$$

يُعرَّف التعبير $\frac{SD}{\sqrt{n}}$ عادة بـ "الخطأ المعياري للمتوسط الحسابي" أو الخطأ القياسي Standard Error (SE).

ومن اختبارات التوافق السريعة الأخرى "الانحراف النسبي عن المتوسط الحسابي Relative Deviation from the Mean" ومتوسط الانحراف النسبي عن المتوسط الحسابي Relative Average Deviation from the Mean"". ويفيد الانحراف النسبي عن المتوسط الحسابي في حالة عمل مكررين فقط، ويحسب وفقاً للمعادلة رقم (٨) وتكون النتيجة مقبولة إذا كانت قيمة الانحراف النسبي عن المتوسط الحسابي أقل من ٢٪.

$$\text{الانحراف النسبي عن المتوسط الحسابي} = \frac{س - \bar{س}}{\bar{س}} \times ١٠٠ \qquad (٨)$$

حيث:

س = تمثل القيم الفردية للعينات

$\bar{س}$ = المتوسط الحسابي

أما إذا كان هناك أكثر من مكررين فيكون المَعْلَمْ الآخر (متوسط الانحراف النسبي عن المتوسط الحسابي) أكثر فائدة في توضيح التوافق، ويحسب مثل الانحراف النسبي عن المتوسط الحسابي غير أننا هنا نستخدم متوسط الانحرافات بدلاً عن الانحرافات الفردية، ويحسب وفقاً للمعادلة رقم (٩):

$$\text{متوسط الانحراف النسبي عن المتوسط الحسابي (جزء من الألف)} = \frac{\Sigma \left| س - \bar{س} \right|}{ن \div \bar{س}} \times ١٠٠٠ \qquad (٩)$$

وتكون النتيجة بالجزء من الألف (Parts per thousands) وإذا قمنا بتطبيق هذه المعادلة على عينات الرطوبة في الهمبرغر فيصبح التعبير (س-س̄) لكل تقدير: - ٠,١٩، - ٠,٢٧، + ٠,٣٨ و + ٠,٠٦ وتكون الحسابات كالتالي:

$$\text{متوسط الانحراف النسبي} = \frac{٠,٠٦ + ٠,٣٨ + ٠,٢٧ + ٠,١٩}{٤ \div ٦٤,٧٢} \times ١٠٠٠$$

$$= \frac{٠,٢٢٥}{٦٤,٧٢} \times ١٠٠ = ٣,٤٧ \text{ جزء من الألف}$$

حتى هذه اللحظة شمل النقاش عن الحسابات طرق تقييم التوافق Precision. وإذا كانت القيمة الحقيقية مجهولة فلا خيار لنا إلا حساب الإتقان ولكن أحياناً تكون لدينا عينات معلومة القيمة الحقيقية وبذلك يمكننا مقارنة نتائجنا مع هذه القيمة الحقيقية وفي هذه الحالة يمكننا حساب الخطأ في اختبارنا ومقارنته مع القيمة الحقيقية وتقدير مدى الدقة Accuracy. وأحد المصطلحات التي يمكننا حسابها هو "الخطأ المطلق Absolute error" وهو ببساطة يساوي الفرق بين القيمة المتحصلة من التجربة والقيمة الحقيقية:

$$\text{الخطأ المطلق} = E_{abs} = \text{س} - \text{ق} \qquad (١٠)$$

حيث:

س = القيمة المتحصلة من التجربة.

ق = القيمة الحقيقية.

قد يأخذ مصطلح "الخطأ المطلق" قيمة موجبة أو سالبة إذا كانت القيمة المتحصلة من التجربة أتت من عدة مكررات حينما تأخذ "س" قيمة المتوسط الحسابي لهذه المكررات. ولكن هذه الحسابات ليست اختباراً جيداً للخطأ لأن القيمة لا تمت بصلة لمقدار القيمة الحقيقية. والمقياس الأكثر فائدة للخطأ هو "الخطأ النسبي Relative error" والذي تعبر عنه المعادلة رقم (١١):

$$\text{الخطأ النسبي} = E_{rel} = \frac{E_{abs}}{ق} = \frac{س - ق}{ق} \qquad (١١)$$

وتكتب النتائج كقيمة موجبة أو سالبة وهي تمثل جزءاً من القيمة الحقيقية.

كما يمكن التعبير عن الخطأ النسبي كنسبة مئوية وذلك بضرب النتيجة في ١٠٠٪:

$$٪E_{rel} = \frac{E_{abs}}{t} \times ١٠٠ = \frac{س - ق}{ق} \times ١٠٠٪ \qquad (١٢)$$

حيث تأخذ "س" قيمة فردية أو متوسط قيم عدة.

وبالنسبة لعينات الهمبرغر السابقة، لنفترض أن القيمة الحقيقية لنسبة الرطوبة هي ٦٥,٠٥٪ فيحسب الخطأ النسبي كنسبة مئوية باستخدام المتوسط الحسابي للرطوبة ٦٤,٧٢٪ والمعادلة رقم (١٢):

$$\text{الخطأ النسبي (٪)} = \frac{٦٤,٧٢ - ٦٥,٠٥}{٦٥,٠٥} \times ١٠٠ = -٠,٥٠٧٪$$

لاحظ العلاقة السابقة للنتيجة والتي تعني أن القيمة الناتجة تقل بمقدار ٠,٥٠٧٪ عن القيمة الحقيقية.

أيضاً يستخدم تعبير الخطأ المحتمل Probable Error "Γ" لحساب درجة التوافق ويمكن حساب "Γ" من المعادلة التالية:

$$\Gamma = 0.6745 \left(\frac{\Sigma dx^2}{n-1} \right)^{\frac{1}{2}}$$

وتوجد صيغة أخرى لحساب الخطأ المحتمل وتعرف بصيغة بيتر كما يلي:

$$\Gamma = 0.6745 \Sigma [dx]$$

حيث:

dx = التغير في قيمة كل مكررة عن المتوسط

n = عدد وحدات العينة

(١,٩) الحساسية Sensitivity

يقصد بحساسية الطريقة التحليلية المستخدمة في تقدير مكون ما بأنها النسبة بين درجة الاستجابة للطريقة وكمية المكون الذي يتم تقديره، ويمكن التعبير عن الحساسية بأنه أقل فرق يمكن قياسه بين عينتين. ولا شكل أن هذا الفرق يصبح ذا معنى إذا ما زاد عن قيمة الاختلاف للطريقة المستخدمة. ويراعى في الطرق الآلية Automated Methods ضرورة أن تكون النسبة بين الإشارة Signal إلى الضوضاء Noise ١:٢ على الأقل. ويمكن زيادة حساسية الطرق التحليلية بطريقتين هما:

١- عن طريق زيادة الاستجابة Response لكل وحدة عينة يتم تحليلها كأن يتم استخدام جواهر لونية ذات قيم امتصاصية عالية في طرق التقدير اللوني أو استخدام جواهر عضوية لها أوزان جزيئية عالية في التقديرات الوزنية.

٢- تحسين قوة الضبط Discriminatory Power للجهاز كأن تستخدم الموازين التحليلية الدقيقة في الطرق الوزنية أو يتم استخدام مكبرات ضوئية عديدة photomultiplier ذات قوة تكبير عالية في الطرق الاسبكتروفوتومترية.

(١,١٠) توفيق المنحنيات: الانحدار الخطي Curve Fitting: Regression

توفيق المنحنيات هو مصطلح نُحْدث يستخدم لوصف العلاقة بين متغيرين اثنين؛ ومعظم الحقول العلمية تستخدم طرق توفيق المنحنيات لتقييم العلاقة بين متغيرين وفي مجال تحليل الأغذية يهمنا من هذه الطرق فقط: المنحنى القياسي أو خط الانحدار.

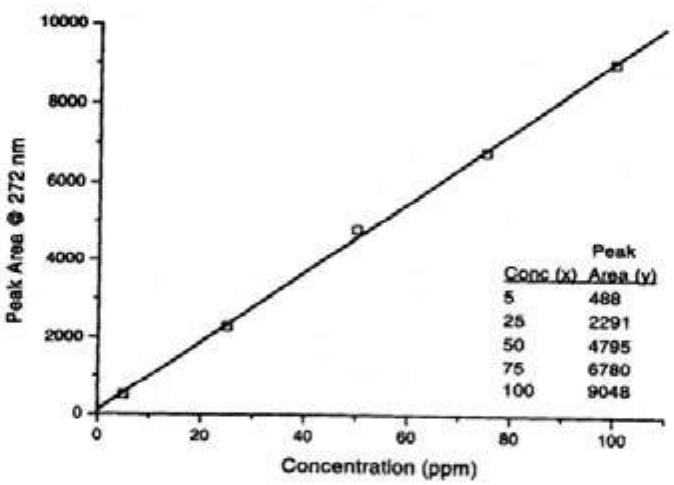
ويستخدم المنحنى القياسي أو المعياري لتقدير تركيزات مجهولة تأسيساً على استجابة محددة متناسبة مع كمية معروفة من مادة قياسية. وتشمل هذه الطريقة عمل مجموعة من المواد القياسية المعروفة في تركيزات مطردة ومن ثم تسجيل معلم التحليل المعين (مثلاً الامتصاصية أو المساحة تحت منحنى الكروماتوغراف ... الخ). وعندما نضع النقاط الزوجية للمحور السيني والصادي والتي تكون في شكل نقاط مبعثرة والتي يمكن ربطها مع بعض لتكون خطاً مستقيماً يبين العلاقة بين التركيز والاستجابة الملاحظة. وبمعرفة كيفية تغير الاستجابات الملاحظة مع تغير التركيز فيسهل علينا تقدير تركيز المادة المجهولة من المنحنى القياسي.

(١,١١) الانحدار الخطي Linear Regression

كيف نرسم منحنى قياسي بعد جمع البيانات المطلوبة؟ أولاً يجب أن نقرر وضع النقاط الزوجية على المحورين السيني والصادي. عادة توضع تركيزات القياس على المحور السيني، أما القراءات الملاحظة فتوضع على المحور الصادي. ويطلق على

بيانات المحور السيني مصطلح "المتغيرات التابعة" ويفترض أنها خالية من الخطأ، بينما يطلق على بيانات المحور الصادي مصطلح "المتغيرات المستقلة" وهذه لا تخلو من الخطأ. ولكن مع ظهور الأجهزة الحديثة فقد يكون الخطأ بسيطاً جداً.

يوضح الشكل رقم (١,٣) منحنى قياسي نموذجي يستخدم في تقدير كمية الكافئين في مختلف المواد الغذائية ويتم تحليل الكافئين في المواد الغذائية بواسطة جهاز الكروماتوغرافي السائلة ذات الأداء العالي HPLC المقترن بوحدة تحسس تعمل على الأشعة فوق البنفسجية (uv) على موجة طولها ٢٧٢ نانومتر.



الشكل رقم (١,٣). رسم بيانات نموذجي يوضح نقاط البيانات والخط التوفيقي الأفضل (البيانات التي استخدمت لعمل المنحنى موضحة على يمين الخط).

وتكون المساحة تحت المنحنى متناسبة تناسباً طردياً مع التركيز. وعند إجراء تحليل عينة مجهولة (قهوة مثلاً) والحصول على منحنى بواسطة جهاز الـ HPLC يمكن مقارنة المساحة تحت هذا المنحنى بمساحة منحنى القياس ومن ثم حساب تركيز تلك العينة المجهولة.

ولتقدير تركيز الكافئين في عينة قهوة أعطت مساحة ٤٠٠٠ تحت المنحنى تقوم بتوصيل خط من المحور الصادي (٤٠٠٠) إلى الخط المستقيم التوفيقي ثم ننزله حتى المحور السيني حيث نجد التركيز حوالي ٤٢-٤٣ جزء من المليون. بالإمكان تحديد الخط التوفيقي الأفضل best fit line حسابياً وذلك باستخدام الانحدار الخطي Linear Regression.

تذكر معادلة الخط المستقيم y = ax+b أو س = اس + ب حيث تمثل "أ" الميل و "ب" تقاطع الخط مع المحور الصادي. ولتقدير الميل والتقاطع مع المحور الصادي تستخدم المعادلات التالية:

$$\text{الميل "أ"} = \frac{\Sigma (\text{س} - \bar{\text{س}})(\text{ص} - \bar{\text{ص}})}{\Sigma (\text{س} - \bar{\text{س}})^2} \qquad (١٣)$$

$$\text{التقاطع "ب"} = \bar{\text{ص}} - \text{أ}\bar{\text{س}} \qquad (١٤)$$

حيث تمثل "س" و "ص" القيم الفردية بينما تمثل "$\bar{\text{س}}$" و "$\bar{\text{ص}}$" متوسطات تلك القيم الفردية. الآن يمكن حل هذه المعادلات بواسطة الآلات الحاسبة البسيطة أو برامج الكمبيوتر.

وباستخدام بيانات الشكل رقم (١,٣) يمكن حساب تركيز الكافئين في العينة المجهولة ومقارنته مع طريقة الرسم البياني المتقدمة. سبق أن ذكرنا أن للعينة المجهولة مساحة تحت المنحنى تساوي ٤٠٠٠ على موجة طولها ٢٧٢ نانومتر. وقد أعطى تحليل الانحدار الخطي لبيانات المنحنى القياسي أعطى الخط مع المحور الصادي (ب) المقدار ٨٤,٦٦١١٨ وأعطى الميل "أ" ٩٠,٠٧٣٣١ وباستخدام معادلة الخط المستقيم:

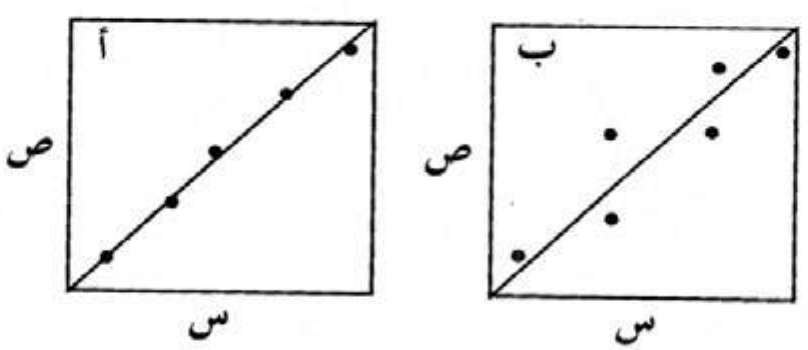
$$ص = اس + ب$$

$$\text{أو} \quad س = \frac{ص - ب}{ا}$$

$$= \frac{٨٤,٦٦١١٨ - ٤٠٠٠}{٩٠,٠٧٣٣١} = ٤٣,٤٦٨ \text{ جزء في المليون}$$

(١,١٢) معامل الارتباط Correlation Coefficient

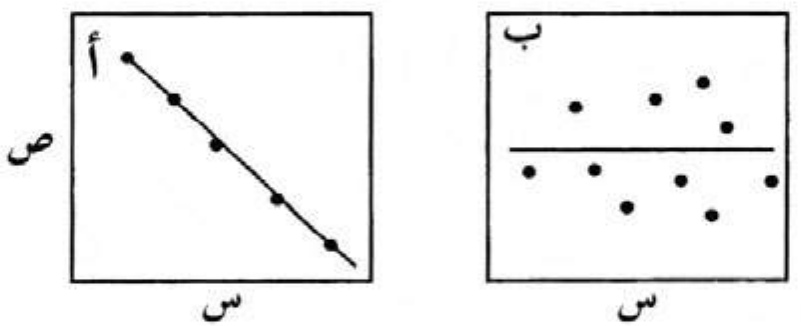
من أهم الاعتبارات التي يجب مراعاتها في أي نوع من أنواع الارتباط، بعد جمع البيانات ووضعها على ورقة الرسم البياني، هي رسم الخط المستقيم والتأكد من أنه يمر خلال نقاط البيانات. كما يمكن رؤية المناطق التي تكون بعيدة عن الخط المستقيم حيث لا توجد علاقة خطية. وتوضح الأشكال التالية الفروقات في المنحنيات القياسية:



شكل رقم (١,٤). أمثلة من المنحنيات القياسية توضح العلاقة بين المتغيرات السينية والصادية عندما يكون هناك ارتباطاً عالياً (أ) أو ارتباطاً ضعيفاً (ب)

الشكل (أ) يوضح ارتباطاً جيداً للبيانات والشكل (ب) يوضح ارتباطاً ضعيفاً وفي كلا الحالين يمكن رسم الخط المستقيم فيما بين نقاط البيانات. كلا المنحنيين تنتجان خطاً مستقيماً ولكن التوافق ضعيف في المنحنى الثاني.

عند التعامل مع المنحنيات القياسية هناك إمكانيات أخرى. الشكل (أ) يوضح ارتباطاً جيداً بين "س" و "ص" ولكن في الاتجاه السالب بينما يوضح الشكل (ب) بيانات لا يوجد بينها ارتباطاً البتة:



شكل رقم (١,٥). منحنيات قياسية توضح العلاقة بين المتغيرات "س" و "ص" عندما يكون هناك ارتباطاً عالياً في الاتجاه السالب (أ) وعندما لا يكون هناك ارتباطاً أصلاً (ب).

يحدد معامل الارتباط كيف تتطابق نقاط البيانات مع الخط المستقيم. وبالنسبة للمنحنى القياسي فإن الوضع الأمثل هو أن تقع كل نقاط البيانات تماماً على الخط المستقيم ولكن الواقع لم يكن كذلك أبداً، وذلك لوجود أخطاء في تحضير المواد القياسية وفي الأجهزة.

(١,١٣) كتابة التقرير Report Results

عند معالجتنا لنتائج التجارب نواجه دائماً بطريقة تقديم النتائج في التقرير والتي يجب أن تشير إلى حساسية الطريقة التحليلية ودرجة التوافق. وفي الفقرات التالية سنقوم بمناقشة طريقة تقييم النتائج حتى نكون دقيقين في كتابة التقرير.

(١,١٤) الأرقام المعنوية Significant Figures

يستخدم مصطلح "الأرقام المعنوية" إلى حد ما بطريقة غير دقيقة لوصف الحكم على عدد الأرقام التي تسجل في التقرير وكثيراً ما يكون هذا الحكم غير صحيح فتضيع بعض الأرقام ذات المعنى والأهمية بينما تبقى بعض الأرقام التي ليست لها أهمية. وفيما يلي بعض القواعد التي تحدد عدد الأرقام المعنوية التي يمكن تسجيلها في التقرير:

١ - تعتبر القيمة مكونة من أرقام معنوية عندما تكون كل أرقامها حقيقية ما عدا الرقم الأخير الذي يكون مشكوكاً فيه مثلاً إذا كتبت القيمة كـ ٦٤,٧٢ فهي تتكون من أربعة أرقام معنوية منها ثلاثة أرقام مؤكدة (٦٤,٧) والرقم الرابع مشكوك في معنويته. وهكذا فإن الرقم ٢ مشكوك فيه لحد ما وقد يكون ١ أو ٣.

٢ - الأرقام التي تكون أي قيمة تمثل الأرقام المعنوية بصرف النظر عن موقع الفواصل العشرية. وهذا ينطبق أيضاً على الأرقام التي تحتوي على أصفار بشرط أن تكون محاطة من الجانبين برقم. مثلاً ٦٤,٧٢؛ ٦,٤٧٢؛ ٠,٦٤٧٢ و ٦,٤٠٧ كلها تحتوي على أربعة أرقام معنوية. لاحظ أن الصفر المسجل إلى يسار الفاصلة العشرية استخدم فقط ليشير إلى أنه لا توجد أرقام فوق الواحد. كان يمكن أن تكتب هذه القيمة كـ (٠٤٦٧٢) لكن وضع الصفر إلى يسار الفاصلة أفضل حتى لا يكون هناك شك في وجود رقم قبل الفاصلة.

٣- هناك اعتبارات خاصة بالنسبة لوضع الأصفار:

أ) الأصفار بعد الفاصلة العشرية دائماً تعتبر أرقاماً معنوية مثلاً ٦٤,٧٢٠ و٦٤,٧٠٠ كليهما تحتويان على خمسة أرقام معنوية.

ب) الأصفار الواقعة قبل الفاصلة العشرية بدون أرقام متقدمة (سابقة) لها لا تعتبر أرقاماً مئوية. وهكذا فالرقم ٠,٦٤٧٢ يحتوي على أربعة أرقام معنوية فقط.

جـ) الأصفار بعد الفاصلة العشرية لا تعتبر أرقاماً معنوية إذا لم توجد أرقام قبل الفاصلة العشرية. مثلاً "٠,٠٠٧٢" لا توجد فيه أرقاماً قبل الفاصلة العشرية لذلك فإن هذه القيمة تحتوي على رقمين معنويين فقط. وبالمقابل فالعدد "١,٠٠٧٢" يحتوي على خمسة أرقام معنوية.

د) عندما تكون الأصفار في نهاية العدد لا تكون أرقاماً معنوية مثلاً العدد "٧٠٠٠" يحتوي على رقم معنوي واحد. ولكن إذا أضفنا فاصلة عشرية للعدد وصفراً آخر فسيكون العدد "٧٠٠٠,٠" وبهذا يحتوي العدد الآن على خمسة أرقام معنوية.

(١,١٥) تقريب الأعداد Rounding of Numbers

هذه العملية مهمة جداً في جميع مجالات التحليل، ولكنها قد تقود لأخطاء كبيرة إذا كانت عملية التقريب غير صحيحة، ومن الأفضل أن تتم هذه العملية على النتائج الأخيرة. أما القواعد الأساسية لعملية تقريب الأعداد فهي كما يلي:

١- إذا كان الرقم المراد تقريبه أقل من "٥" فيتم إهماله ويحتفظ بالأرقام الباقية كما هي بدون تغيير. مثلاً العدد "٦٤,٧٢٢" يتمم إلى "٦٤,٧٢".

٢- إذا كان الرقم المراد تقريبه أكثر من "٥" يتم إسقاطه ويزاد الرقم الذي يقع قبله بواحد. مثلاً "٦٤,٧٢٧" يتمم إلى "٦٤,٧٣".

٣- إذا كان الرقم المراد تقريبه يساوي "٥" والأرقام التي توجد بعده أصفار فحينها يسقط الرقم ويزاد الرقم الذي يقع قبله بواحد إذا كان ذلك الرقم فردياً، أما إذا كان ذلك الرقم زوجياً فهنا يحتفظ بذلك دون تغيير. مثلاً العدد "٦٤,٧٢٥" يتمم إلى "٦٤,٧٢" والعدد "٦٥,٧٠٥" فيتمم إلى "٦٥,٧٠" بينما يتمم "٦٤,٧١٥" إلى "٦٤,٧٢".

الفصل الثاني

نظم سحب العينات وإعداد العينة لغرض التحليل
Sampling System and Sample Preparation

(٢,١) مقدمة

حتى نتمكن من قياس صفات جودة الأغذية وقبولها في حدود معقولة فإنه من المهم ضبط الصفات الحيوية للمواد الخام والمكونات والمنتج النهائي. وبما أنه من الصعب في أغلب الحالات إجراء الفحص الكامل ١٠٠٪ للغذاء الكلي لتقييم جودته، فعليه يتم عملياً اختيار جزء منه يفترض أن جودة هذا الجزء المنتخب تمثل الغذاء الكلي.

واختيار جزء من الغذاء، أو العينة (Sample) يمثل الغذاء الكلي تعرف بعملية أخذ العينات (Sampling) ويعرف الغذاء الكلي الذي تم سحب العينة منه بالمجتمع (Population) وإذا تم أخذ العينات بطريقة صحيحة فسوف يساعد ذلك في التأكيد بأن قياسات جودة العينة هي تقدير صحيح ودقيق لجودة المجتمع. ومن الواضح أيضاً أنه إذا كانت العينة المختارة لا تمثل المجتمع الذي هو تحت الدراسة فإن نتائج فحص العينة قد ينتج عنها قرارات خاطئة أو مكلفة.

(٢,٢) انتقاء طريقة سحب العينات Selection of Sampling Procedures

إنه لمن المهم جداً تعريف المجتمع الذي سوف تسحب منه العينات. فقد يتراوح المجتمع في الحجم من دفعة إنتاج Production Lot إلى إنتاج يوم إلى محتويات

مستودع بكامله. إن الاستنتاجات الاستقرائية المتحصل عليها من عينة دفعة إنتاج يمكن أن تؤدي إلى معلومات صحيحة عن المجتمع المكون لتلك الدفعات، لكن من الصعوبة سحب هذه الاستنتاجات،على مجتمعات كبيرة مثل مكونات مستودع كامل.

تنقسم المجتمعات "Populations" إلى مجتمعات متناهية "Finite" ومجتمعات غير متناهية "Infinite". وتمثل المجتمعات المتناهية مثل حجم دفعة إنتاج، أما مثال المجتمعات غير المتناهية عدد مشاهدات درجات الحرارة في دفعة إنتاج بصفة مستمرة. بالنسبة للمجتمعات المتناهية فإن طريقة أخذ العينات تعطي تقييماً عن جودة الدفعة. وبالمقابل فإن أخذ العينات من المجتمعات غير المتناهية يعطي معلومات عن العمليات.

إن البيانات المتحصل عليها من الطرق التحليلية هي نتيجة لإجراءات تدريجية من مرحلة أخذ العينات إلى مرحلة إعداد العينات للتحليل إلى مرحلة التحليل المخبري إلى عرض وتبويب البيانات إحصائياً إلى مرحلة تفسير النتائج. هناك احتمال للخطأ في كل مرحلة من هذه المراحل السابقة، أما مستوى الثقة أو الاعتمادية "Reliability" أو عدم تأكيد "Uncertainty" النتائج النهائية فتعتمد على الأخطاء التراكمية للمراحل. ويكون التباين "Variance" مقدراً لعدم تأكيد ذلك. ويساوي التباين الكلي لمجموع طريقة الاختبار مجموع التباين المرتبط بكل مرحلة ويمثل توافق "Precision" تلك العملية. ويمثل هذا التوافق مقياس لتكرارية "Reproducibility" البيانات وبالمقابل فإن الدقة "Accuracy" هي مقياس لمدى قرب البيانات إلى القيمة الحقيقية. إن أكثر الطرق فاعلية لتحسين الدقة هي تحسين مستوى الثقة (اعتمادية) للمرحلة التي تحتوي على أكبر تباين، وكثيراً ما تكون هذه هي مرحلة أخذ العينات الابتدائية. وتعتمد الثقة في أخذ العينات على حجم العينة أكثر من اعتمادها على حجم المجتمع نفسه. فكلما كبر حجم العينة تزيد اعتمادية طريقة أخذ العينات. ولكن حجم العينة محدود بعامل الوقت والتكلفة وطرق أخذ العينات وتوفير معدات أخذ العينات والتحليل وعرض وتبويب البيانات.

(٢,٣) تعاريف الاتحاد الدولي للكيمياء البحتة والتطبيقية فى مجال العينات

(International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)

أقر الاتحاد استخدام المصطلحات التالية في مجال أخذ العينات لغرض التحليل:

١- العينة أو النموذج "Sample" بأنها جزء من المادة الغذائية والمنتخب بطريقة عشوائية من أجل تمثيل الصفات الأساسية لمجتمع الغذاء أو الدفعة الأصلية (Lot).

٢- وحدة العينة Sampling Unit: وهي الحد الأدنى من العينة المأخوذة من الغذاء الأصلي التي يمكن أن تكون ممثلة لهذا الغذاء.

٣- مقطع وحدة العينة Increment: يمثل كمية معينة من المادة الغذائية تؤخذ من وحدة العينة.

٤- العينة الكلية أو المركبة Gross or Composite Sample: تتكون من خلط مقاطع وحدات العينة.

٥- العينة المصغرة Sub-sample: وهي تلك العينة الناتجة من تقسيم العينة المركبة بطريقة محددة تضمن الحفاظ على ذات الصفات التركيبية للمادة الأصلية.

٦- عينة التحليل Analysis Sample: عبارة عن كمية العينة المستخدمة في التحليل.

٧- العينة الممثلة Representative Sample: هي تلك العينة التي تتماثل في ظروفها بأقصى قدر ممكن مع الغذاء الكلي الذي تم سحب هذه العينة منه.

٨- الرسائل الغذائية Consignments: يقصد بها الأجزاء المتماثلة من المادة الغذائية الكلية ويتم سحبها بطريقة عشوائية تضمن تمثيل هذه الرسائل للغذاء الكلي تمثيلاً واقعياً.

(٢,٤) خطط أخذ العينات Sampling Plans

تجرى كثيراً من عمليات أخذ العينات من أجل غرض محدد (مثلاً لتحديد ما إذا كان عدد الوحدات المعيبة في الدفعة تحت الحد المقبول) وهذا الغرض نفسه قد يحدد طريقة أخذ العينات. يُعرِّفُ الاتحاد الدولي للكيمياء البحتة والتطبيقية International Union of Pure & Applied Chemistry (IUPAC) خطة أخذ العينات بأنها طريقة مقررة سلفاً لاختيار وسحب وحفظ ونقل وإعداد الكميات المعينة التي تؤخذ من المادة الغذائية كعينات. يجب أن تكون خطة أخذ العينات موثقة جيداً وببراعة حتى تغطي كل الإجراءات المطلوبة لأخذ عينات ممثلة للمجتمع. يجب أن تخاطب الخطة مسائل تجيب على الأسئلة الافتراضية مثل من؟ ما؟ أين؟ لماذا؟ وكيف؟ إن الهدف الأهم في خطط أخذ العينات هو الاعتبارات التي يمكن أخذها لإيجاد خطط أخذ عينات معقولة. وللحصول على هذه الخطط المعقولة فإن كثيراً من العوامل يجب أن تؤخذ بعين الاعتبار، منها:

١ - الأهداف من وراء أخذ العينة، إذ يعرف أخذ العينات بأنه الطريقة الخاصة بالحصول على استنتاجات عن المجتمع باستخدام النتائج التي تم الحصول عليها من العينة المسحوبة منه لذلك فإن الهدف من أخذ العينات هو ليس في أغلب الأحيان لاكتشاف العيوب بل لقياس بعض مجالات الجودة لذلك المجتمع.

٢- يجب أن يكون الهدف من جمع البيانات واضحاً إذ أن العينات المختارة بشكل عشوائي لمجتمع ما لفحص الجودة يمكن أن تنتج بيانات لا معنى لها إذا كان توزيع البيانات ضمن المجتمع غير معروف أو الهدف من جمع البيانات غير واضح أيضاً. ومن الواضح أن العينات الممثلة المأخوذة من أي توزيع كالتوزيع الطبيعي أو ذو الحدين أو توزيع بويسون يتوقع أن تعكس خواص ذلك التوزيع.

٣- أما العامل الثالث فإنه يتعلق بحجم العينة، إذ أن العينة يجب أن تمثل المجتمع بدقة وتكلفة مثل تلك المعاينة (أخذ العينات) للوصول إلى مثل هذا المستوى من الدقة يجب أن تكون مقبولة. ويمكن تلخيص العوامل التي تؤثر على اختيار خطة أخذ العينات في الجدول التالي:

العوامل التي يجب أخذها في الاعتبار	الأسئلة
الغرض من المعاينة	هل هو من أجل قبول أو رفض الرسالة؟
	هل هو من أجل قياس جودة الرسالة؟
	هل هو من أجل تحديد الاختلافات ضمن المنتج؟
طبيعة المنتج	هل هو متجانس أم غير متجانس؟
	ما هو حجم الوحدة؟
	هل كانت المجتمعات السابقة تتطابق مع المواصفات باستمرار؟
	ما هي تكلفة المواد المعاينة؟
طبيعة طريقة الاختبار	هل الاختبار هام جداً أو ثانوي؟
	هل يؤدي عدم نجاح المجتمع في الاختبار إلى موت أو مرض شخص؟
	هل الاختبار متلف أم غير متلف؟
	كم تبلغ تكلفة الاختبار؟
طبيعة المجتمع تحت الفحص	هل الدفعة ذات حجم كبير لكنها متماثلة؟
	هل تحتوي الدفعة على أجزاء صغيرة يمكن فرزها بسهولة؟
	ما هو توزيع الوحدات داخل المجتمع؟

(٢,٥) خطط أخذ العينات بالصفات أو بالمتغيرات

Sampling for Attributes or Variables

تهدف خطط أخذ العينات إلى فحص الصفات أو المتغيرات وفي خطط أخذ العينات بالصفات فإن هدف المعاينة هنا هو تقرير قبول "Acceptability" أو عدم قبول الرسالة تأسيساً على ما إذا كانت العينة تحمل صفة جودة معينة، مثلاً، التلوث ببكتريا كلوستريديوم بوتشيلينيوم في المعلبات. وتوفر المعاينة بالصفات بيانات في شكل ثنائي أو بيانات تتميز بوجود بديلين مثل وجود أو عدم وجود صفة معينة. ويكون التوزيع الإحصائي لمثل هذه المعاينة هو التوزيع ذو الحدين "Binomial" أو توزيع بويسون "Poisson" أو التوزيع فوق الهندسي. وفي حالة التوزيع ذو الحدين للبيانات (مثلاً وجود بكتريا الكلوستريديوم بوتشيلينيوم) فإن احتمالية حدوث الواقعة لمرة واحدة يتناسب طردياً مع حجم العينة. ولذا فإن حسابات احتمالية التوزيع ذو الحدين سوف تمكن الباحث من استخلاص استنتاجات على كل الدفعة.

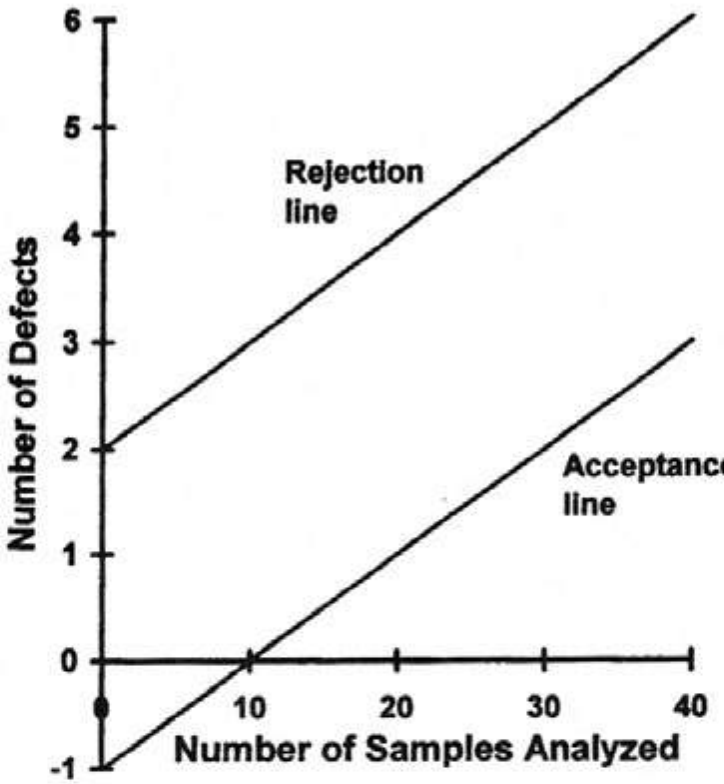
وفي خطط أخذ العينات بالمتغيرات فإن هدف المعاينة هنا هو تقدير كمية المادة (مثلاً الملح) كمياً أو تقدير صفة (مثلاً اللون) بطريقة مستمرة. وتتم مقارنة التقدير المتحصل عليه من العينة مع قيمة مقبولة (تم تحديدها مسبقاً) ومن ثم يتم حساب الانحراف. وينتج هذا النوع من المعاينة بيانات تنتمي إلى التوزيع الطبيعي "Normal Distribution" مثل نسبة ملء العبوات ونسبة المواد الصلبة الكلية في عينات المواد الغذائية. وفي العموم فإن المعاينة بالمتغيرات تتطلب عادة عينات ذات حجم أصغر من عينات المعاينة بالصفات.

هناك ثلاثة أنواع أساسية من خطط أخذ العينات: معاينة مفردة "Single Sampling"، ومعاينة مزدوجة "Double"، ومتعددة "Multiple" وأي واحدة منها يمكن أن تستخدم لتقييم الصفات أو المتغيرات أو خليط منهما. ويعتمد اختيار الخطة على

الجودة الكلية المتوقعة للدفعة وعلى تكاليف المعاينة. وتنتج خطة المعاينة المفردة اتخاذ قرارات القبول والرفض حيث يكون القرار بقبول أو رفض الدفعة مبني على نتائج الاختبار لعينة واحدة وقد يثير هذا النوع من العينات الشك لدى الإدارة أو المستهلك أو المنتج... الخ وخاصة عندما يكون الموقف هو رفض الدفعة وفقاً لهذه العينة. وتستخدم العينات المزدوجة أو المتعددة عندما تفشل العينة الأولى في الحصول على رقم مقبول من العيوب ويمكن تبرير ذلك عندما تكون تكاليف الاختبار عالية. ومع ذلك يجب عدم اتباع مثل هذا النوع من العينات من أجل إعطاء الدفعة فرصة ثانية. ويعتمد تكرار المعاينة على الجودة الكلية للدفعة. يجب عمل رسم بياني لخطة أخذ العينات المتعددة يوضح العلاقة بين العدد التراكمي للعيوب وعدد العينات المسحوبة من الدفعة.

يشتمل الرسم البياني (شكل رقم ٢,١) على خطين متوازيين: خط رفض وخط قبول عندما يقع العدد التراكمي للعيوب فوق خط الرفض، يجب رفض الدفعة. أما عندما يقع العدد التراكمي للعيوب تحت خط القبول فيمكن قبول الدفعة. يجب أن تستمر عملية أخذ العينات حتى يعبر العدد التراكمي للعيوب خط الرفض أو خط القبول.

إن اختبار خطة أخذ العينات لهي بالأهمية بمكان وخاصة عند مراقبة سلامة الأغذية بقياس السموم الفطرية (Mycotoxins)، حيث تتوزع هذه السموم بطريقة واسعة وعشوائية بحيث لا نستطيع افتراض توزيع طبيعي، ولا تكون طرق التحليل الدقيقة ضرورية في تحليل هذه السميات عندما يكون خطأ المعاينة أكبر بعدة أضعاف عن خطأ التحليل، وفي هذه الحالة تكون المعاينة الجيدة والخلط قبل تصغير الحجم أكثر أهمية من طرق التحليل الكيميائية نفسها.



الشكل رقم (٢,١). رسم بياني للقبول/ الرفض للخطة المتعددة لاستخدامه في تأكيد الجودة

(٢,٦) مخاطر أخذ العينات Sampling Risks

هناك نوعان من المخاطر تتعلقان بعملية أخذ العينات. ويجب النظر إليهما بعين الاعتبار عند وضع خطة أخذ العينات. أولهما هو مخاطرة المستهلك "Consumer Risk" وتنتج عن احتمالية قبول منتج منخفض الجودة ويجب ألا يحدث هذا كثيراً (يجب ألا يحدث في أكثر من ٥٪ من الدفعات). أما مخاطرة البائع "Vender Risk" فتنتج عن احتمالية رفض منتج مرتفع الجودة. والحد المقبول لهذه المخاطرة يكون في حدود

٥-١٠٪ يجب أن تكون خطة أخذ العينات بسيطة ومرنة وتحمي المستهلك والبائع كليهما.

(٢,٧) طرق أخذ العينات Sampling Procedures

(٢,٧,١) المجتمعات المتجانسة وغير المتجانسة

Homogeneous Versus Heterogeneous Population

إن المجتمع المثالي يكون مجتمعاً متماثلاً ومتطابقاً في وحداته وأنه لأمر سهل أن يتم سحب العينات من مثل هذا المجتمع إذ يمكن أخذ العينة الممثلة من أي جزء في المجتمع. ومن الأمثلة على ذلك أخذ عينة من غاز النيتروجين السائل المستعمل في أغراض التجميد ويختلف الأمر في حالة المجتمعات غير المتجانسة وهو الوضع الأكثر حصولاً في مجال الأغذية. ولكي تكون نتائج التحليل صحيحة يجب أخذ العينات من أماكن موزعة ومحددة من المجتمع غير المتجانس. كما قد يحتاج الأمر إلى تحضير العينات بطريقة خاصة وغني عن القول أنه كلما زاد عدم تجانس المادة الغذائية كلما ازدادت صعوبة ومن ثم المجهود المطلوب للحيلولة دون أخذ عينة لا تعبر عن الغذاء، أي ضمان أن تكون العينة المسحوبة ممثلة تمثيلاً حقيقياً لواقع الغذاء "Representative Sample" موضع التحليل.

ولكي نضمن أخذ عينة ممثلة للغذاء الكلي فإنه ينبغي التأكد من توافر ثلاثة شروط أساسية وهي:

١- ضرورة أخذ كمية مناسبة من العينة بنية تحجيم التفاوت التركيبي المذكور آنفاً وينصح في هذا الصدد بأخذ عدد يساوي الجذر التربيعي للعدد الكلي للعبوات في حالة الأغذية المعبأة.

٢- ضرورة أن يكون سحب العينة قد تم بطريقة عشوائية "Random".

٣- الحيلولة دون حدوث أي تغير في تركيب أو خواص العينة المسحوبة كأن تفقد أو تكسب رطوبة أو يعتريها تحلل أو تلوث بالميكروبات.

(٢,٧,٢) الطريقة اليدوية Manual Sampling Technique

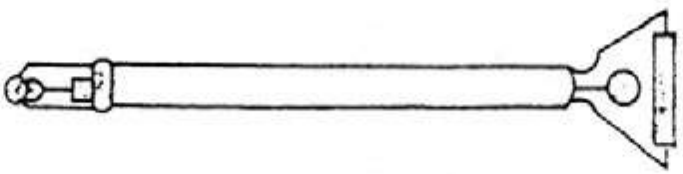
للحصول على عينة يدوية يجب على الشخص الذي يقوم بأخذ العينات محاولة أخذ "عينة عشوائية" لتجنب الانحياز في عملية أخذ العينات. لذلك يجب أخذ العينة من عدة أماكن من المجتمع أو الدفعة لضمان تمثيلها لكل المجتمع. بالنسبة للمواد المتجانسة ظاهرياً كالسوائل أو المساحيق جيدة الخلط فإنه يجب خلطها جيداً قبل عملية سحب العينة وإذا لم تكن هذه المواد متوفرة بكميات كبيرة فإنه يمكن خلطها عن طريق الرج داخل إناء مغلق ذي حجم يساوي ضعف حجم العينة، كذلك فإنه يمكن إجراء عملية الخلط عن طريق تكرار صب العينة عدة مرات من إناء إلى آخر.

وبالنسبة للمساحيق والحبوب فإنه يمكن إجراء عملية المزج باستخدام مقسم العينات "Sample Divider" حيث يتم وضع عينة الحبوب في القادوس "Hopper" الموجود أعلى المقسم ثم يسمح للعينة بالنزول إلى جوانب مخروط يقع مباشرة أسفل مركز الفتحة، وتوجد حول قاعدة المخروط ثلاثة فتحات وتسقط الحبوب على جوانب المخروط فيتم تقسيمها إلى ستة وثلاثين اتجاهاً منفصلاً تتجمع في النهاية في اتجاهين رئيسيين يصب كل منهما في آنية تجميع العينات. وعامة فإن عملية سحب العينات بالنظام اليدوي تتطلب استخدام أدوات معينة يطلق عليها أدوات سحب العينات "Sampling Probes" والتي توضح بعضها في الشكل رقم (٢,٢) وهي أدوات رسمية ذات أشكال وأبعاد قياسية ثابتة وأهمها:

أ) السارق Thief

والسارق عبارة عن أنبوبة عادية أو تلسكوبية يتراوح طولها بين ٦١-٩١سم وقطرها ٤,٤سم ويمكن مد الأنبوبة وهي مزودة بقاع كاذب يمكن فتحه وإغلاقه

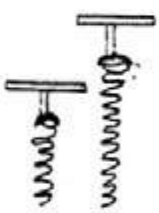
بحيث يسمح بالحصول على عينات من ارتفاعات مختلفة داخل عبوات كالبراميل، ويستخدم السارق في سحب العينات السائلة.



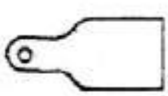
أ- السارق Thief

ب- المذاول Trier

جـ - أنبوبة سحب العينات Sampling Tube



د - بريمة أخذ العينات Sampling Screw



الناضع Cutter

الشكل رقم (٢,٢). بعض الأدوات والأجهزة المستخدمة في سحب العينات اليدوية.

ب) المحاول Trier

للمحاول أشكال مختلفة فقد يشبه الجاروف المزود بمقبض أو أن يكون على شكل قلم أو أن يكون مقسماً لمنع سقوط العينة، ويستخدم المحاول في سحب الغلال والمساحيق الجافة.

ج) أنبوبة سحب العينات Sampling Tube

وهذه الأنبوبة إما أن تكون بسيطة أو مركبة، وتتكون الأخيرة من نصفي أسطوانة متداخلين ويمكن فتح الأنبوبة وغلقها عن طريق مقبض، حيث توضع الأنبوبة داخل الغذاء الكلي وهي مغلقة ثم يدار المقبض فتفتح الأنبوبة وتملأ بالعينة ثم تغلق وتسحب. وتستخدم أنبوبة أخذ العينات في سحب الحبوب والبقوليات وعادة يكون طول هذه الأنبوبة حوالي ٩١سم وبقطر ٣,٢سم.

د) بريمة أخذ العينات Sampling Screw

يتم استخدام هذه البريمة في سحب عينات البذور الزيتية مثل بذور القطن وبذور فول الصويا وتوجد بريمة خاصة لكل نوع من أنواع البذور حيث يختلف حجم ثقوب البريمة تبعاً لحجم البذور.

هـ) سكين أخذ العينات (القاطع) Sampling Knife

يستخدم هذا السكين في أخذ عينات الأغذية المجمدة أو الجبن الجاف أو الأغذية نصف الصلبة، والسكين مصنع من الصلب غير القابل للصدأ.

و) آلة الحفر Drill

آلة الحفر عبارة عن مخروط من الصلب له نهايات مسننة وتستخدم هذه الآلة في أخذ عينات الأغذية المجمدة أو الجبن الجاف حيث توضع آلة الحفر على سطح الغذاء المراد أخذ عينة منه وتدار البريمة فنحصل على مخروط من المادة الغذائية.

(٢,٧,٣) الطريقة المستمرة Continuous Sampling Technique

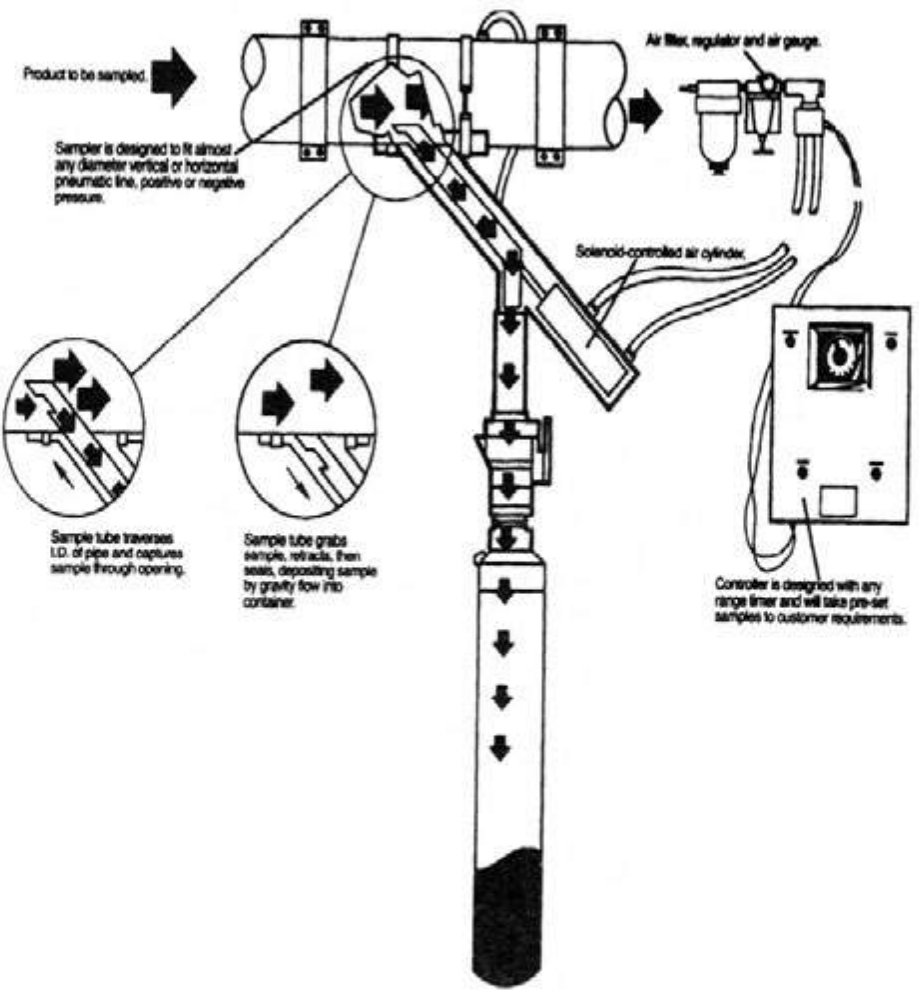
لا تصلح الطريقة اليدوية لسحب العينات في بعض الحالات كمخازن الحبوب والبذور الزيتية الكبيرة والمطاحن والخطوط التصنيعية المستمرة الأمر الذي يستلزم أخذ العينات بطريقة ميكانيكية أو آلية (مستمرة شكل رقم ٢,٣) ومن الأدوات التي تستعمل لسحب العينات بالطريقة المستمرة:

أ) المجزئ الأخدودي (جهاز ريفيل) Riffle Cutter

يتركب هذا المجزئ من مقسمات توجد على مسافات متساوية وهي مصممة بحيث يكون في مقدورها سحب كميات صغيرة من العينة أثناء سريانها وعادة ما يتم استخدام هذا الجهاز في معامل التحليل بغية تصغير العينات الكبيرة.

ب) ساحب العينات الدائري Circular Sampler

يستخدم هذا الساحب إما بطريقة متقطعة "Intermittent" أو مستمرة "Continuous" وهو يلائم المواد الرطبة والجافة على حد سواء. وهذا الساحب مصمم بحيث يتم أخذ كميات من المادة التي تسير في شكل تيار على شكل دائرة بحيث يمكن أخذ كمية من المادة مع كل دورة، وتتحدد كمية العينة المسحوبة بقطر فتحة الساحب حيث يتم سحب نحو ٥-١٠٪ من المادة ولذا فعادة ما يتطلب الأمر استخدام ساحب آخر لاختزال حجم العينة. وفي حالة تجانس العينة فإنه يمكن إجراء العملية بشكل متقطع مع تزويد الساحب بمغناطيس ومؤشر للوقت.



الشكل رقم (٢,٣). بعض الأدوات والأجهزة المستخدمة في سحب العينات بالطريقة المستمرة.

ج) ساحب الخط المستقيم **Straight-line Sampler**

يعتبر هذا النوع أرخص أجهزة سحب العينات وأكثرها شيوعاً ويمكن استخدامه إما بطريقة متقطعة أو مستمرة ويتم تحريك الساحب هنا في خط مستقيم

وبسرعة ثابتة خلال سريان العينة ويمكن التحكم في كمية العينة المأخوذة بالتحكم في فتحة الساحب وسرعته وعدد مرات تصغير العينة، وعامة فإنه يجب ألا يقل عرض فتحة الساحب عن ثلاثة أضعاف حجم جسيمات العينة التي يتم سحبها منها ويمكن حساب كمية العينة لكل عملية سحب (Q) من المعادلة التالية: Q = PWL

حيث P = معدل التغذية (كيلوجرام/ ثانية)

و W = عرض الساحب (القاطع) بالسنتمتر

و L = سرعة الساحب بالسنتمتر/ ثانية

وعادة ما تكون قيمة L نحو ٣٠.

ملاحظة: النظام المستمر لسحب العينات هو عادة أقل عرضة للانحياز الآدمي من النظام اليدوي لسحب العينات.

(٢,٧,٤) اعتبارات إحصائية Statistical Considerations

أ) أخذ العينات عند عدم تساوي الاحتمالية Non-probability sampling

يعمل بهذا النوع من المعاينة عند استحالة سحب عينة ممثلة من مجتمع ما. ففي حالات معينة من الغش مثلاً خلط البضاعة الجيدة مع جزء ملوث بسبب وجود القوارض قد يكون الهدف من خطة سحب العينات هو إلقاء الضوء على التلوث أكثر من سحب عينة ممثلة للمجتمع. يمكن إجراء هذا النوع من أخذ العينات بطرق كثيرة لكن في كل حالة فإن فرصة اختيار أي جزء معين من المجتمع ليست متساوية لأن الذي يسحب العينة لا يهتم كثيراً بتقدير خطأ المعاينة لأن اهتمامه يكون منصباً على زيادة احتمالات اكتشاف المنتجات غير الصالحة وليس هدفه العينة الممثلة.

ب) الطريقة الاجتهادية Judgment Sampling

للشخص الذي يقوم بسحب العينة هنا مطلق التصرف بدون قيد أو شرط لذلك تعتمد هذه الطريقة على الشخص ساحب العينة فقط. وتستخدم هذه الطريقة

عندما تنعدم أي طريقة عملية أخرى للحصول على العينة. وقد تنتج في عمل تقدير أفضل للمجتمع من المعاينة العشوائية إذا كان الشخص مؤهل.

ج) الطريقة الملائمة لأخذ العينات Convenience Sampling

وتستخدم هذه الطريقة عندما تكون سهولة أخذ العينات هي العامل الأهم. وتختار أول وحدة أو أكثر عينة سهلة السحب ومع أن هذه الطريقة لا تحتاج لجهد كثير إلا أن العينة المتحصل عليها لا تكون ممثلة للدفعة أو الرسالة لذلك لا يوصى باستخدامها.

د) طريقة أخذ العينات المقيدة Restricted Sampling

ويمكن اللجوء لهذه الطريقة عندما لا يكون الحصول سهلاً على كل وحدات المجتمع. وهذا يكون مثلاً في حالة أخذ العينات من شاحنة من شاحنات السكة الحديدية وهنا لا تكون العينة أيضاً ممثلة للمجتمع.

هـ) طريقة الكوتا Quota Sampling

وهي تقسيم الدفعة إلى مجموعات وتؤخذ عينة من كل مجموعة. وتتميز هذه الطريقة بأن تكلفتها أقل من أخذ العينات عشوائياً لكنها أقل اعتمادية.

و) أخذ العينات عند تساوي الاحتمالية Probability Sampling

توفر هذه الطريقة أساساً إحصائياً سليماً للحصول على عينة ممثلة مع تقليل الانحياز البشري، لذا فهي مفضلة لدى ساحبي العينات. فيمكن حساب احتمالية تضمين أي وحدة من المجتمع في العينة كما يمكن حساب خطأ المعاينة.

(٢,٧,٥) أخذ العينات بطريقة عشوائية

أ) المعاينة العشوائية البسيطة Simple Random Sampling

وفي هذه الطريقة يجب أن نعلم عدد وحدات المجتمع وتعطي كل وحدة رقماً معيناً، ثم نسحب العينات بطريقة عشوائية كاملة عن طريق استخدام جدول الأرقام

العشوائية ذي العشرة آلاف رقم حيث يشتمل هذا الجدول على أرقام تم ترتيبها عشوائياً بواسطة الحاسب الآلي بحيث يكون مكان أي رقم بالجدول مستقلاً تماماً عن بقية الأرقام التي تسبقه أو تليه في ذات العمود أو الأعمدة المجاورة.

ب) الطريقة العشوائية النظامية Systematic Sampling

وهذه الطريقة تستخدم عندما لا تتوفر قائمة كاملة بعدد وحدات العينة ولكن عندما تكون العينات موزعة توزيعاً متساوياً على طول الوقت والمساحة مثل خط الإنتاج. تختار العينة الأولى عشوائياً ثم كل وحدة رقمها يساوي تقسيم عدد وحدات الدفعة على عدد وحدات العينة مثلاً لو عندنا دفعة تتكون من ٥٠٠٠ وحدة ورغبنا في سحب عينة من ٥٠ وحدة فإننا نقوم بتقسيم ٥٠٠٠ ÷ ٥٠ = ١٠٠ وبعد سحب العينة الأولى عشوائياً نقوم بسحب العينات رقم ١٠٠ ثم رقم ٢٠٠ ثم ٣٠٠ وهكذا.

ج) الطريقة العشوائية الطبقية Stratified Random Sampling

وتعني تقسيم المجتمع إلى مجموعات متداخلة بحيث تكون كل مجموعة متجانسة لحالها. مثلاً إذا كان هناك مخزناً يحتوي على ٣٠٠ كرتونة من المشمش مرتبة في ثلاثة طبقات السفلى عبارة عن مشمش غير ناضج "Immature" والوسطى عبارة عن مشمش ناضج "Mature" والطبقة العلوية عبارة عن مشمش ناضج أكثر مما ينبغي Overripe. إذا ما اختيرت العينات بطريقة عشوائية فإن عينة ممثلة من الصناديق ستحدد أن النضج كان حول المعدل أما إذا كانت العينات قد أخذت من كل طبقة والنتيجة ستكون أنه كان هناك ثلاث حالات نضج.

د) العينة العشوائية العنقودية Cluster Random Sampling

وتستلزم هذه الطريقة تقسيم المجتمع إلى مجموعات صغيرة أو مجموعة عناقيد "Clusters" بحيث تكون صفات هذه العناقيد مشابهة لبعض (أي أن

المتوسطات متساوية تقريباً). يجب أن تكون العناقيد صغيرة ومتساوية العدد مع بعضها البعض. تسحب العينات من كل عنقود بطريقة عشوائية. هذه الطريقة أكثر كفاءة وأقل تكلفة من الطريقة العشوائية البسيطة.

هـ) الطريقة المركبة لأخذ العينات Composite Sampling

وتستخدم للحصول على عينات من الرسائل المعبأة في أكياس من دقيق القمح أو الحبوب كما تستخدم للرسائل السائبة التي تحتوي على وحدات كبيرة. تجمع عينتين أو أكثر للحصول على عينة واحدة للتحليل حتى تقلل من الاختلافات بين العينات.

بصورة عامة فإن عدد الوحدات التي يتم اختيارها من أي رسالة (N) يمكن الحصول عليها بالمعادلة التالية:

$$n = C\sqrt{N}$$

حيث:

C = معامل يمثل درجة الدقة المطلوبة في العينة، وتختلف قيمتها مع درجة عدم تجانس "N".

(٢,٨) إعداد العينات للتحليل Preparation of Samples for Analysis

إذا لم تحضر العينة وتعد إعداداً كاملاً قبل التحليل أو إذا أصيبت بتغيرات كثيرة أثناء التحضير فالنتائج سوف تكون غير معتمدة مهما بذل من جهد ومهما كان الجهاز دقيقاً والطريقة جيدة.

(٢,٨,١) تصغير الحجم Size Reduction

إذا كان حجم الجسيمات Particle Size أو كتلة العينة أكبر من أن يستخدم في التحليل فيجب تصغير الحجم إلى الحد الذي يسمح بإجراء التحليل. للحصول على

كمية أصغر للتحليل يمكن فرد العينة على سطح نظيف وتقسيمها إلى أرباع يؤخذ منها ربعان متقابلان ويتم خلطهما جيداً ثم تكرر العملية عدة مرات للحصول على عينة تحليل. يمكن تحوير هذه الطريقة لتطبق على السوائل المتجانسة وذلك بصبها في أربعة أوعية ويمكن أن تجرى هذه الطريقة آلياً.

هذا وقد أعدت جمعية المحللين الكيميائيين الرسميين AOAC الأمريكية تفاصيل إعداد عينات من أغذية معينة معدة للتحليل اعتماداً على طبيعة المادة الغذائية وعلى نوع التحاليل المطلوبة. وهناك عمليات تحضيرية كثيرة ومهمة يمارسها المحلل حسب الحاجة، فاللحوم تزال عنها العظام تماماً ويراعى عدم استخدام عينات صغيرة حيث يؤدي ذلك إلى فقد الرطوبة من عينات اللحوم الصغيرة في أثناء التحضير والعمليات الأخرى التي تليها. كما يجب حفظ عينات اللحوم المفرومة في أوعية زجاجية أو ما شابهها ذات أغطية محكمة. وعينات اللحوم الطازجة والمجففة والمدخنة بعد فصل اللحم عن العظام تمرر ثلاثة مرات في فرامة لحم سعة فتحاتها لا تزيد على ٣ مليمتر. ثم تخلط العينة خلطاً جيداً ويتم التحليل بعدها مباشرة، وفي حالة تعذر ذلك تحفظ العينة مبردة في وعاء زجاجي محكم. وعند الرغبة في تخزينها لفترات طويلة يمكن تجفيف العينات أو تجميدها.

وبالنسبة للأغذية الصلبة التي تحتوي على السكر فيجب طحن عينة السكر وتخلط جيداً بواسطة ملعقة المزج Spatula وتكسر الكتل الصغيرة بواسطة الهون ويد الهون.

أما بالنسبة للفواكه والخضروات الطازجة فتتم إزالة الأتربة أو الرمال العالقة بها أو تغسل أو تمسح بالقماش المبلل ويجب التذكير بأن كثرة الغسيل قد تؤدي إلى فقدان بعض المواد الصلبة الذائبة. والأسماك الكبيرة تنظف ثم تزال قشورها

وأحشائها بينما تستعمل الأسماك الصغيرة جميعها. والبيض السائل يفصل من القشرة، وتزال عن عصير الفواكه أي مواد عالقة أو رواسب ظاهرة فيها بواسطة الترشيح، أما الفواكه والخضروات المعلبة فتفصل إلى جزئيها الصلب والسائل بواسطة منخل، أما إذا أريد التحليل للمجموع الكلي فيمزج الصلب والسائل ويهرس. أما الأسماك البحرية المعلبة بالمحلول الملحي أو بالزيت فيجري فصل السائل عن الصلب بواسطة منخل أيضاً.

تمزج جميع هذه العينات وتخلط خلطاً جيداً قبل أخذ العينة للتحليل فالأغذية السائلة تمزج محتوياتها وهي داخل القنينة أو العلبة قبل التحليل. أما الحليب فيجب مزجه جيداً لأن الدهن يطفو إلى الأعلى خلال أوقات الانتظار فإذا لم يتجانس عند المزج فعندها يسخن الحليب على درجة ٣٨°م في حمام مائي مع الاستمرار بالخلط باستعمال قضيب زجاجي ثم تؤخذ عينة التحليل.

أما الدهون الصلبة فتذوب بالحرارة وترشح وهي ساخنة لفصل المواد الغريبة عنها بعد خلطها جيداً. أما الزبدة فتجرى لها مرحلة تمييع على حمام مائي وترج أثناء التمييع لإعادة مزج أي كمية من الدهون المفصولة عنها بعدها تبعد عن الحمام المائي وترج أثناء تبريدها لحين الحصول على قوام كريمي متجانس. ويؤخذ من الجبن الصلب العينة الممثلة بواسطة آلة الحفر Drill أما الجبن الطري فبواسطة التقطيع أما الأغذية الجافة كالطحين فتخلط بالتدوير المستمر للمحتويات، أما إذا كانت المساحيق متكتلة بعضها على بعض فيجب إعادة تفتيتها وإمرارها ثابتة من خلال منخل مع الحرص الزائد على عدم تغيير محتوى الرطوبة أثناء هذه العملية.

و تتوافر العديد من أجهزة الطحن أو الفرم أو التنعيم التي يهدف استعمالها إلى تصغير حجم الحبيبات (الجسيمات) لعينة التحليل والحصول على عينة متجانسة.

ولتجنيس العينات الرطبة مثل الخضروات الورقية والقرنية الجذرية تستخدم المقطعة الحوضية Bowl Cutter وفرامة اللحم Meat Mincer ومنعمات الأنسجة Tissue Grinder والهاون ويد الهاون Pestle and Mortar والخلاطات مثل خلاط وارنج Waring Blender. أما بالنسبة للعينات الجافة فيفضل استخدام الهاون ويد الهاون والطواحين المختلفة.

تختلف الطواحين حسب طريقة عملها وتصنف كالآتي:

الطاحونة الحفارة Burr mill

الطاحونة المطرقية Hammer mill

الطاحونة الدوارة Impeller mill

الطاحونة الحلزونية Cyclone mill

الطاحونة التصادمية Impact mill

طاحونة الطرد المركزي Centrifugal mill

وتتراوح طرق طحن المواد الجافة من طرق بسيطة كالهاون ويد الهاون إلى الطاحونة المطرقية التي تعمل بالكهرباء. وتدوم الطواحين المطرقية طويلاً كما أنها تكون فعالة في طحن الحبوب والأغذية الجافة بينما يمكن طحن العينات الصغيرة إلى طحين ناعم بواسطة الطواحين ذات الكرات Ball Mills حيث يملأ نصف الوعاء بكرات السيراميك ثم يوضع الغذاء بعدها ليسحق بالحك المتواصل وقد تحتاج هذه العملية لساعات وأحياناً لأيام للحصول على عينة مطحونة بشكل مرضٍ. أما الطاحونة ذات الكرات والمبردة Chilled Ball Mill فيستفاد منها في سحق العينات المجمدة بدون تجفيف أولي، وتمتاز هذه الطاحونة بتقليل أثر التغيرات الكيماوية التي تنتج عن ارتفاع الحرارة والناتج من عملية الطحن. وهناك خيار ثاني وهو طحن المواد

الجافة باستخدام طواحين الطرد المركزي فائقة السرعة Ultracentrifugal Mill، بواسطة السحق والتصادم والقص. تدخل المادة الغذائية إلى غرفة الطحن بواسطة أنبوب تغذية ثم يصغر الحجم بواسطة الدوارات Rotors. وعند الوصول إلى حجم الحبيبات المناسب تجمع الحبيبات بواسطة قوة الطرد المركزي في وعاء التجميع. أما الكميات الكبيرة فيمكن طحنها بواسطة الطاحونة الحلزونية.

يمكن ضبط حجم الحبيبات في بعض الطواحين بواسطة ضبط المسافة بين المثاقب أو السكاكين أو بواسطة حجم المش Mesh Size (المش = عدد الثقوب في البوصة الطولية) ويراعى أن يكون حجم حبيبات عينة التحليل للأغذية الجافة في حدود ٢٠ مش Mesh عندما يكون الغرض من التحليل هو تقدير الرطوبة أو البروتين أو الأملاح المعدنية، بينما يفضل أن يكون حجم حبيبات عينة التحليل في حدود ٤٠ مش عند الرغبة في تقدير الدهن والكربوهيدرات. ومما تجدر ملاحظته أن طحن أو فرم العينات الرطبة قد يؤدي إلى فقد بعض رطوبتها وإلى بعض التغيرات الكيميائية فيها، الأمر الذي يستدعي تجفيفها قبل طحنها. كما قد يكون مناسباً طحن العينة وهي مجمدة في بعض الأحيان حيث يعمل ذلك على تقليل الفرص لأي تغيرات قد تحدث للعينة. كما يراعى أيضاً أن لا يؤدي الطحن أو الفرم إلى رفع درجة الحرارة في عينة التحليل ولهذا الغرض وجدت المطاحن المبردة Chilled Mills كما يمكن تلافي رفع درجة الحرارة بتجنب طحن كميات كبيرة من العينة في المرة الواحدة. وفي أثناء تجهيز العينة فإنه من الأهمية بمكان مراعاة عدم فقد أو اكتساب المادة الغذائية للرطوبة أو فقدها للمواد الطيارة وكذا الحيلولة دون حدوث تغيرات إنزيمية محسوسة، كذلك فإنه ينبغي تجنب تلوث المادة الغذائية أثناء إعدادها وتجهيزها للتحليل بأي من الملوثات الميكروبية أو المعدنية وينصح أن تكون كل الأدوات المعدنية المستخدمة في

تجهيز العينة مصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ بقدر المستطاع. وحديثاً أمكن استخدام الموجات فوق الصوتية Ultrasonic Waves لتفتيت العينات الغذائية الجافة. وفي حالة البقوليات غالباً ما يتم فصل القشرة عن الفلقات Dehulling بحيث يتم تحليل كل مكون منهما على حدة. أما بالنسبة للمواد الرطبة فإنه يمكن إجراء عملية تجزئة Disintegration عن طريق استخدام هارسات الأنسجة كما يمكن استخدام القاطعات Cutters للخضروات الورقية والدرنات والجذور اللحمية وكذا استخدام مفارم اللحوم للفواكه والجذور ومنتجات اللحوم. وبالنسبة للمواد التي يتم الحصول فيها على اللب Pulping فإنه يجب تحاشي دخول الهواء إلى العينة لمنع حدوث أكسدة للمركبات الحساسة بها.

ومن الاتجاهات الحديثة في إعداد العينات للتحليل استخدام إنزيمات السليوليز Cellulase النقية والتي تساعد في تفتيت العينات الغذائية وهناك أيضاً الإنزيمات المحللة للبروتين Proteases والكربوهيدرات Carbohydrases.

وهناك أيضاً مركبات كيماوية متعددة تستعمل في تفكيك إذابة العينات الغذائية منها اليوريا Urea والبايردين Pyridine والفينول Phenol وغيرها وكلها تستخدم في تهيئة العينة لأجل التحليل.

(٢,٩) حفظ العينة Sample Preservation

غني عن الذكر أنه يفضل تحليل العينات الغذائية بعد سحبها تواً بيد أنه يصعب في كثير من الأحوال إجراء التحاليل مباشرة بعد سحب العينة وقد يرجع ذلك إلى عدة أسباب منها بعد المكان الذي أخذت فيه العينة عن مختبر التحليل وصعوبة عمليات تحضير العينات أو كثرة عددها أو ضعف إمكانات المختبر ...الخ،

كل ذلك قد يضطر المحلل إلى تأجيل عمليات التحليل. وقد يؤدي هذا التأجيل إضافة إلى أمور أخرى إلى حدوث تغيرات في العينات المسحوبة وهذه قد تشمل تغيرات إنزيمية وأخرى فيزيوكيماوية وتغيرات ميكروبية.

(٢,٩,١) تثبيط نشاط الإنزيمات Enzyme Inactivation

تحتوي كثير من الأغذية على إنزيمات والتي قد تحتفظ بنشاطها وبالتالي قد تؤثر مباشرة على بعض المكونات الغذائية تحت التحليل. لذلك يجب وقف نشاط تلك الإنزيمات وتثبيطها باستخدام طرق تعتمد على طبيعة المادة الغذائية تحت التحليل. وهناك بعض الإنزيمات التي يتم تثبيطها ببعض المركبات العضوية أو غير العضوية أو بالتمليح أو التلاعب بالرقم الهيدروجيني pH أو بالمعاملة الحرارية أو بالتجميد (-٢٠°م إلى -٣٠°م) أو بواسطة العوامل المختزلة.

(٢,٩,٢) التغيرات الكيماوية والفيزيوكيماوية Physiochemical Changes

تمثل الدهون مشاكل كثيرة عند إعداد العينات للتحليل. أولاً من الصعوبة بمكان طحن العينات التي تحتوي على نسبة عالية من الدهون وقد تحتاج إلى تجميدها وطحنها وهي جامدة. أما الدهون عديمة التشبع Unsaturated فهي حساسة للأكسدة Oxidation ولذلك يجب حمايتها وذلك بحفظها تحت غاز النيتروجين أو تحت التفريغ كذلك يمكن استخدام مضادات الأكسدة إذا كانت لا تؤثر في نتائج التحليل. ويراعى نقل العينات في صندوق مبرد Ice Boxes وعازل للحرارة ومن ثم حفظها في الثلاجة أو المجمد لحين التحليل. ومن الأفضل تحليلها مباشرة إن كان ذلك ممكناً.

(٢,٩,٣) التلوث الميكروبى Microbial Contamination

توجد الجراثيم القادرة على النمو في جميع الأغذية تقريباً وقد تغير في مكونات عينة الغذاء. كما تتواجد الميكروبات على جميع الأسطح باستثناء المعقمة لذلك قد ينتج

التلوث بسبب السطح الذي تحضر عليه العينة. ويعتبر التلوث الميكروبي ذا أهمية خاصة ويجب تجنبه في العينات الخاصة بالفحص الميكروبي. ويعتبر التجميد والتجفيف والحفظ بالمواد الحافظة من أكثر الطرق المستخدمة للسيطرة على التلوث الميكروبي لعينات التحليل. وتعتمد طرق حفظ العينة من التلوث الميكروبي على طبيعة الغذاء، ونوع التلوث المحتمل ومدة وظروف التخزين وكذلك على نوع التحليل المراد القيام به.

الفصل الثالث

طرق قياس تركيز أيون الهيدروجين pH والحموضة المعايرة Titratable Acidity

(٣,١) مقدمة

توجد طريقتان للتعبير عن حموضة الأغذية وهما تركيز أيون الهيدروجين (أو الرقم الهيدروجيني) pH والحموضة المعايرة Titratable Acidity. وأي منهما لها طريقة منفصلة للتقدير وله تأثير معين على جودة الغذاء، فالحموضة المعايرة تختص بقياس التركيز الكلي للحامض في المادة الغذائية ويتم تقدير هذه الكمية بمعايرة الأحماض الموجودة في العينة مع قاعدة قياسية. ويفضل قياس الحموضة المعايرة على الـ pH في معرفة تأثير الحموضة على نكهة المادة الغذائية.

تنشأ في الأغذية محاليل منظمة طبيعية معقدة وهي التي تؤثر في الطريقة التي نعبر بها عن تركيز أيون الهيدروجين [H^+] (الوحدة الأساسية للحموضة). وحتى في غياب الفعل المنظم Buffering Action فإن أقل من ٣٪ من أي حامض غذائي هي التي تتأين Ionized إلى كاتيونات هيدروجين H^+ والقاعدة المرافقة لها Conjugated base. وهذه النسبة تنقص إلى أبعد من هذا بتأثير المحاليل المنظمة. ترتبط أيونات الهيدروجين H^+ مع الماء في المحاليل المائية لتكون أيونات الهيدرونيوم H_3O^+. لتركيز أيون الهيدرونيوم تأثير على نمو الميكروبات في الأغذية أكثر من تأثير الحموضة

المعايرة. وقد قادت الحاجة لقياس تركيز أيون الهيدرونيوم إلى المفهوم الآخر للحموضة وهو مفهوم الـ pH. وفي الطبيعة فإن تركيز أيون الهيدرونيوم يأخذ درجات تمتد من ١ إلى ١٤. إن مصطلح الـ pH هو صورة حسابية مختزلة للتعبير عن المدى العريض لتركيز أيون الهيدرونيوم في رموز مختصرة ومفيدة. وفي تحليل الأغذية الحديث تقدر الـ pH بواسطة جهاز قياس الـ pH (pH meter) بجانب تقديرها بواسطة استخدام الدليل (Indicators).

(٣,٢) حسابات تفاعلات التعادل

وحدات التركيز

إذا أردنا عمل تقديرات كمية لمكونات الغذاء المختلفة يجب أن يحضر منها محاليل بتراكيز محددة بدقة ثم تخفف تلك المحاليل إلى التركيز العملي المطلوب. ويحتوى الجدول (٣,١) على معظم المصطلحات المستخدمة في التعبير عن التركيز. وتعتبر المولارية والعيارية من أكثر مصطلحات المواصفات العالمية (SI) المستخدمة في تحليل الأغذية ولكن يمكن أيضاً التعبير عن تركيز المحاليل بواسطة النسبة المئوية. لكن المهم أن يكون المحلل قادراً على التحويل بين نظام الوحدات المختلفة.

المولارية (M) هي وحدة تركيز تمثل عدد مولات المادة المذابة لكل لتر محلول. أما العيارية (N) فهي وحدة تركيز تمثل عدد مكافئات المادة المذابة لكل لتر محلول.

وفي المحاليل الحمضية والقلوية تمثل العيارية تركيز أو عدد مولات أيونات الهيدروجين (H^+) أو الهيدروكسيل (OH^-) لكل لتر والتي يمكن تبادلها في تفاعل تبادلي حين يصل إلى نهايته. أما بالنسبة لتفاعلات الأكسدة والاختزال فتمثل العيارية تركيز أو عدد معدلات الإلكترونات في اللتر والتي يمكن تبادلها حين يصل التفاعل إلى نهايته. وفيما يلي بعض الأمثلة للمولارية مقابل العيارية:

الجدول رقم (٣,١). المصطلحات المستخدمة للتعبير عن التركيز.

الوحدة	الرمز	التعريف	العلاقة
المولارية Molarity	M	عدد مولات المادة المذابة لكل لتر محلول	$M = \frac{\text{Moles}}{\text{Liter}}$
العيارية Normality	N	عدد مكافئات المادة المذابة لكل لتر محلول	$N = \frac{\text{Equivalents}}{\text{Liter}}$
النسبة المئوية بالوزن Parts per hundred	Wt% wt/vol(%)	نسبة وزن المذاب إلى وزن المذاب زائداً وزن المذيب ×١٠٠	$wt\% = \frac{\text{W solute} \times 100}{\text{Total wt}}$
		نسبة وزن المذاب إلى الحجم الكلي ×١٠٠	$wt\% = \frac{\text{W solute} \times 100}{\text{Total vol}}$
النسبة المئوية بالحجم	vol%	نسبة حجم المذاب إلى الحجم الكلي	$vol\% = \frac{\text{vol solute} \times 100}{\text{Total vol}}$
جزء من المليون Parts per million	ppm	نسبة المذاب (وزن أو حجم) إلى الوزن (أو الحجم) الكلي×١٠٠	$ppm = \frac{\text{mg solute}}{\text{kg solution}}$ $or = \frac{\mu g \text{ solute}}{\text{g solution}}$ $or = \frac{\text{mg solute}}{\text{Liter solution}}$ $or = \frac{\text{ug solute}}{\text{ml solution}}$

تابع الجدول رقم (٣,١).

الوحدة	الرمز	التعريف	العلاقة
جزء من البليون Parts per billion	ppb	نسبة المذاب (وزن أو حجم) إلى الوزن الكلي أو الحجم الكلي × ١٠^٩	$ppb = \frac{ug\ solute}{Kg}$ $or = \frac{ug\ solute}{Liter}$ $or = \frac{ng\ solute}{g}$ $or = \frac{ng\ solute}{ml\ solution}$

(٣,٣) تفاعلات الحموضة والقلوية

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

(٣,٤) تفاعلات الأكسدة / الاختزال

مثلاً التفاعل:

$$SO_4^{2-} + 2I^- + 3H^+ \rightleftharpoons HSO^-_3 + I_2 + H_2O$$

أيودين (1M) =

أيودين (2N) ← ٢ مكافئات من الإلكترونات اكتسبت بواسطة مول من الأيودين

HSO_3 (1M) =

بايسلفايت(2N) ← ٢ مكافئات من الإلكترونات فقدت بواسطة مول من البايسلفايت

هناك الكثير من التقديرات الكمية في مجال تحليل الأغذية تستخدم مفهوم المكافئات Equivalents لمعرفة كمية مادة مجهولة من العينة. ومن أهم هذه التقديرات تفاعلات الحموضة / القلوية "Acid-base Reactions" وتفاعلات الأكسدة/ الاختزال "Oxidation-reduction Reactions".

يعرف الوزن المكافئ "Equivalent Weight" بأنه الوزن الجزيئي "Molecular Weight" مقسوم على عدد المكافئات لكل مول. فمثلاً، يساوي الوزن الجزيئي لحمض الكبريتيك (H_2SO_4) ٩٨,٠٨ جم وبما أن هناك اثنين من المكافئات لكل مول من حمض الكبريتيك فيصير الوزن المكافئ لحمض الكبريتيك هو ٤٩,٥٤ جم. وفي جدول رقم (٣,٢) نجد قائمة أوزان مكافئة وأوزان جزيئية للأحماض المهمة لتحليل الأغذية.

أما التركيز معبراً عنه بالنسبة المئوية فيعرف بأنه وزن المادة المذابة لكل ١٠٠ مل أو جم عينة. إذاً يعبر عن النسبة المئوية للمحاليل أو المواد الصلبة وتكون على أساس الحجم أو الوزن. وعندما تكون النسبة المئوية أقل بكثير من ١٪ فمن الأفضل التعبير عن التركيز بجزء من المليون (ppm) أو جزء من البليون (ppb) أو حتى جزء من الترليون (ppt).

الجدول رقم (٣,٢). الأوزان الجزيئية والمكافئة لبعض الأحماض الشائعة في الأغذية.

الحامض	الصيغة الكيماوية	الوزن الجزيئي	عدد المكافئات لكل مول	الوزن المكافئ
حمض الستريك اللامائي	$H_3C_6H_5O_7$	١٩٢,١٢	٣	٦٤,٠٤
حمض الستريك المائي	$H_3C_6H_5O_7.H_2O$	٢١٠,١٤	٣	٧٠,٠٥
حمض الخليك	$HC_2H_3O_2$	٦٠,٠٦	١	٦٠,٠٦
حمض اللاكتيك	$HC_3H_5O_3$	٩٠,٠٨	١	٩٠,٠٨
حمض الماليك	$H_2C_4H_4O_5$	١٣٤,٠٩	٢	٦٧,٠٥
حمض الأوكساليك	$H_2C_2O_4$	٩٠,٠٤	٢	٤٥,٠٢
حمض الطرطريك	$H_2C_4H_4O_6$	١٥٠,٠٩	٢	٧٥,٠٥
حمض الاسكوربيك	$H_2C_6H_6O_6$	١٧٦,١٢	٢	٨٨,٠٦
حمض الهيدروكلوريك	HCL	٣٦,٤٧	١	٣٦,٤٧
حمض الكبريتيك	H_2SO_4	٩٨,٠٨	٢	٤٩,٠٤
حمض الفوسفوريك	H_3PO_4	٩٨,٠٠	٣	٣٢,٦٧
فثلات البوتاسيوم الحامضية	$KHC_8H_4O_4$	٢٠٤,٢٢	١	٢٠٤,٢٢

(٣,٥) معادلات التعادل (Neutralization) والتخفيف (Dilution)

هناك قوانين عامة لتقييم التفاعلات عند درجة التوازن Equilibrium Reactions مثل تفاعلات التعادل والتخفيف. عند التعادل التام بين مادتين فإن عدد مليمكافئات أحد المواد المتفاعلة (mEq) يساوي عدد مليمكافئات المادة المتفاعلة الأخرى، ويمكن التعبير عن ذلك رياضياً بـ:

$$(\text{ml of X})(\text{N of X}) = (\text{ml of Y})(\text{N of Y})$$

أو $$ح_{س} \times ع_{س} = ح_{ص} \times ع_{ص} \qquad (١)$$

ويمكن استخدام المعادلة السابقة (١) في حل مسائل التخفيف حيث تمثل المادة (X) المحلول المركز وتمثل المادة (Y) المحلول بعد تخفيفه.

(٣,٦) توازن الحامض والقلوي

إن نظرية برونستد / لوري للتعادلات الكيميائية تعتمد على التعاريف التالية للحمض والقاعدة:

الحمض: هو مادة لها المقدرة على منح (Donating) البروتونات. وفي النظم الغذائية فإن أهم مانح للبروتونات هو أيون الهيدروجين.

القلوي: هو المادة التي تقبل البروتونات.

أما التعادل فهو التفاعل بين حامض وقاعدة لتكوين ملح:

(٢) $$HCl + NaOH \rightleftharpoons Na\,Cl + H_2O$$

وفي المحاليل المائية تكون الأحماض بروتونات مائية تسمى أيونات هيدرونيوم (H_3O^+) وتكون القلويات (القواعد) أيونات هيدروكسيد (OH^-).

(٣) $$H_3O^+ + OH^- \rightleftharpoons 2H_2O$$

وعند أي درجة حرارة يكون ناتج تفاعل التركيز المولاري لأيونات الهيدرونيوم وأيونات الهيدروكسيل ثابتاً. ويعرف بثابت الناتج الأيوني للماء (K_w) ويساوي:

(٤) $$[H_3O^+]\,[OH^-] = K_w$$

وتتأثر قيمة K_w بدرجة الحرارة. فمثلاً على درجة حرارة ٢٥°م فإن $K_w = ١٠^{-١٤} \times ١,٠٤$ بينما على درجة حرارة ١٠٠°م فإن $K_w = ١٠^{-١٤} \times ٥٨,٢$.

ويقود مفهوم الـ K_w أعلاه إلى السؤال عن تركيزات الـ $[H_3O^+]$ والـ $[OH^-]$ في الماء النقي. أوضحت التجارب أن تركيز أيون الهيدرونيوم $[H_3O^+]$ يساوي بالتقريب $١٠\times١,٠^{-١٤}$ مولر والذي يساوي تركيز أيون الهيدروكسيل أيضاً ($١٠\times١,٠^{-١٤}$) على درجة حرارة ٢٥°م. ولأن تركيز الأيونين (الهيدرونيوم والهيدروكسيل) متساوياً لذلك يعتبر الماء النقي متعادلاً (Neutral). ولنفترض أننا أضفنا نقطة من الحامض إلى هذا الماء النقي فإن تركيز أيون الهيدرونيوم سيزيد، ولكن K_w ستظل ثابتة ($١٠\times١,٠^{-١٤}$) مظهرة نقص في تركيز أيون الهيدروكسيل. وبالعكس لو افترضنا إضافة نقطة من القلوي إلى الماء النقي فإن تركيز أيون الهيدرونيوم $[H_3O^+]$ سينقص بينما يزيد تركيز أيون الهيدروكسيل $[OH^-]$، ويبقى الـ K_w محتفظاً بثباته ($١٠\times١,٠^{-١٤}$) على درجة حرارة ٢٥°م.

كيف استنتج مصطلح الـ (pH) من الاعتبارات السابقة؟ للإجابة على هذا السؤال يلزمنا أولاً ملاحظة تراكيز أيون الهيدرونيوم $[H_3O^+]$ وتراكيز أيون الهيدروكسيل $[OH^-]$ في عدد من المواد الغذائية كما هو موضح في الجدول أدناه.

جدول رقم (٣,٣). تركيز أيونات الهيدرونيوم والهيدروكسيل و K_w في بعض الأغذية على درجة حرارة ٢٥°م.

المادة الغذائية	$[H_3O^+]$ (١)	$[OH^-]$ (١)	K_w
كولا	$٣-١٠\times٢,٢٤$	$١٢-١٠\times٤,٦٦$	$١٤-١٠\times١$
عصير عنب	$٣-١٠\times٥,٦٢$	$١٢-١٠\times١,٧٨$	$١٤-١٠\times١$
سفن أب	$٣-١٠\times٣,٥٥$	$١٢-١٠\times٢,٨٢$	$١٤-١٠\times١$
ماء نقي	$٧-١٠\times١,٠٠$	$٧-١٠\times١,٠٠$	$١٤-١٠\times١$
ماء الصنبور	$٨-١٠\times٤,٧٨$	$٦-١٠\times٢,٠٩$	$١٤-١٠\times١$
حليب الماغنزيا (مضاد الحموضة)	$١١-١٠\times٧,٩٤$	$٤-١٠\times١,٢٦$	$١٤-١٠\times١$

(١) مول لكل لتر

(٣,٧) حساب الـ pH للكولا

بتعويض الـ $[H^+]$ في معادلة الـ pH:

$$pH = -\log (2.24\times10^{-3})$$
$$pH = -\log (-2.65)$$
$$pH = 2.56$$

pH (٣,٨)

أدت القيم العددية في جدول الكيميائي السويدي سورنسن لتطوير نظام الـ pH في عام ١٩٠٩م.

وتعرف الـ pH، أو الرقم الهيدروجيني، بأنه عبارة عن سالب اللوغاريثم لتركيز أيون الهيدروجين:

$$pH = -\log [H^+] \text{ or } pH = -\log [H_3O^+]$$
$$\text{and } pOH = -\log [OH^-]$$

ففي الماء النقي يقدر تركيز أيونات الهيدرونيوم بـ ١×١٠^{-٧} وهذا يعني أن الرقم الهيدروجيني (pH) هو (٧) بينما المحلول الحامضي أقل من (٧) والقلوي أكثر من (٧). أما إذا توفرت قراءة الرقم الهيدروجيني فمن الممكن حساب تركيز أيونات الهيدروجين بالعلاقة التالية:

$$[H_3O^+] = 10^{-pH}$$

مثال (١):

لو كان تركيز حمض الهيدروكلوريك ٠,٠٠٨ مول فما هو الرقم الهيدروجيني لهذا الحامض؟

$$pH = -\log [H_3O^+]$$
$$= -\log (8\times10^{-3})$$
$$= -\log 8 - \log 10^{-3}$$
$$= -0.9 + 3$$
$$= 2.1$$

مثال (٢):

لو كان pH لمادة ما ٩,٨ فما هو تركيز أيون الهيدروجين $[H_3O^+]$.

$$[H_3O^+] = 10^{-pH} = 10^{-9.8} = 10^{-10+0.2} = 10^{-10}\times10^{+0.2} = 1.59\times10^{-10}$$

جدول رقم (٣,٤). العلاقة بين $[H^+]$[1] مقابل pH و $[OH^-]$ مقابل pOH على درجة حرارة ٢٥°م.

$[H^+]$	pH	$[OH^-]$[1]	pOH	ملاحظات
1×10^{0}	صفر	1×10^{-14}	١٤	زيادة الحموضة
1×10^{-1}	١	1×10^{-13}	١٣	
1×10^{-2}	٢	1×10^{-12}	١٢	
1×10^{-3}	٣	1×10^{-11}	١١	
1×10^{-4}	٤	1×10^{-10}	١٠	
1×10^{-5}	٥	1×10^{-9}	٩	
1×10^{-6}	٦	1×10^{-8}	٨	
1×10^{-7}	٧	1×10^{-7}	٧	محلول متعادل
1×10^{-8}	٨	1×10^{-6}	٦	
1×10^{-9}	٩	1×10^{-5}	٥	
1×10^{-10}	١٠	1×10^{-4}	٤	زيادة القلوية
1×10^{-11}	١١	1×10^{-3}	٣	
1×10^{-12}	١٢	1×10^{-2}	٢	
1×10^{-13}	١٣	1×10^{-1}	١	
1×10^{-14}	١٤	1×10^{0}	صفر	

(١) مول لكل لتر. لاحظ أن ناتج $[H^+]\times[OH^-]$ دائماً يساوي 1×10^{-14}

حساب $[H^+]$ لمادة ما لها pH = 4.3

$$pH = -\log [H^+]$$
$$4.3 = -\log [H^+]$$
$$-4.3 = \log [H^+]$$
$$-4.3 = 0.70 - 5 = \log [H^+]$$
$$10^{-5} = [H^+]\times 5$$
$$10^{-5}\ M\times[H^+] = 5$$

بعض الطلاب يحصل لهم ارتباك وخلط في مفهوم الـ pH ولكن من المفيد دائماً أن نتذكر أن قيمة الـ pH هي قيمة لوغاريثمية وأن أي تغيير في حدود وحدة واحدة في الـ pH هو فعلياً تغيير عشرة أمثال في تركيز أيون الهيدروجين. كما أنه من المهم معرفة أن الـ pH والحموضة المعايرة مفهومان مختلفان. فالأحماض القوية مثل حمض الهيدروكلوريك والكبريتيك والنتريك يحصل لها تفكك (dissociation) كامل على pH = ١. أما بالنسبة لأحماض الأغذية مثل الستريك والماليك والتارتاريك والخليك فيحصل لها تفكك بنسبة قليلة في المحاليل. فعند مقارنة محاليل عشر عياري (٠,١ع) من حمض الهيدروكلوريك والخليك نجد أن حمض الهيدروكلوريك يتفكك تماماً في المحلول ليعطي pH = ١,٠٢ عند درجة حرارة ٢٥°م بينما يتفكك فقط ١٪ من حمض الخليك ليعطي pH = ٢,٨٩ عند درجة حرارة ٢٥°م:

(٥) $HCl \rightleftharpoons H^+ + cl^-$

(٦) $CH_3COOH \rightleftharpoons H^+ + CH_3COO^-$

(٣,٩) جهاز قياس الرقم الهيدروجيني (pH Meter)

النشاط مقابل التركيز Activity versus Concentration

عند استخدامنا لأقطاب الـ pH (pH electrodes)، يجب أن نأخذ بعين الاعتبار مفهوم النشاط مقابل التركيز. إن مصطلح "النشاط" (Activity) هو مقياس لكل صور الأيونات (الحرة والمرتبطة) في المحلول. ويسبب تفاعل الأيونات مع بعضها البعض أو مع المذيب فإن التركيز أو النشاط الفعال يكون أقل من الفعلي ولكن قيم النشاط والتركيز تتقارب عند التخفيفات الكبيرة. ويمكن حصر العلاقة بين النشاط والتركيز في المعادلة التالية:

$$A = \gamma C$$

بحيث إن :

A = النشاط

C = التركيز

و γ = معامل النشاط

ومعامل النشاط (γ) هو حالة الشدة الأيونية، والشدة الأيونية نفسها هي دالة التركيز لكل الأيونات في المحلول.

(٣,٩,١) القواعد العامة لجهاز قياس الـ pH

إن جهاز قياس الـ pH (pH Meter) كما في الشكل (٣,١) هو مثال جيد لجهاز قياس فرق الجهد (Potentiometer) (وهو جهاز يقيس الفولتية في حالة التيار المتناهي الصغر). والقاعدة الأساسية لقياس فرق الجهد تشمل استخدام خلية إلكتروليتية تتكون من قطبين مغمورين في محلول الاختبار، فتتولد فولتية (جهد) مرتبطة بالتركيز الأيوني للمحلول. ولأن مرور التيار في المحلول قد يؤدي لتغير في تركيز الأيونات المجاورة للقطب أو ينتج عنه تفاعلات عكسية لذلك يقاس هذا الجهد تحت ظروف تأثير تيار متناهي الصغر ($١٠^{-١٢}$ أمبير أو أقل) ويحتاج نظام الـ pH لأربعة أجزاء رئيسية:

١- قطب مرجع Reference Electrode.

٢- القطب الكاشف Indicator Electrode (ويكون حساساً للـ pH).

٣- جهاز قياس الفولتية للجهد Voltmeter ويكون قادراً على قياس فروقات صغيرة من فرق الجهد.

٤- العينة المراد قياس الـ pH لها.

وكما تلاحظ فقد تضمن هذا القياس قطبين وكل واحد من هذين القطبين قد تم تصميمه بكل دقة لتوليد جهد ثابت ومتطابق. ولهذا ففي غياب الأيونات الأخرى

فإن فرق الجهد بين القطبين يكون ثابتاً ويمكن حسابه بسهولة ويسر. ولكن أيونات الهيدرونيوم H_3O^+ تساهم في خلق جهد جديد عبر الغشاء الزجاجي الانتقائي للقطب الكاشف. وهذا يؤدي إلى تغيير في فرق الجهد بين القطبين بما يكون متناسباً لتركيز أيون الهيدرونيوم. والجهد الجديد الناتج من مجموع الجهود الفردية يسمى جهد القطب (Electrode Potential) ويسهل تحويله إلى قراءات pH.

ويقدر تركيز أيون الهيدروجين (وبتعبير أدق نشاط أيون الهيدروجين) من الفلطية التي تنشأ بين القطبين. وتربط معادلة نيرنست (Nernst) بين استجابة القطب والنشاط حيث:

$$E = E^{\circ} + 2.303 \frac{RT}{NF} \log A$$

حيث إن:

E = جهد القطب المقاس

E° = جهد القطب المقاس، وهو ثابت يمثل مجموع الجهود الفردية في النظام على درجة حرارة قياسية وتركيز أيون قياسي وتركيب قياسي للقطب.

R = ثابت الغاز العام، ٨,٣١٣ جول/ درجة/ جم وزن مولاري

F = ثابت فارادي، ٩٦,٤٩٠ كولومب لكل جم/ وزن مكافئ

T= درجة الحرارة المطلقة بالكالفين

N = عدد الشحنات على الأيون

A = نشاط الأيون المراد قياسه

بالنسبة للأيونات أحادية التكافؤ (مثل أيون الهيدرونيوم) على درجة حرارة ٢٥°م، تحسب العلاقة $2.303 \times (RT \div E)$ على أنها تساوي ٠,٠٥٩١ كما يلي:

$$\text{٠,٠٥٩١} = \frac{\text{٢٩٨}\times\text{٨,٣١٦}\times\text{٢,٣٠٣}}{\text{٩٦,٤٩٠}} \qquad (٩)$$

وهكذا فإن الفولطية الناتجة من نظام القطب هي دالة خطية للـ pH، حيث كان جهد القطب + ٥٩ ميليفولت (0.059 volt) لكل تغير لوحدة واحدة من الـ pH. وعند نقطة التعادل (pH = 7) فإن جهد القطب يساوي صفر ميليفولت. وعند pH=٦ فإن جهد القطب يساوي +٦٠ ميليفولت، بينما يكون جهد القطب +١٨٠ ميليفولت عند pH=٤. وعلى العكس فإنه عندما تكون الـ pH = ٨ فإن جهد القطب يساوي عندها −٦٠ ميليفولت.

ويجب التأكيد هنا على أن العلاقة المذكورة أعلاه بين الميليفولت والـ pH تظل صحيحة فقط عند درجة حرارة ٢٥°م وكل تغير في درجة الحرارة سوف يؤدي إلى تغير في قراءة الـ pH. فمثلاً عند درجة حرارة صفر مئوي يساوي جهد القطب ٥٤ ميليفولت بينما يكون ٧٠ ميليفولت على درجة حرارة ١٠٠°م وتزود أجهزة الـ pH الحديثة بجهاز حساس (منظم للحرارة) لمعالجة تأثير التغير في درجة الحرارة.

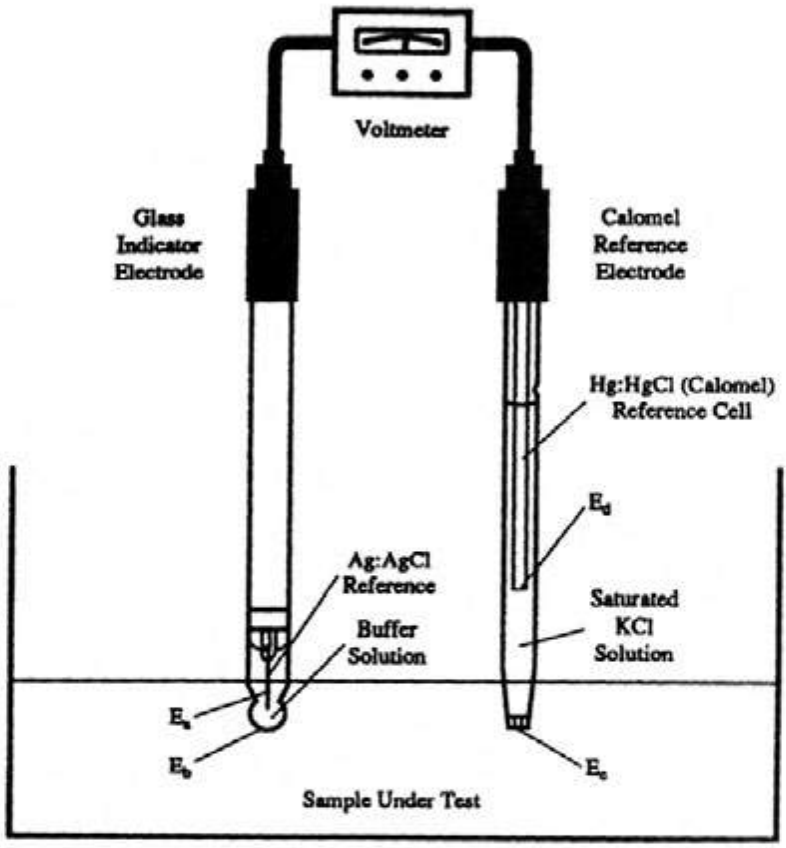
(٣,٩,٢) القطب المرجعي Reference Electrode

نحتاج إلى القطب المرجعي لاستكمال الدائرة الكهربائية في نظام الـ pH. ونصف الخلية (القطب المرجعي) هذه هي من أكبر الأجزاء التي تسبب المشاكل في أجهزة قياس الـ pH.

(٣,٩,٣) قطب الكالوميل المشبع Saturated Calomel Electrode

قطب الكالوميل المشبع (انظر الشكل رقم ٣,١) هو أكثر أنواع الأقطاب المرجعية شيوعاً وهو يعتمد على التفاعل العكسي التالي:

(١٠) $$Hg_2Cl_2 + 2e^- \rightleftharpoons 2Hg + 2Cl^-$$



شكل رقم (٣,١). جهاز قياس الـ pH

وتكون قيمة $E_{0.25^\circ C}$ لقنطرة كلوريد البوتاسيوم المشبع الملحية (Saturated KCl Salt Bridge) = + ٠,٢٤٤٤ فولت مقابل قطب الهيدروجين القياسي، وتكون معادلة نيرنست (Nernst) لهذا التفاعل كما يلي:

(١١) $$E = \frac{Eo - 0.059}{2\log [Cl^-]^2}$$

لذلك يلاحظ أن الجهد يعتمد على تركيز أيون الكلوريد والذي يسهل التحكم فيه باستخدام محلول مشبع من كلوريد البوتاسيوم (KCl) في القطب.

يتكون قطب الكالوميل المرجعي من ثلاثة أجزاء رئيسية:

١- سلك بلاتيني مغطى بمخلوط الكالوميل (Hg_2Cl_2).

٢- محلول التعبئة (كلوريد البوتاسيوم المشبع).

٣- وصلة منفذة يهاجر من خلالها محلول التعبئة ببطء إلى العينة المراد قياسها.

تصنع الوصلات من الخزف أو من المواد الليفية وتميل هذه الوصلات للانسداد مسببة استجابة غير ثابتة ونتائج غير صحيحة.

هناك قطب مرجعي آخر أقل استخداماً من قطب الكالوميل المرجعي ولكن له ميزات على الكالوميل وهو قطب (الفضة/ كلوريد الفضة) (Silver-silver Chloride Electrode) ولأن قطب الكالوميل غير ثابت في درجات الحرارة العالية (٨٠°م) وفي العينات عالية القلوية (pH>9). يجب استخدام قطب (الفضة/ كلوريد الفضة) في مثل هذه التطبيقات. وهذا القطب ذو نتائج متطابقة وغاية في الدقة ويعتمد على التفاعل التالي:

(١٢) $$AgCl\,(s) + e^- \rightleftharpoons Ag\,(s) + Cl^-$$

(٣,٩,٤) القطب الكاشف Indicator Electrode

أكثر الأقطاب الكاشفة المستخدمة في قياس الـ pH في الوقت الحالي هو القطب الزجاجي (Glass Electrode). ومن قبل كان يستخدم القطب الهيدروجيني وقطب الكوينهايدرون.

يرجع تاريخ القطب الزجاجي إلى عام ١٨٧٥م عندما قال لورد كلفين بفكرة التوصيل الكهربائي للزجاج. وبعد ٣٠ عاماً اكتشف كريمر جهد القطب الزجاجي

عندما لاحظ أنه عند وضع غشاء رقيق من الزجاج بين محلولين مائيين تكون جهد كهربائي حساس للتغيرات في الحموضة، وفيما بعد وجد أن هذا التفاعل يعتمد على تركيز أيونات الهيدروجين.

(٣,٩,٥) تصميم القطب الزجاجي

يتكون هذا القطب أيضاً من ثلاثة أجزاء:-

١- قطب (الفضة/ كلوريد الفضة Silver/Silver Chloride Electrode) مع وصلة من الزئبق كسلك يوصل بجهاز قياس فرق الجهد (Potentiometer).

٢- محلول منظم يحتوي على HCl (0.01N)، KCl (0.09N) ومحلول منظم من الخلات (Acetate) للمحافظة على pH ثابت.

٣- غشاء زجاجي حساس للتغير في الـ pH حيث يتغير الجهد (Eo) مع تغير pH المحلول المراد اختباره. عند استخدام القطب الزجاجي كقطب كاشف في قياسات الـ pH فإن الجهد المقاس (المقاس مقابل قطب الكالوميل) يكون متناسباً طردياً للـ pH طبقاً للمعادلة رقم (١١) صفحة (٦٧).

$$E = Eo + 0.059\ pH$$

القطب الزجاجي التقليدي يكون مناسباً لقياسات الـ pH في مدى يتراوح بين pH 1-9. ولكن هذه الأقطاب تكون حساسة عند قراءات الـ pH العالية، خاصة في وجود أيونات الصوديوم ولهذا فقد طوّر مصنعو الأجهزة قطب زجاجي حديث يصلح للاستخدام في نطاق pH واسع (صفر – ١٤) ويتميز بوجود خطأ تجريبي صغير جداً بسبب أيونات الصوديوم لا يتعدى ٠,٠١ من الـ pH على درجة حرارة ٢٥°م.

(٣,٩,٦) الأقطاب المدمجة Combination Electrodes

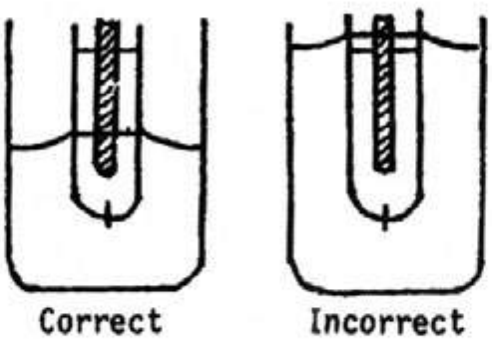
تستخدم معظم مختبرات التحليل في الآونة الأخيرة أقطاب مدمجة والتي تجمع بين القطب الكاشف والمرجعي مع مجس (Probe) حساس للحرارة في وحدة أو

مسبر واحد. وتوجد الأقطاب المدمجة في أشكال وأحجام مختلفة من المتناهي الصغر إلى الحجم الكبير ومن المصنوع من مادة الزجاج الخالص إلى البلاستيك وقد تكون مكشوفة الأطراف أو مغطاة لحمايتها من الكسر وتتباين استخداماتها من الخلايا الصغيرة أو الميكروسكوبية إلى المواد الكبيرة مثل اللحوم والجبن.

(٣,٩,٧) إرشادات لاستخدام جهاز قياس الـ pH

للحصول على نتائج دقيقة يجب معايرة الجهاز باستخدام محلولين منظمين (المعايرة ثنائية القراءة). يجب اختيار محلولين منظمين بحيث يكون الفرق بين رقم الـ pH بينهما حوالي ٣ وحدات pH وبحيث يتوقع أن يكون رقم الـ pH للعينة المراد قياسها بين pH المحلولين المنظمين. والمحاليل المنظمة شائعة الاستعمال ثلاثة: محلول منظم ذو pH = ٤ و ٧ و ٩ على درجة حرارة ٢٥°م. وغالباً ما تكون هذه المحاليل في زجاجات وردية وصفراء وزرقاء على التوالي.

وفي المعايرة وحيدة القراءة يجب اتباع إرشادات مصنّع جهاز الـ pH. يجب أولاً شطف القطب بماء مقطر عدة مرات ثم تجفيفه بمناديل ناعمة. ثم غمر القطب في المحلول المنظم (pH4) وتضبط القراءة بواسطة مؤشر الجهاز على pH المحلول المنظم. وتكرر هذه العملية حتى يكون الفرق بين قراءة الجهاز و pH المحلول المنظم أقل من ٠,١ وحدة pH. إذا لم تصل إلى هذه النقطة فإن الجهاز لا يعمل بكفاءة ويجب فحص القطب وخاصة القطب المرجع. كما يجب اتباع تعليمات المصنّع فيما يختص بحفظ (تخزين) القطب الكاشف. وفي حالة استخدام قطب الكالوميل المرجعي يجب أن يكون مستوى محلول الحفظ دائماً أقل بحوالي ٢سم من محلول كلوريد البوتاسيوم المشبع لتجنب سريان محلول الحفظ لداخل الإلكترود (انظر الشكل رقم ٣,٢).



الشكل رقم (٣,٢). الوضع الصحيح والخطأ لقطب الكالوميل في محلول الحفظ.

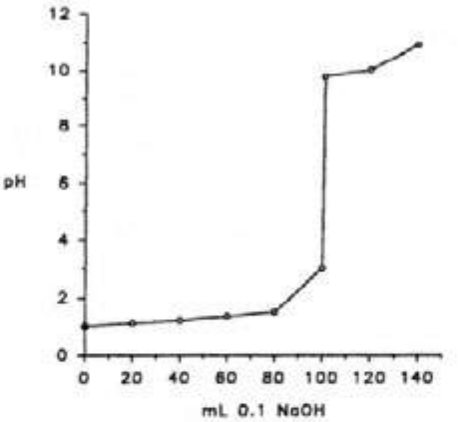
(٣,١٠) الحموضة المعايرة Titratable Acidity

اعتبارات عامة

يستخدم قياس الـ pH لتقدير نقطة النهاية في معايرة الحموضة/ القلوية. ويمكن إنجاز هذا مباشرة باستخدام جهاز الـ pH مع استخدام صبغة دليل. ولكمال فهم المعايرة نحتاج لخلفية علمية عن نظرية الحموضة.

(٣,١١) القدرة التنظيمية Buffering

نظرياً يمكن أن نقول أن مدى الـ pH يمكن أن يكون من −١ إلى ١٤ ولكن قراءات الـ pH أقل من ١ يصعب الحصول عليها، وهذا بسبب عدم التفكك الكامل لأيونات الهيدروجين في التركيزات الحمضية العالية. عند عيارية ١,٠ع (0.1N) يفترض أن يحصل تفكك كامل للأحماض القوية، لذلك فإن التفكك التكامل للحامض يحصل عند استخدام قاعدة قوية لمعايرة الحامض وعند أي نقطة في المعايرة فإن الـ pH تساوي تركيز أيون الهيدروجين للحامض المتبقي (انظر الشكل رقم ٣,٣).



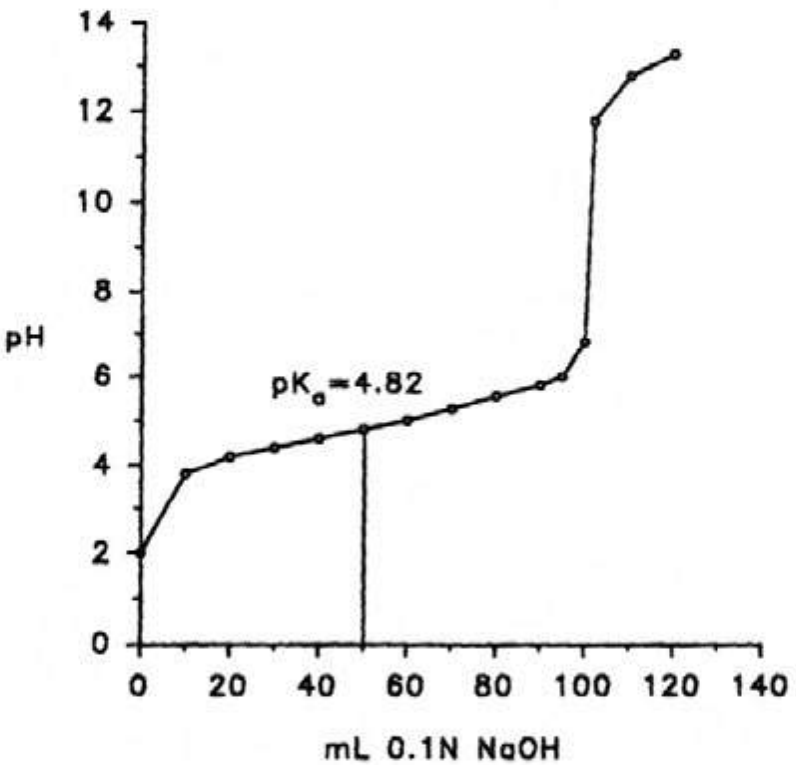
الشكل رقم (٣,٣). التفكك الكامل للحامض.

إن كل أحماض الأغذية هي أحماض ضعيفة، وأقل من ٣٪ من الهيدروجين القابل للتأين تتفكك من الجزيء الأصلي. وعندما تزاح أيونات الهيدروجين الحرة عن طريق المعايرة مع القلوي تدخل المحلول أيونات هيدروجين جديدة من الجزئيات الأصلية التي كانت غير متفككة. وهذا يؤدي إلى وقاية المحلول من التغير المفاجئ في الـ pH. وهذه الخاصية للمحلول في مقاومة التغير في الـ pH تسمى القدرة التنظيمية (Buffering). وتحدث ظاهرة القدرة التنظيمية في المواد الغذائية عندما يوجد حامض ضعيف وملحه في نفس الوسط. وبسبب هذه الظاهرة فإن عمل رسم بياني بالـ pH مقابل المحلول المعاير (Titrant) يكون أكثر تعقيداً في حالة الأحماض الضعيفة منه في حالة الأحماض القوية، على أنه يمكن التنبؤ بهذه العلاقة من معادلة هندرسون/ هازل بالك (Henderson-Hasselbalch):

$$pH = pKa + \log \frac{[A^-]}{[HA]} \qquad (١٣)$$

حيث تمثل [HA] تركيز الحامض غير المفكك و [A^-] تمثل تركيز ملحه وتعرف [A^-] أيضاً بالقاعدة المرافقة (Conjugated Base). ويتساوى تركيز القاعدة المرافقة مع

تركيز الحامض المرافق [H_3O^+] (Conjugated Acid). وتكون الـ pK_a هي الـ pH التي تتساوى عندها كميات الحامض غير المفكك والقاعدة المرافقة. وتشير المعادلة إلى أن أقصى قوة تنظيمية تحدث عندما تتساوى قيم الـ pH والـ pK_a. والرسم البياني التالي (شكل رقم ٣,٤) والذي يبين معايرة حامض خليك (١,٠ع) مع هيدروكسيد الصوديوم (١,٠ع) توضح هذه النقطة.

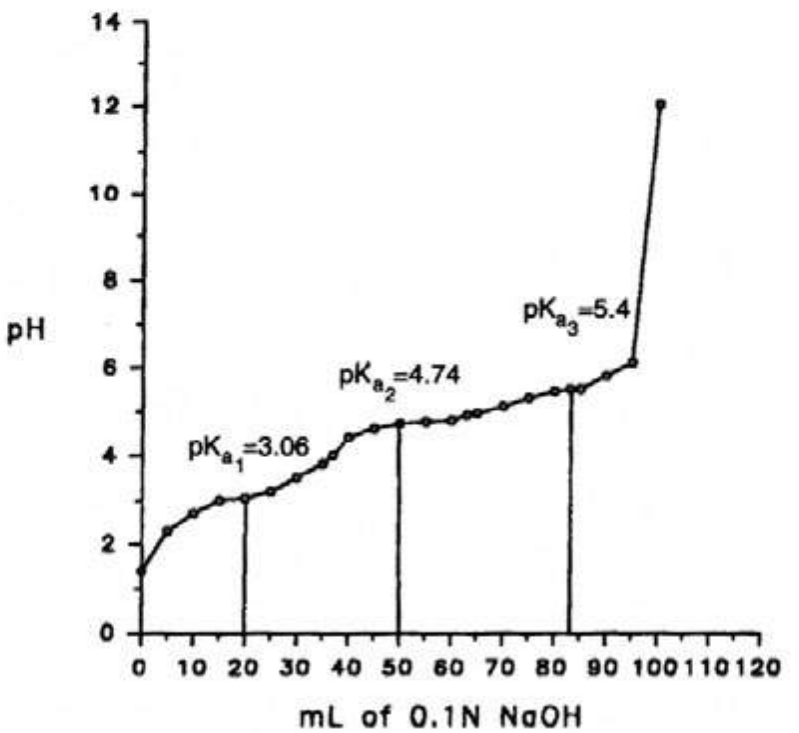


الشكل رقم (٣,٤). معايرة حمض ضعيف وحيد البروتون مع قاعدة قوية.

الأحماض ثنائية وثلاثية البروتون يكون لها اثنان وثلاثة مناطق تنظيمية، على التوالي. وفي الشكل رقم (٣,٥) التالي رسم بياني للـ pH مقابل محلول حمض الستريك.

إذا كانت مراحل الـ pK_a في الأحماض عديدة البروتونات تختلف بثلاثة أو أكثر من وحدات الـ pK_a فبإمكان معادلة هدرسون/ هازل بالك أن تتنبأ بالمساحة المسطحة التي تناظر كل مرحلة. ولكن المناطق الانتقالية بين المراحل تكون أكثر تعقيداً نسبة لوجود بروتونات وقواعد مرافقة تنشأ من حالات تفكك أخرى، وكنتيجة لذلك فإن معادلة هندرسون/ هازل بالك لا تنطبق على هذه الحالة وخاصة قرب نقطة التكافؤ بين مرحلتين من الـ pK_a. ومع ذلك يمكن حساب الـ pH عند نقطة التكافؤ بسهولة، فإن الـ pH هنا ببساطة هي

$$\frac{pK_a\,1 + pK_a\,2}{2}$$



شكل رقم (٣,٥). معايرة حمض ضعيف عديد البروتونات مع قاعدة قوية.

والجدول (٣,٥) يوضح قيم الـ pK_a لبعض الأحماض الهامة في تحليل الأغذية.

الجدول رقم (٣,٥). قيم الـ pK_a لبعض الأحماض الهامة في تحليل الأغذية.

الحامض	pK_a1	pK_a2	pK_a3
حامض الأوكساليك	١,١٩	٤,٢١	--
حامض الفوسفوريك	٢,١٢	٧,٢١	١٢,٣٠
حامض التارتاريك	٣,٠١	٤,٥٤	--
حامض الماليك	٣,٤٠	٥,٠٥	--
حامض الستريك	٣,٠٦	٤,٧٤	٥,٤٠
حامض اللاكتيك	٣,٨٦	--	--
حامض الاسكوربيك	٤,١٠	١١,٧٩	--
حامض الخليك	٤,٧٦	--	--
فثلات البوتاسيوم الحامضية	٥,٤٠	--	--
حامض الكربونيك	٦,١٠	١٠,٢٥	--

(٣,١٢) المعايرة بقياس فرق الجهد Potentiometric Titration

عند نقطة التعادل (التكافؤ) في أي معايرة فإن عدد مكافئات الحامض تساوي تماماً عدد مكافئات القاعدة ويحصل تعادل كامل للحمض. عند الاقتراب من نقطة التكافؤ فإن المقام [HA] في معادلة هندرسون/ هازل بالك يكون صغيراً جداً، أما حاصل جزء المعادلة

$$\frac{[A^-]}{[HA]}$$

فيزيد بصورة أُسية. وكنتيجة لذلك يزداد رقم الـ pH للمحلول ويصل إلى قيمة pH المحلول المعاير. وتكون نقطة التكافؤ بالضبط عند منتصف انحدار منحنى الزيادة في الـ pH.

واستخدام جهاز قياس الـ pH لمعرفة نقطة النهاية يسمى طريقة المعايرة بقياس فرق الجهد Potentiometric Method لتقدير الحموضة المعايرة. ومن أهم المزايا لهذه الطريقة هي التحديد الدقيق لنقطة التكافؤ.

(٣,١٣) الأدلة Indicators

لتبسيط العمل في التقديرات الروتينية، تستخدم غالباً محاليل الأدلة لتقريب نقطة التكافؤ، وهذه الطريقة تؤدي إلى تجاوز نقطة التكافؤ بكمية ضئيلة. عند استخدام الأدلة فإن مصطلح نقطة النهاية (End Point) أو نقطة النهاية اللونية (Colorimetric Point) تستخدمان بديلاً عن مصطلح نقطة التكافؤ. وفي هذا إشارة إلى أن النتائج المتحصل عليها هي نتائج تقريبية وتعتمد على نوع الدليل المستخدم. وأشهر الأدلة المستخدمة في مجال الأغذية هو الفينولفثالين (Phenolphthalein). ويتغير لونه من عديم اللون إلى وردي اللون في مدى الـ pH ٨-٩,٦ وعادة يبدأ التغير الحقيقي للون عند pH ٨,٢. وهذه النقطة تسمى نقطة النهاية لدليل الفينولفثاين (Phenolphthalein End Point).

إذا رجعنا للجدول رقم (٣,٥) نجد أن أحماض الأغذية الطبيعية ليس لها فعل تنظيمي في نطاق نقطة نهاية الفينولفثالين ولكن حمض الفوسفوريك (الذي يستخدم في تحميض المشروبات الغازية) وحمض الكربونيك (محلول ثنائي أكسيد الكربون في المحاليل المائية) لهما فعل تنظيمي في هذا النطاق. وفي هذا السياق فإن مسار

المعايرة من نقطة التكافؤ الحقيقية إلى نقطة النهاية قد يتطلب كمية كبيرة من محلول المعايرة لهذه الأحماض، وهذا يعني عدم وضوح نقطة النهاية بدقة مع استهلاك كمية كبيرة من محلول المعايرة. ولذلك يفضل عند معايرة هذه الأحماض استخدام تحليل معايرة قياس فرق الجهد (Potentiometric titration). كما يمكن تجنب تداخل ثاني أكسيد الكربون بإزاحته بواسطة غليان العينة ومن ثم معايرته إلى نقطة نهاية الفينفثالين.

أما العينات ذات الألوان الداكنة فتمثل مشكلة لإيجاد نقطة النهاية بواسطة الأدلة، وفي هذه الحالة يمكن أيضاً استخدام معايرة فرق الجهد وتعاير العينات إلى pH = ٨,٢ (نقطة نهاية الفينولفثالين). pH = ٧ قد تكون أفضل لمعايرة فرق الجهد من ٨,٢.

تتطلب محاليل الأحماض المخففة (مثل مستخلصات الخضروات) محاليل قلوية قياسية مخففة لمعايرة مضبوطة ولكن هذا قد يتطلب كمية كبيرة من المحلول القلوي لسير المعايرة من نقطة التكافؤ إلى pH ٨,٢. يستخدم دليل البروموثايمول (Bromothymol) أحياناً كدليل بديل في حالة الأحماض المخففة، حيث يتغير لونه من الأصفر إلى الأزرق في نطاق الـ pH من ٦-٧,٦. وعادة تكون نقطة النهاية لون أخضر واضح.

عادة ما تكون محاليل الأدلة مخففة جداً. وكل الأدلة تكون إما أحماض ضعيفة أو قواعد ضعيفة ويكون فعلها التنظيمي في نطاق تغيرها في اللون. أما إذا كان تركيزها عالي فقد يكون لها أثر في المعايرة وذلك بإضفاء خصائص الحموضة/ القلوية إلى العينة تحت التحليل. وعادة ما يضاف من الدليل حوالي نقطتين إلى ثلاثة فقط إلى محلول المعايرة. وكلما كان تركيز الدليل قليلاً كلما كانت نقطة النهاية عالية الوضوح.

وفي حالة الرغبة في معرفة نسبة الأحماض الطيارة (Volatile Acids) في حامض كحامض الخليك، فيجرى تقدير الحموضة الكلية (Total Acidity) ثم يتم غلي حمض الخليك، ثم يترك المحلول ليبرد ومن ثم تجرى معايرة أخرى لتقدير نسبة الحموضة الثابتة، والفرق بين نسبة الحموضة الثابتة والحموضة الكلية هو نسبة الحموضة الطيارة (Volatile Acidity).

(٣,١٤) تحضير الكواشف Preparation of Reagents

(٣,١٤,١) القلوي القياسي Standard Alkali

أكثر المحاليل القاعدية المستخدمة في تقدير الحموضة المعايرة هو هيدروكسيد الصوديوم (NaOH). ولكن من عيوبه امتصاص الرطوبة من الهواء (Hygroscopic) وأحياناً احتوائه على كميات كبيرة من كربونات الصوديوم (Na_2CO_3) غير الذائبة. لذلك فالنتيجة هي عدم ضبط عيارية المحاليل ولهذا يجب معايرته بحامض معلوم العيارية. ولكن تاريخ استخدامه الطويل يعطيه أفضلية على بقية المركبات.

(٣,١٤,٢) الحامض القياسي Standard Acid

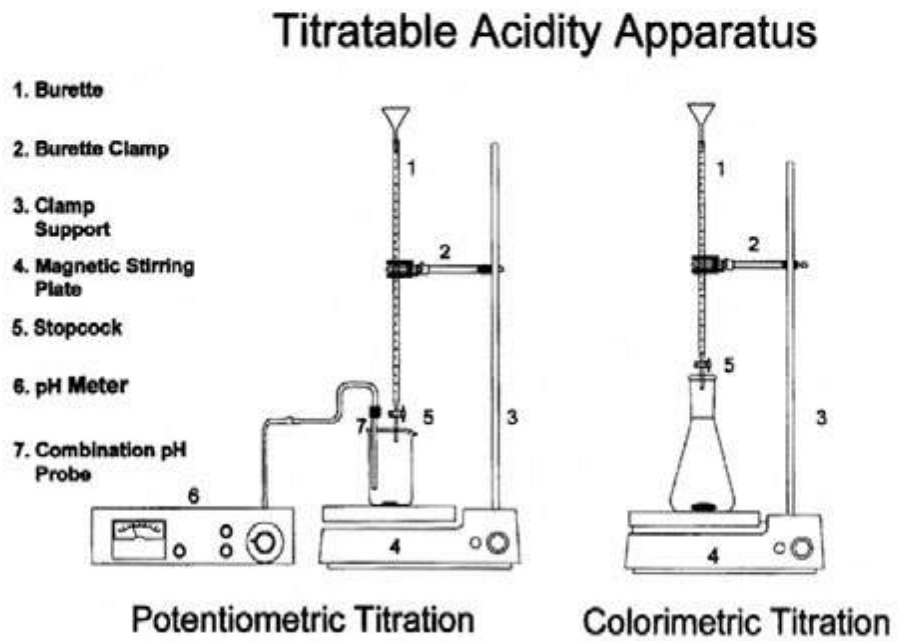
إن احتواء مركب هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) على الشوائب وطبيعة امتصاص الرطوبة من الهواء تجعله غير ملائم كمعيار أساسي (Primary Standard) لذلك يجب معايرة محاليل هيدروكسيد الصوديوم مع حامض قياسي. والحامض شائع الاستعمال في هذا الخصوص هو فثلات البوتاسيوم الحامضية (Potassium Acid Phthalate).

وللفثلات هيدروجين وحيد قابل للتأين ($pK_a = 5.4$) ويعطي تفاعل منخفض جداً على pH = ٨,٢. يجب تجفيف الفثلات لمدة ساعتين على درجة حرارة ١٢٠°م ثم يبرد إلى درجة حرارة الغرفة في مجفف قبل استخدامه في كل مرة.

(٣,١٥) تحليل العينة Sample Analysis

هناك عدة طرق رسمية لتقدير الحموضة المعايرة في الأغذية المختلفة وصارت تقديرات الحموضة بالمعايرة من التحليلات الروتينية والتي تتشابه فيها معظم الخطوات العامة. تؤخذ كمية قليلة من محلول العينة (عادة ١٠ مل) وتعاير مع محلول قاعدة قياسية (غالباً ٠,١ ع NaOH) إلى نقطة نهاية الفينولفثالين. وفي حالة وجود الألوان تستخدم معايرة مقياس فرق الجهد.

والشكل رقم (٣,٦) يوضح الترتيب النموذجي للمعايرة بواسطة جهاز فرق الجهد والمعايرة اللونية.



الشكل رقم (٣,٦). جهاز الحموضة المعايرة.

يفضل عادة استخدام الدوارق المخروطية (Erlenmeyer) كحاويات للعينة عند استخدام الأدلة اللونية. ويمكن استخدام القضيب المغناطيسي لتقليب العينة وفي حالة عدم توفره يكفي التقليب اليدوي.

عند استخدام القطب في حالة جهاز فرق الجهد يجب استخدام الكأس بدلاً من الدورق المخروطي.

قد تحدث بعض المشاكل عند معايرة عينات تحوي قطع متجمعة أو مركزات أو مواد جيلية. فهذه العينات تمنع الانتشار السريع للحامض من العينة مما يجعل الوصول لنقطة النهاية صعباً. يمكن معالجة المركزات بإضافة ماء مقطر خالٍ من ثاني أكسيد الكربون كما يمكن خلط المواد النشوية والجيلية ويمكن استخدام الخلاط. تتكون أحياناً رغاوي كثيفة أثر الخلط ويمكن استخدام مضاد للرغوة للتخلص منها.

(٣,١٦) محتوى الأغذية من الأحماض Acid Content in Foods

كثيراً من المواد الغذائية تتصف بتعقيدها كيميائياً. فتحتوي على أحماض دورة كربس (Krebs cycle)، أحماض دهنية، وأحماض أمينية، ومن الناحية النظرية تساهم كل هذه الأحماض في الحموضة المعايرة. ولا يمكن التمييز بين أنواع الأحماض الفردية بواسطة التقطير الروتيني. لذلك تسمى الحموضة المعايرة عادة حسب الحمض السائد (Predominant acid). ولمعظم الأغذية يكون هذا التفسير غامضاً بعض الشيء. ففي بعض الحالات يوجد في الغذاء حامضين في كميات كبيرة وقد يتغير الحامض السائد مع مرحلة النضج. ففي العنب يسود حمض الماليك (Malic Acid) غالباً قبيل النضج

بينما يسود حمض التارتريك (Trtaric Acid) في ثمار الفاكهة الناضجة. وتحدث نفس الظاهرة في الكمثرى مع حامض الماليك والستريك. ولحسن الحظ فإن الأوزان المكافئة لأحماض الأغذية الشائعة كلها تتشابه تقريباً، لذلك فإن نسبة الحموضة المعايرة لا تتأثر كثيراً بوجود خليط من الأحماض السائدة أو بالاختيار الخاطئ للحمض السائد.

إن مدى تركيزات الأحماض في الأغذية مدى واسع جداً. قد يكون تركيز الأحماض إلى أقل من حدود الكشف أو قد يكون المادة الأكثر حضوراً في الغذاء. وقد يكون دور الحامض في نكهة الأغذية غير محصور في محتواها من الحامض فقط. ووجود السكريات في الأغذية يقلل الطعم اللاذع للأحماض، وبالتالي فإن نسبة المواد الصلبة الذائبة للحامض هي أفضل مقياس لنكهة عصير الفاكهة. إذ أنها أفضل من نسبة المواد الصلبة وحدها أو الحامض لوحده. وتقل نسبة الأحماض مع تقدم مرحلة نضج الثمرة. وتتأثر هذه النسبة أيضاً بالطقس ونوع الفاكهة والعمليات الحقلية. ويوضح الجدول رقم (٣,٦) المحتوى الحمضي وتركيز السكريات في بعض أنواع ثمار الفاكهة عند مرحلة النضج. ومن أهم الأحماض الغذائية وأكثرها شيوعاً حمض الستريك والماليك التي تتواجد في الفاكهة ومعظم الخضروات ولكن الخضروات الورقية قد تحتوي على كميات عالية من حمض الأوكساليك. أما حامض اللاكتيك فهو أهم حمض في منتجات الألبان ولذلك تستخدم هنا الحموضة المعايرة لمراقبة تقدم عمليات التخمر عند إنتاج الأجبان والزبادي.

الجدول رقم (٣,٦). المحتوى الحمضي والمواد الصلبة الذائبة في بعض الفواكه.

نوع الفاكهة	الحمض الرئيسي	نسبة الحمض	المواد الصلبة الذائبة
تفاح	ماليك	١,٠٢-٠,٢٧	١٣,٥٠-٩,١٢
موز	ماليك/ ستريك (١,٠مل)	٠,٢٥	١٩,٥٠-١٦,٥٠
كرز	ماليك	١,٨٦-٠,٤٧	١٨,٠٠-١٣,٤٠
توت	ستريك	١,٣٦-٠,٩٠	١٤,٢٠-١٢,٩٠
جريب فروت	ستريك	٢,١٠-٠,٦٤	٧,٠٠
عنب	طرطريك/ ماليك ٠,٢مل	١,١٦-٠,٨٤	١٤,٤٠-١٣,٣٠
ليمون	ستريك	٨,٣٣-٤,٢٠	١١,٩٠-٧,١٠
ليمون حامض	ستريك	٨,٣٠-٤,٩٠	١٤,١٠-٨,٣٠
برتقال	ستريك	١,٢٠-٠,٦٨	١٤,٠٠-٩,٠٠
برقوق	ستريك	٢,٠٠-١,٠٠	١٢,٣٠-١١,٨٠
كمثرى	ماليك/ ستريك	٠,٤٥-٠,٣٤	١٢,٣٠-١١,٠٠
أناناس	ستريك	٠,٨٤-٠,٧٨	١٦,٨٠-١٢,٣٠
فراولة	ستريك	١,١٨-٠,٩٥	١٠,١٠-٨,٠٠
طماطم	ستريك	٠,٦٠-٠,٢٠	٤,٠٠

الفصل الرابع

تقدير الرطوبة والمواد الصلبة
Moisture and Total Solids Analysis

(٤,١) مقدمة

يعتبر تقدير المحتوى الرطوبي من أهم التحليلات التي تجري على المنتجات الغذائية لعدد من الأسباب المختلفة:

١- **قانونية ومتطلبات البطاقة**: هناك حدود دنيا وعليا لكمية الماء التي يجب أن تكون موجودة في بعض أنواع الغذاء.

٢- **اقتصادية**: تعتمد كلفة العديد من الأغذية على كمية ما تحتويه من الماء. فالماء مكون رخيص لذا يحاول المنتجين أن يدمجوه قدر المستطاع في الغذاء آخذين في الاعتبار الحد الأقصى المسموح به.

٣- **الاستقرار الميكروبي**: نزعة الكائنات الحية المجهرية للنمو في الأطعمة تعتمد على محتواها من الماء لهذا السبب فإن العديد من الأطعمة تجفف تحت محتوى الرطوبة المسموح.

٤- **جودة الأغذية**: يعتمد القوام والطعم والمظهر والثباتية للأغذية على كمية ما تحتويه من الماء.

٥- **عمليات تصنيع الأغذية:** إن معرفة محتوى الرطوبة ضروري في أغلب الأحيان لمعرفة سلوك الغذاء أثناء عملية التصنيع، مثال ذلك الخلط، التخفيف، التدفق خلال الأنابيب أو أثناء عملية التغليف.

٦- **الوزن الجاف:** معرفة المحتوى الرطوبي للغذاء يستخدم للتعبير عن مكونات وعناصر المادة الغذائية على أساس الوزن الجاف.

٧- لهذا كان من الضروري على علماء الأغذية أن يكونوا قادرين على قياس محتوى الرطوبة بشكل دقيق. وهناك العديد من طرق التحليل التي طورت لهذا الغرض والتي تتفاوت في دقتها، وتكلفتها وسرعتها وحساسيتها وسهولتها... الخ. لهذا كان اختيار طريقة التحليل لتطبيق معين تعتمد على طبيعة الغذاء المراد تحليله والغرض من التحليل نفسه.

(٤,٢) خواص الماء في الأغذية

يتم تقدير محتوى الرطوبة للمادة الغذائية من خلال المعادلة التالية:

$$\text{٪الرطوبة} = (m_w/m_{sample}) \times 100$$

حيث إن: m_w = كتلة الماء، m_{sample} = كتلة العينة

حيث إن كتلة الماء مرتبطة بعدد جزئيات الماء (n_w) بالتعبير التالي:

$m_w = n_w M_w/N_A$ حيث إن M_w الوزن الجزيئي للماء (١٨٥٠ جرام/ دل) وأن N_A = عدد (6.02×10^{23}) جزيء/ مول).

من حيث المبدأ المحتوى الرطوبي في الأغذية يمكن قياسه بدقة بقياس عدد أو كتلة جزيئات الماء الموجودة في كتلة عينة معروفة. ولكن من غير الممكن أن نقيس عدد جزيئات الماء الموجودة في العينة وذلك بسبب العدد الضخم من الجزيئات المتواجدة.

هناك العديد من طرق التحليل تستخدم عادة لقياس المحتوى الرطوبي في الأغذية مستنداً على قياس كتلة الماء الموجودة في كتلة معلومة من العينة. على الرغم من ذلك كما سنرى لاحقاً هناك العديد من المشاكل العملية مرتبطة بهذه التقنيات والتي تجعل قياس الرطوبة بدقة أمر صعب جداً. لهذا السبب فإن عدداً من طرق التحليل طورت لقياس محتوى الرطوبة في الأغذية حيث لا تعتمد على قياس مباشر من كتلة الماء في الغذاء، فهذه التقنيات تكون مستندة على الحقيقة بأن الماء في الغذاء يمكن ان يميز من المكونات الأخرى في بعض الطرق القابلة للقياس.

إن مبادئ الخلفيات التحليلية المختلفة لتقدير المحتوى الرطوبي في الأغذية يعتمد على فهم الخصائص الجزيئية للماء. إذ أن جزيء الماء يتكون من ذرة الأوكسجين مرتبط بشكل تساهمي تتجه إلى ذرة هيدروجين (H_2O). كل من ذرات الهيدروجين لها شحنة موجبة (δ^+) بينما ذرة الأوكسجين لها زوجان وحيدان من الإلكترونات التي كل منها له شحنة سالبة صغيرة (δ^-). لذلك فإن جزيئات الماء قادرة على تشكيل روابط الهيدروجين القوية نسبياً $O^- \longleftrightarrow H^+ - O$ مع أربعة جزيئات ماء مجاورة. إن قوة توجيه هذه الروابط الهيدروجينية أصّل العديد من الخواص الفيزيوكيميائية الفريدة للماء. تطوير التقنيات التحليلية لتقدير محتوى الرطوبة في الأطعمة يعتمد على مقدرتها على تمييز الماءِ (Analyte) من المكونات الأخرى في الغذاء والذي من خصائصه أن درجة غليانه منخفضة نسبياً وقطبيته عالية وأطيافه الماصة الكهرومغناطيسية فريدة وكذلك خصائصه الفيزيائية (كثافة وانضغاطية وتوصيل كهربائي، ومعامل الانكسار). على الرغم من امتلاكه نفس الصيغة الكيميائية H_2O فجزيئات الماء في الغذاء قد تكون موجودة على هيئات مختلفة تعتمد على تفاعلها بالجزيئات المحيطة فجزيئات الماء في هذه البيئات المختلفة لها عادة خواص فيزيوكيميائية مختلفة.

١ – **الماء الحر** Free Water: هذا النوع من الماء خالي من أي شكل آخر. لهذا فإن كل جزيء من الماء يكون محاطاً فقط بواسطة جزيئات ماء أخرى لهذا فإن لـه خواصـه الفيزيوكيميائية. كما هو في الماء الصافي مثال ذلـك درجـة الانـصهار و درجـة الغليـان والكثافة والانضغاطية وحرارة التبخير والأطياف الكهرومغناطيسية.

٢ – **الماء الشعري Capillary Water**: يتواجد الماء الـشعري في قنـوات ضـيقة بين بعض مكونات الغذاء بسبب القـوة الـشعرية Capillary force وهـذا المـاء محجـوز ضمن فراغات الغذاء المحاط بحاجز طبيعي يمنع جزيئات الماء من الهـروب بـسهولة ومثال على ذلك قطرات المستحلب أو الخليـة الحيويـة و أغلبيـة هـذا النـوع مـن المـاء مشترك في اتحاد الماء الطبيعي ولذا فإن خواصه الفيزيوكيميائية مـشابهة لخـواص المـاء الحر.

٣ – **الماء المرتبط طبيعياً Physically Bound Water**: العديد من جزيئـات المـاء الصغيرة في الكثير من الأغذية لا تكون محاطة بالكامل بجزيئات مـاء أخـرى ولكنهـا تكون مرتبطة مع جزيئات من مكونات أغذية أخرى مثل البروتين، الكربوهيـدرات، المعادن، الرابط بين جزيء الماء وهذه المكونات غالبـاً مـا يكـون مختلـف عـن ارتبـاط جزيئات الماء – الماء لهذا فإن هذا النوع من الماء له خـواص فيزيوكيميائيـة مختلفـة عـن الماء الحر كدرجة الغليان ودرجة الانصهار والكثافة والانـضغاطية وحـرارة التبخـير والأطياف الماصة للكهرومغناطيسية.

٤ – **الماء المرتبط كيميائياً Chemically Bound Water**: الـبعض مـن جزيئـات الماء الموجودة في الغذاء ترتبط كيميائيا مع جزيئات أخرى مثل مـاء التبلـور أو التميـؤ مثل $Na_2SO_4.H_2O$ ، مثل هذه الروابط تكون أقوى بكثير من روابط الماء بالماء لهذا فإن الماء المرتبط كيميائياً له خواص فيزيوكيميائية مختلفة عن الماء الحر في درجـة الانـصهار

ودرجة الغليان والكثافة والانضغاطية وحرارة التبخير والأطياف الماصة الكهرومغناطيسية.

الأغذية عبارة عن جزيئات متباينة لهذا فإن لها أبعاد مختلفة في الترابط الكيميائي والترابط الفيزيائي والشعري والماء المحصور أو الماء الحر، بالإضافة إلى ذلك فإن الماء يوجد في الأغذية على صور مختلفة: غاز وسائل وصلب وفي الحقيقة فإن جزيئات الماء يمكن أن توجد في عدد من البيئات الجزيئية المختلفة مع اختلاف في الخواص الفيزيوكيميائية. لهذا ربما يكون من الصعب لمحلل الأغذية أن يحدد محتوى الرطوبة بدقة في الأطعمة. وقد طورت العديد من طرق التحليل لقياس محتوى الرطوبة ولكنها تكون أكثر حساسية في بعض الأغذية عنها في أغذية أخرى. وهذا يعني أن المحتوى الرطوبي في غذاء معين قد يعتمد على التقنية التجريبية المستخدمة للقياس. فأحياناً محللو الغذاء يهتمون في تقدير كمية الماء الموجودة في بيئة معينة خاصة (مثل الماء المرتبط فيزيائيا "طبيعياً") بدلاً من محتوى الماء الكلي. مثال ذلك نسبة النمو الميكروبي في غذاء يعتمد على كمية الماء الحر الموجود في الغذاء. وليس بالضرورة على الكمية الكلية المتواجدة. وهناك العديد من التقنيات التحليلية المتوفرة التي يمكن أن تعطي بعض المعلومات عن الجزيئات النسبية للماء في بيئات جزيئية مختلفة مثل DSC, (NMR, Vapor pressure).

(٤,٣) تحضير العينة Sample Preparation

تعتبر طريقة جمع وتداول العينات واختيار عينة ممثلة ومنع التغيرات في خواص العينة قبل التحليل من أهم مصادر الخطأ أثناء إجراء تحليل الأغذية، لذا يجب اتخاذ الاحتياطات اللازمة لتجنب هذه المصادر والأخذ ببعض الاعتبارات عند عملية تداول العينة لتقدير المحتوى الرطوبي.

- يجب أن لا تتعرض العينة للجو وأن تكون فرص التعرض أقل ما يمكن لتجنب اكتساب رطوبة.

- يجب توخي الدقة والحذر أثناء وزن العينات حيث يعتمد احتمال فقد أو اكتساب رطوبة على الرطوبة النسبية في الجو أثناء عملية الوزن.

- يجب أن يكون الفراغ القمي في أوعية حفظ العينات أقل ما يمكن لخفض فقد الرطوبة داخل الوعاء.

- يجب التقليل من تعرض العينة لتقلبات درجة حرارة عالية حيث يؤثر على المحتوى الرطوبي.

(٤,٤) طرق تقدير الرطوبة

توجد عدة طرق لتقدير المحتوى الرطوبي في الأغذية ويتوقف اختيار الطريقة على عدة عوامل منها طبيعية الماء في المادة الغذائية ونوع المادة الغذائية المراد تقدير الرطوبة فيها ونسبة الرطوبة في المادة الغذائية والسرعة المراد الحصول بها على النتائج ومدى الدقة المطلوبة والناحية الاقتصادية. وتشمل طرق تقدير المحتوى الرطوبي للأغذية:

١- طرق التجفيف Drying Methods

٢- طرق التقطير Distillation Methods

٣- الطرق الكيميائية Chemical Methods

٤- الطرق الطبيعية Physical Methods

(٤,٤,١) طرق التجفيف Drying Methods

تعتمد هذه الطرق على قياس كتلة الماء في كتلة معروفة من العينة، والمحتوى الرطوبي يحدد بقياس كتلة الغذاء قبل وبعد إزالة الماء بالتبخير.

$$\text{٪ الرطوبة} = \frac{\text{وزن العينة الرطب} - \text{وزن العينة الجافة}}{\text{وزن العينة الرطب}} \times ١٠٠$$

إن المبدأ الأساسي لهذا الطريقة هو أن الماء له درجة غليان أقل من المكونات الغذائية الأخرى مثل الدهون، البروتين، الكربوهيدرات، المعادن وكذلك يعتمد حساب المواد الصلبة والتي عبارة عن المواد الصلبة المتبقية بعد عملية تبخير الماء.

$$\text{٪ المواد الصلبة الكلية} = \frac{\text{وزن العينة الجافة بعد التخفيف}}{\text{وزن العينة الرطب}} \times ١٠٠$$

لهذا فإن ٪ المواد الصلبة = (١٠٠ - ٪ الرطوبة)

لهذا فإن للحصول على قياس دقيق لكمية الرطوبة أو المواد الصلبة للغذاء باستخدام طريقة التجفيف فإنه من الضروري إزالة كتل جزيئات الماء الموجودة في الغذاء بدون أن يؤثر على كتلة الغذاء نفسه وهذا الأمر صعباً جداً في أغلب الأحيان لأن التعرض لدرجات الحرارة العالية لوقت طويل والتي تتطلب إزالة كل جزيئات الماء يؤديان إلى تغيرات مصفوفة العينة (Matrix)

إن الطاقة الحرارية المستخدمة لتخفيف الماء من عينة الغذاء يمكن أن يتم مباشرة (مثال على ذلك نقل الحرارة من الفرن إلى الغذاء) أو بشكل غير مباشر (مثل تحويل الإشعاع الكهرومغناطيسية على الغذاء إلى حرارة بسبب امتصاص الطاقة بواسطة جزيئات الماء).

أ) الأفران العادية Convention Oven

تعمل تحت ضغط جوي حراري عادي ولا يفضل استخدامها في حالة الرغبة في الحصول على نتائج دقيقة ومؤكدة ومن الأفران التي تستخدم Forced draft oven حيث تصل درجة الحرارة إلى ١٠٠°م لمدة ٣ ساعات وتجفيف العينة حتى تصل إلى وزن ثابت. الطاقة الحرارية المستخدمة للتجفيف تعرض مباشرة للعينة.

ب) أفران تحت التفريغ Vacuum Oven

وفي هذه الطريقة يتم التجفيف على درجة حرارة منخفضة باستخدام ضغط منخفض (٢٥-١٠٠ مم زئبق) حيث يتم نزع الرطوبة خلال ٣-٦ ساعات ويعتبر هذا الفرن هو القياسي والأكثر دقة في قياس الرطوبة حيث يستخدم لتقدير الرطوبة في الأغذية الحساسة والتي لا يمكن أن تتحمل درجات الحرارة العالية.

ج) أفران الميكروويف Microwave Oven

تعتبر هذه الطريقة من الطرق القيمة والسريعة وتتميز بالدقة الكافية لاستخدامها كطريقة روتينية وسريعة لتقدير المحتوى الرطوبي في الأغذية وتتميز هذه الأفران باحتوائها على ميزان لمراقبة الوزن بشكل مستمر. وجزيئات الماء في الغذاء تتبخر لامتصاصها طاقة الميكروويف والتي تجعلها نشطة حرارياً وأن الفائدة الرئيسية لهذه الطريقة عن طرق التجفيف الأخرى كونها بسيطة وسريعة التنفيذ.

د) الأشعة تحت الحمراء Infrared Drying

عند تقدير المحتوى الرطوبي باستخدام الأشعة تحت الحمراء تتخلل الحرارة العينة المراد تجفيفها فتبخر الرطوبة بالكامل في زمن قصير يتراوح بين ١٠-٢٥ دقيقة ويكون المصدر الحراري عبارة عن لمبة أشعة تحت الحمراء تصل درجة حرارة خيطها الحراري ما بين ٢٠٠٠ - ٢٥٠٠ كالفن. ومن أهم العوامل التي يجب التحكم فيها

أثناء تقدير المحتوى الرطوبي، المسافة بين مصدر الأشعة تحت الحمراء والمادة التي يتم تجفيفها وكذا سمك العينة.

الاعتبارات التي يجب مراعاتها عند تقدير الرطوبة بطرق التجفيف

١ - تحلل مكونات الغذاء الأخرى Decomposition of other food component

يحدث تحلل أو تطاير لبعض مكونات الغذاء إذا ما امتد زمن التحليل أو ارتفعت درجة الحرارة. لهذا فإنه يجب الأخذ في الاعتبار عند إزالة الماء من المادة الغذائية أثناء تقدير الرطوبة أن لا يحصل تحلل للمكونات الأخرى في الغذاء والتي قد ينطلق منها الماء. فعلى سبيل المثال تتحلل المواد الكربوهيدراتية طبقاً للتفاعل التالي:

$$C6H_12O_6 \xrightarrow{heat} 6C + H_2O$$

وهذا الماء الناتج من التحلل ليس هو الماء الذي نحن بصدد تقديره ويؤدى الى زيادة ظاهرية في المحتوى الرطوبي عن المحتوى الحقيقي. ومن ناحية أخرى فإن هناك تفاعلات كيميائية أخرى تنتج عن زيادة درجة الحرارة تؤدي إلى امتصاص الماء مثل تميؤ السكروز.

$$\text{Sucrose} + H_2O \xrightarrow{heat} \text{Fructose} + \text{Glucose}$$

وهذا يؤدي إلى خطأ في تقدير الرطوبة عن محتواها الحقيقي، لهذا فالأغذية المعرضة للتحلل الحراري يجب أن تحلل باستخدام طرق بديلة سواء كيميائية أو فيزيائية.

٢ - حجم العينة

إن حجم جزيئات المادة الغذائية وحجم العينة ومساحة سطح العينة أثناء التجفيف يؤثر على كفاءة ومعدل إزالة الماء أثناء التجفيف في الأفران.

٣- تجنب تكوين قشرة صلبة

تميل بعض الأغذية لتكوين قشرة صلبة منفذة نسبياً أو قد تلتصق جزئياتها ببعضها البعض فتمنع خروج الرطوبة مما يؤدي إلى أخطاء في القياس ولتجنب تكوين هذه القشرة تستخدم طريقة إضافة الرمل.

٤- الأطباق

تتباين أطباق تقدير الرطوبة في شكلها وقد يكون لها أو لا يكون لها غطاء ولا يجب مسك الأطباق باليد بل تستخدم مواسك خاصة لذلك. وتجفف الأطباق جيداً وتخزن في مجففات قبل الاستعمال لضمان عدم وجود رطوبة في الأطباق قبل وضع العينات.

٥- العينات عالية الرطوبة

الأغذية التي تحتوي على رطوبة عالية تجفف عادة في مرحلتين لمنع (رش) العينة وتراكم الرطوبة في الفرن كمثال على ذلك فالرطوبة في الحليب يتخلص منها بواسطة التسخين في حمام مائي قبل إكمال التجفيف في الفرن.

٦- نوع الماء

إن السهولة في إزالة الماء من الغذاء تعتمد على مدى ارتباطه بمكونات أخرى فالماء الحر يزال بسهولة من الأغذية بالتبخير، بينما الماء المرتبط كيميائياً أو فيزيائياً تكون إزالته أكثر صعوبة، وقد تسبب تحلل المكونات الأخرى والتي ربما تتداخل مع الرطوبة.

٧- المواد الطيارة

إذا كان المنتج الذي يتم تقدير رطوبته به نسبة مرتفعة من المواد الطيارة Volatile Matters فإنه يستخدم معامل تصحيح لتعويض هذا الفقد في الوزن ومن

الأفضل استخدام طرق أخرى لقياس محتوى الرطوبة مثل طرق التقطير، الطرق الكيميائية أو الفيزيائية.

٨- السكريات

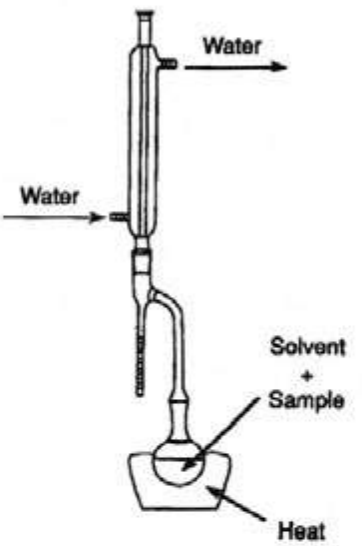
العينات مرتفعة المحتوى من السكريات كالفواكه والمنتجات الغذائية تجفف عادة في الأفران تحت التفريغ بحيث لا تزيد درجة الحرارة عن ٧٠ °م، ومن مميزات هذه الطريقة أنها رخيصة نسبياً ودقيقة وسهلة الاستعمال. وأقرت رسمياً في العديد من التطبيقات، ويمكن أن تحلل العديد من العينات مع بعض. ومن عيوبها أنها غير مناسبة لبعض أنواع الغذاء وتحتاج إلى وقت طويل.

(٤,٤,٢) طرق التقطير

تعتمد هذه الطريقة على خلط عينة المادة الغذائية مع مذيب لا يختلط بالماء ونقطة غليانه أعلى من الماء ويجرى عليهما عملية تقطير مشترك للمذيب والماء والمادة الغذائية ومن ثم يجمع مخلوط الماء والمذيب بعد التقطير في أنبوبة مدرجة فيقاس حجم الماء بعد انفصاله عن المذيب ليعبر عن ٪ الرطوبة. وهناك طريقتان تستخدمان عادة في التقطير: الطريقة المباشرة وطريقة التقطير العاكس وفي الطريقة المباشرة تخلط المادة الغذائية بمذيب عضوي درجة غليانه أعلى من درجة غليان الماء مثل التولوين ١١٠,٦ °م أو الزايلين ١٣٧ °م وأقل كثافة من الماء ويعتبر التولوين أكثرها شيوعاً واستخداماً في تقدير الرطوبة.

وتتلخص طريقة التقطير كما في الشكل رقم (٤,١) بأن يؤخذ وزن معروف من الغذاء ويوضع في دورق التقطير يضاف إليه التولوين أو الزايلين غير الذائب في الماء ثم توصل بمكثف ويسخن الخليط ويمر البخار خلال مكثف ثم يتجمع الماء والمحلول في أنبوبة مدرجة موصلة بالمكثف وعندما لا يكون هناك أي كمية من الماء

تتجمع في الأنبوبة المدرجة تتوقف عملية التقطير ويقرأ حجم الماء في الأنبوبة المدرجة.



الشكل رقم (٤،١). جهاز تقدير الرطوبة بالتقطير.

توجد عدة صعوبات عند تقدير الرطوبة بهذه الطريقة والتي تؤدي إلى نتائج خاطئة وهي تكون مستحلب من الماء والمذيب والذي من الصعب القيام بعملية فصله وكذا تكثيف قطرات الماء على الجدران .

ومن مزايا هذه الطريقة أنها مناسبة للتطبيق في الأغذية ذات المحتوى الرطوبي المنخفض ومناسبة للأغذية التي تحتوي على زيوت طيارة مثل الأعشاب والتوابل حيث إن الزيت يذوب في المذيب ولا تتداخل مع الماء والأجهزة سهلة ورخيصة نسبياً وتعد طرق التقطير هذه من الطرق الرسمية لعدد من التطبيقات في الأغذية.

ومن عيوبها أنها تحتاج إلى وقت طويل واستخدام مذيبات قابلة للاشتعال ولا يمكن تطبيقها في بعض الأغذية.

(٤,٤,٣) طرق التفاعل الكيميائي

تعتمد هذه الطرق على استهلاك رطوبة المادة الغذائية في تفاعلات كيميائية خاصة مع بعض المواد الكيميائية ومن تقدير وحسابات نواتج التفاعل يمكن تقدير كمية الرطوبة الداخلة في التفاعل وهي في نفس الوقت تعبر عن كمية المحتوى الرطوبي بالعينة الغذائية، وبالتالي يمكن حساب النسبة المئوية للرطوبة في المادة الغذائية. وتشمل الطرق الكيماوية ما يلي:

أ) طريقة كارل فيشر Karl Fischer Titration

تقدر الرطوبة للمنتجات الغذائية ذات المحتوى الرطوبي للأغذية منخفضة الرطوبة مثل الفواكه والخضار المجففة والحلوى والشوكولاتة والقهوة المحمصة والزيوت والدهون وكذلك يمكن أن تستخدم في أي منتجات غذائية منخفضة المحتوى الرطوبي ومرتفعة في أي من نسب الكربوهيدرات أو البروتين ويعتمد الأساس العلمي لهذه الطريقة على التفاعل التالي، حيث يختزل اليود بواسطة ثاني أكسيد الكبريت في وجود الماء كما هو موضح في المعادلة التالية:

$$H_2SO_4 + 2HI \longrightarrow 2H_2O + SO_2 + I_2$$

هذا التفاعل استعمل أصلاً لأن HI عديم اللون، بينما I_2 ذو لون أسمر محمر غامق، لذلك فإن هناك تغيير في اللون قابل للقياس وعندما يتفاعل مع الكواشف المضافة فإن SO_2 ، I_2 تصبح غازات وتفقد من المحلول، لهذا السبب فإنه تم تعديل الطريقة بإضافة (C_5H_5N) والذي يساعد على بقاء SO_2 و I_2 في المحلول. وأساس الطريقة لم يتغير. والغذاء الذي يراد تحليله يتم وضعه في كأس يحتوي على المذيب ثم يعاير بكاشف كارل فيشر (المحلول الذي يحتوي على I_2)، بينما أي بقايا ماء في العينة

يتفاعل مع اليود ويبقى المحلول عديم اللون (HI) ويمكن تقدير فقط نقطة النهاية بمجرد النظر حيث يتميز بلون بني – محمر غامق حيث تعطي النقطة الزائدة من اليود والتي لا تستطيع التفاعل مع الماء بعد انتهاء هذا اللون. حجم محلول اليود المطلوب لمعايرة الماء يقاس ويمكن أن يعزى إلى محتوى الرطوبة باستخدام منحنى تحديد معد مسبقاً وأكثر دقة يمكن تقدير نقطة النهاية End Point بقياس فرق الجهد إلكترونياً بدلاً من ملاحظة تغير اللون.

ب) طريقة إنتاج الغاز Gas Production Method

تعتمد هذه الطريقة على استهلاك رطوبة المادة الغذائية بواسطة التفاعل مع مركبات كيميائية وينتج عن ذلك غاز. كمثال عندما تخلط عينة غذائية مع مادة كربيد الكالسيوم فإن كمية غاز الاستلين الناتج له علاقة للمحتوى الرطوبي

$$C_2H_2\ (gas) + Ca\ (OH)_2 \longrightarrow Ca_2C + 2H_2O_2$$

ويمكن قياس كمية الغاز الناتج بعدة طرق مختلفة:

١- كمية الغاز المنتج.

٢- حساب النقص في الوزن قبل وبعد إجراء التجربة.

٣- الزيادة في ضغط الوعاء المغلق الذي يحتوي على المفاعلات.

(٤,٤,٤) الطرق الفيزيائية Physical Methods

طورت العديد من الطرق التحليلية لتقدير المحتوى الرطوبي في الأغذية والتي تبنى على حقيقة أن الماء له خصائص فيزيائية مختلفة عن الغذاء. مثال على ذلك: الكثافة والتوصيل الكهربائي ومعامل الانعكاس. ويمكن إيجاز هذه الطرق فيما يلي:

أ) طريقة الثابت الكهربائي

ب) قياس معامل التوصيل الكهربائي

ج) طريقة تقدير الكثافة

د) الرفراكتوميتر

هـ) القياسات الرفراكتومترية

أ) طريقة الثابت الكهربي

حيث تعتمد على قياس التغير في مقاومة العينة الغذائية للحزمة الكهربية المارة في هذه العينة، كما تعتمد على أن قيم الثابت الكهربي للماء هي ٨٠,٣٧ على درجة ٢٠° م، ويمكن رسم العلاقة بين قيم الثابت الكهربي ونسب الرطوبة في عينات قياسية ثم تقدير المحتوى الرطوبي للعينة المجهولة عند قياس ومعرفة الثابت الكهربي لها.

وتصلح هذه الطريقة لتقدير المحتوى الرطوبي للأغذية التي لا تحتوي على أكثر من ٣٠-٣٥٪ رطوبة.

ب) قياس معامل التوصيل الكهربي Electrical Conductivity Methods

يمكن بقياس الاختلاف في درجة مقاومة عينة المادة الغذائية لمرور تيار كهربي تبعاً لاختلاف نسبة الرطوبة بها يمكن معرفة المحتوى الرطوبي لأي عينة، والأساس المبني عليها هذه الطريقة هو قانون أوم Ohm Law والذي ينص على أن قوة التيار الكهربي مساوية للقوة الدافعة الكهربية Electro motive force مقسومة على المقاومة Resistance.

وجدير بالذكر فإن المقاومة الكهربية لدقيق القمح ذي ١٣٪ رطوبة تساوي سبع مرات قدر الدقيق ذي ١٤٪ رطوبة وحوالي ٥٠ مرة لدقيق القمح ذي ١٥٪ رطوبة. وهذه الطريقة سريعة وسهلة تستغرق دقيقة واحدة لإجرائها.

ويمكن عن طريق جداول خاصة تربط العلاقة بين قيم المقاومة الكهربية ونسب الرطوبة تقدير المحتوى الرطوبي للعينة الغذائية.

ج) طرق تقدير الكثافة Density Method

وتعتمد هذه الطريقة على تقدير الكثافة Density أو الوزن النوعي Specific gravity للمحاليل الغذائية مثل المشروبات والمحاليل السكرية والمحاليل الملحية والعصائر وذلك بواسطة ميزان وستفال Westphal balance أو ايدروميتر الكثافة Density hydrometer أو قنينة الكثافة Pycrometer. ثم تحويل الكثافة المتحصل عليها إلى ما يقابلها من تركيز مئوي وبالتالي يمكن معرفة نسبة الرطوبة في العينة.

كما يمكن استخدام أيدرومترات المحاليل مثل أيدروميتر البالنج أو البركس أو البومية لتعيين التركيز المئوي ثم استنتاج نسبة الرطوبة. وتعتبر هذه الطريقة سريعة وسهلة ولو أنها أقل حساسية ودقة بعكس طريقة قنينة الكثافة التي تأخذ وقتاً في عمليات الوزن ولكنها دقيقة في النتائج المتحصل عليها.

د) طريقة الرفراكتوميتر Refractometery

وهذه الطريقة تعتمد على استخدام خواص انكسار الأشعة الضوئية خلال منشور زجاجي وتعيين معامل الانكسار، بالإضافة إلى أنه يمكن تقدير النسبة المئوية للمواد الصلبة الذائبة في نفس الجهاز وبالتالي استنتاج نسبة الرطوبة في العينة.

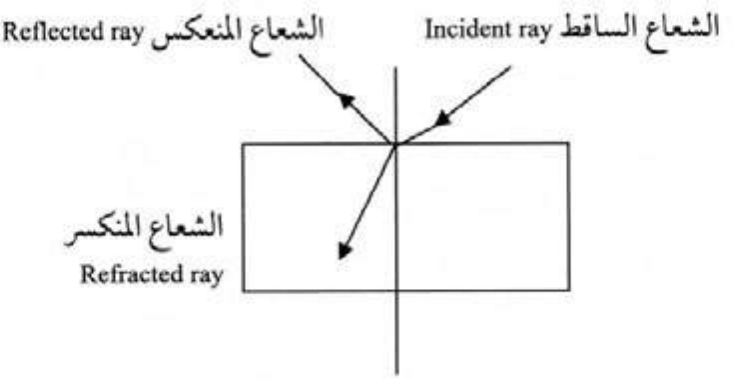
وتستخدم هذه الطريقة في تقدير رطوبة الخضروات والفاكهة والمحاليل السكرية والمحاليل الملحية ومنتجات الطماطم.

يمكن تقدير الرطوبة في منتجات المحاليل السكرية المختلفة. واللبن المكثف باستخدام هيدرومتر البومية Baume (تقدير المواد الصلبة)، هيدرومتر البركس Brix (تقدير ٪السكريات)، ووسائل الوزن النوعي Gravimeter أو باستخدام الرفراكتومترات Refractometers، وإذا ما أجري القياس الرفراكتومتري بطريقة سليمة، ولم تكن هناك أي رواسب صلبة على المنشور الزجاجي فإن هذه الطريقة

تعطي نتائج سريعة وبدرجة دقة مذهلة كما يمكن تقدير المواد الصلبة الذائبة في الفواكه ومنتجاتها باستخدام الرفراكتوميتر. ويبين الشكل رقم(٤,٤) الانعكاس والانكسار في القياسات الرفراكتومترية.

الشكل رقم (٤,٢). الهيدرومترات

الشكل رقم (٤,٣). الرفراكتومترات.



الشكل رقم (٤,٤). الانعكاس والانكسار في القياسات الرفراكتومترية.

الفصل الخامس

تحليل الرماد والعناصر المعدنية

(٥,١) المقدمة

يعتبر محتوى الرماد مقياسا لكمية المعادن الموجودة في الغذاء بينما يعتبر المحتوى المعدني مقياساً لكمية المركبات غير العضوية الموجودة في الغذاء مثل الصوديوم والبوتاسيوم والكالسيوم والكلور ولقياس محتوى الرماد والمعادن في الأغذية أهمية للعديد من الأسباب ومنها :

١- **البطاقة التغذوية:** التركيز ونوع المعادن الموجودة في أغلب الأحيان يجب أن تكون من اشتراطات البطاقة الغذائية.

٢- **الجودة:** جودة الكثير من الأغذية تعتمد على تركيز ونوع المعادن في الغذاء متضمناً الطعم، المظهر، القوام، الثباتية.

٣- **ثباتية الأحياء الدقيقة:** المحتويات المعدنية العالية أحياناً تستخدم لإعاقة نمو بعض الكائنات الحية المجهرية.

٤- **التغذية:** بعض المعادن ضرورية للحمية الصحية مثل الكالسيوم، الفوسفور، البوتاسيوم، الصوديوم بينما أنواع أخرى يمكن أن تكون سامة مثل الرصاص، الزئبق، الكادميوم، الألومنيوم.

٥- **التصنيع:** إن من المهم في أغلب الأحيان معرفة المحتوى المعدني للأغذية أثناء عملية التصنيع لأن ذلك يؤثر على الخواص الكيموفيزيائية للأغذية.

(٥,٢) تقدير محتوى الرماد

محتوى الرماد عبارة عن المواد غير العضوية المتبقية بعد إزالة الماء والمركبات العضوية بالتسخين وفي وجود عوامل تأكسدية والتي تمثل كمية العناصر المعدنية الموجودة في الغذاء. والمتبقيات التحليلية والتي تزود المعلومات حول المحتوى المعدني الكلي تعتمد على أن المعادن يمكن أن تميز من كل المكونات الأخرى الموجودة في الغذاء في بعض الطرق القابلة للقياس. إن الطرق المستعملة على نحو واسع مستندة على الحقيقة بأن العناصر المعدنية لا يمكن أن تتحطم بالحرارة.

الطرق الرئيسية الثلاثة لقياس محتوى الرماد: الترميد الجاف والترميد الرطب والبلازما بأعلى درجة حرارة. يعتمد اختيار طريقة معينة للتحليل على الغرض من التحليل ونوع الغذاء المراد تحليله والأجهزة المتوفرة. يستخدم الرماد كذلك كخطوة أولى في تحليل العينات لعناصر معدنية قليلة بواسطة جهاز الامتصاص الذري أو بطرق أخرى مختلفة، والمحتوى الرمادي عادة ٠,٥٪ في الأغذية الطازجة وفي بعض الأغذية المعاملة قد تصل نسبة الرماد إلى ١٢٪ كما في اللحم البقري المجفف.

(٥,٢,١) إعداد العينة للتحليل Sample preparation

من الأساسيات التي يجب التأكيد عليها دائماً أن تكون العينة المعدة للتحليل ممثلة تماماً للمادة الغذائية المزمع تحليلها. وعادة يتراوح وزن العينة المناسب لتقدير الرماد من ١ إلى ١٠ جم. ويجب أن لا تؤثر عمليات إعداد العينات كالجرش والطحن على محتواها من الرماد، وإذا كان تقدير الرماد خطوة من خطوات تقدير العناصر المعدنية فإنه يجب أن نتجنب حدوث أي تلوث بعناصر معدنية أخرى.

وعادة ما تجفف المواد النباتية بالطرق الروتينية العادية قبل تقدير الرماد فيها. ويمكن تقدير الرماد مباشرة في المواد النباتية التي يقل محتواها الرطوبي عن ١٥٪ دون حاجة لتجفيفها.

أما المنتجات الحيوانية المرتفعة في نسب الدهون وأنواع الحلوى المختلفة وكذلك التوابل فتتطلب معاملات خاصة قبل تقدير الرماد فيها، فارتفاع محتوى المواد الغذائية من الدهون أو الرطوبة قد يسبب حدوث طرطشة أو انتفاخ، وارتفاع محتواها من السكريات يؤدي لتكوين رغاوى أثناء تقدير الرماد مما قد يسبب حدوث فقد معنوي في العينة أثناء التقدير. فاللحوم، ومنتجات الحلوى والتوابل يفضل تبخير رطوبتها حتى جفافها سواء في حمام ماء ساخن أو بمصباح أشعة تحت الحمراء، هذا وقد تضاف نقطة أو نقطتين من زيت الزيتون الخالي من الرماد للسماح بهروب بخار الماء وتجنب تكون قشرة صلبة على سطح هذه المنتجات أثناء تجفيفها أو تقدير الرماد فيها. تتضمن المشاكل المحتملة الأخرى تلوث العينات بالمعادن وخاصة عند تقدير العناصر المعدنية وهذا يكون أثناء الطحن ومن الزجاجيات والبوتقات والتي تتصل بالعينة أثناء التحليل ولنفس السبب يوصى دائماً باستخدام ماء مقطر منزوع الأيونات Distilled – deionized water أثناء تحضير العينات.

(٥,٢,٢) الترميد الجاف Dry Ashing

يتم حرق العينات في فرن احتراق muffle furnace على درجات حرارة تتراوح بين ٥٠٠° م إلى ٦٠٠° م فيتبخر الماء والمواد الطيارة وتحترق المواد العضوية في وجود الأوكسجين في الهواء مكونة ثاني أكسيد الكربون والنتروجين والماء وتتحول معظم المعادن إلى أكاسيدها وكبريتاتها وكلوريداتها وسليكاتها. هذا وقد تتطاير عند استخدام هذه الطريقة بعض المعادن جزئياً كالحديد، الرصاص، الزئبق وذلك فإنه يوصى باستخدام طرق أخرى لإنتاج الرماد إذا ما كانت عملية الترميد خطوة ابتدائية للتقدير الكمي للعناصر المعدنية.

وتتلخص الطريقة العامة لتقدير الرماد بأن توزن العينة قبل وبعد الترميد لقياس تركيز الرماد الموجود. ويمكن أن تحسب نسبة الرماد على أساس الوزن الجاف أو الرطب.

$$\text{٪الرماد (على أساس الوزن الجاف)} = \frac{\text{وزن الرماد}}{\text{وزن العينة (جافة)}} \times ١٠٠$$

$$\text{٪الرماد (على أساس الوزن الرطب)} = \frac{\text{وزن الرماد}}{\text{وزن العينة (رطبة)}} \times ١٠٠$$

تختلف البواتق Crucibles المستخدمة في تقدير الرماد بخواصها وصفاتها. فبواتق الكوارتز مقاومة للأحماض والهالوجينات إلا أنها غير مقاومة للقلويات. أما البواتق من النوع Vycor فإنها تتحمل درجات حرارة حتى ٩٠٠° م، بينما لا يمكن استخدام أنواع البواتق البيركس Pyrex Gooch إذا ما زادت درجة حرارة تقدير الرماد عن ٥٠٠° م. ويؤدي إنتاج الرماد على درجات حرارة منخفضة نسبياً (بين ٥٠٠-٥٢٥° م) إلى ارتفاع قيم التقدير وذلك بسبب معدل تحلل الكربونات وتجنب تطاير بعض الأملاح. وتتماثل بواتق البورسلين Porcelain مع بواتق الكوارتز في كثير من صفاتها إلا أنها قد تتعرض للكسر عند حدوث تغير فجائي في درجات الحرارة. وعادة يكثر استخدام بواتق البورسلين لانخفاض سعرها نسبياً. أما بواتق الصلب Steel فتقاوم الأحماض والقلويات وتتميز بانخفاض سعرها إلا أنها تتكون من الكروم والنيكل مما يجعلها مصدراً محتملاً لتلوث الرماد وتغير من تركيبه. أما بواتق البلاتين فتتميز بالخمول وتعتبر من أفضل أنواع البواتق إلا أنها تكون مكلفة جداً.

ومن أهم مزايا تقدير الرماد بطرق الحرق الجاف

أنها تعتبر طريقة آمنة ولا تحتاج لاحتياطات خاصة بعد بدء الحرق. ويمكن استخدام عدد كبير من البواتق وبذلك يتم تقدير الرماد في عدد كبير من العينات في آن واحد.

كما يمكن الاستفادة من الرماد الناتج في تحليلات أخرى كتقدير العناصر المعدنية أو بتقدير الرماد غير الذائب في الأحماض أو بتقدير الرماد الذي يذوب أو لا يذوب في الماء.

أما أهم عيوب تقدير الرماد بطرق الحرق الجاف

فهي طول الفترة الزمنية اللازمة للحرق الجاف والتي تتراوح بين ١٢-٢٤ ساعة. والسعر المرتفع لأفران الحرق وتطاير بعض العناصر المعدنية هي أحد عيوب طريقة الترميد الجاف كما قد تحدث تفاعلات بين بعض المعادن وبواتق التقدير ومن أهم العناصر المحتمل تعرضها للتطاير أثناء الحرق على درجات عالية الخارصين والنيكل والزئبق والرصاص والنحاس.

(٥,٢,٣) الترميد الرطب Wet Ashing

يطلق على الطريق الرطبة قي تقدير الرماد أحياناً "الأكسدة الرطبة" أو الهضم الرطب وأهم أهداف هذه الطريقة هو إنتاج الرماد لتحليل العناصر المعدنية. وهي طريقة لأكسدة المواد العضوية باستخدام الأحماض والمواد المؤكسدة أو مخلوط منهما فتذوب المعادن في تلك الأحماض دون حدوث تطاير لها. ودائماً ما يفضل استخدام هذه الطريقة عند تحليل العناصر المعدنية في المواد الغذائية ويستخدم عادة حامض النتريك مع الكبريتيك أو البيروكلوريك وتجرى العملية تحت خزانة محكمة تمنع نفاذ الغازات.

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 ١٠ دقائق إلى بضع ساعات في درجات حرارة حوالي ٣٥٠° م والناتج يمكن أن يستخدم لتحليل العناصر المعدنية.

ومن مزايا هذه الطريقة أن المعادن دائماً في محلول أثناء التقدير ولذلك فليس هناك فرصة لفقدها نتيجة تطايرها، زمن الأكسدة منخفض نسبياً، ويعيب هذه الطريقة أنها تحتاج إلى يقظة وانتباه من الشخص القائم بالتقدير، وتستخدم فيها مركبات كيميائية خطرة (مؤكسدات قوية كحامض النتريك أو قابلة للإشتعال عند ملامستها للمواد البلاستيكية كما فى حامض البيركلوريك) ولا يمكن استخدام تلك الطريقة في تقدير الرماد بعدد كبير من العينات في آن واحد.

(٥,٢,٤) طريقة البلازما لتقدير الرماد على درجات حرارة منخفضة

Low Temperature Plasma Ashing

توضع العينة في غرفة زجاجية مفرغة بواسطة مضخة تفريغ وفيها يتم ضخ كمية قليلة من الأوكسجين النشط إلى الغرفة ويحصل تكسير للأوكسجين الناشئ ($O_2 \longrightarrow 2O$) يجري توليده بواسطة مولد مجال كهرومغناطيسي. المركبات العضوية في العينة سيحصل لها تأكسد سريع بالأوكسجين الناشئ وتتبخر الرطوبة بسبب درجة الحرارة المرتفعة.

هذا ويعتبر أهم ما يميز طريقة بلازما لتقدير الرماد درجة الحرارة المنخفضة المستخدمة في تلك الطريقة (١٥٠° م أو أقل) مما يؤدي لعدم تغيير التركيب الميكروسكوبي والبللوري 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.

(٥,٢,٥) 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 ٤٠ دقيقة وهي ما يعادل ٤ ساعات باستخدام طريقة أفران الحرق العادية muffle furnace.

(٥,٣) تقدير الرماد القابل للذوبان وغير القابل للذوبان
Soluble and In-soluble Ash in Water

يستخدم هذا التقدير كدلالة على نسبة الفواكه في المربيات والجلي حيث يدل انخفاض نسبة الرماد الذائب في الماء على زيادة نسبة الفاكهة في منتجاتها المحفوظة بالتركيزات العالية من السكر. وفي هذه الطريقة يخفف الرماد بالماء المقطر ثم يسخن حتى الغليان ثم يرشح المحلول باستخدام ورقة ترشيح خالية من الرماد. تجفف ورقة الترشيح ثم يعاد الحرق لورقة الترشيح ومحتوياتها ويوزن الرماد المتحصل عليه وتحسب النسبة المئوية للرماد غير القابل للذوبان في الماء، أما نسبة الرماد القابل للذوبان في الماء فتحسب بالطرح من نسبة الرماد الكلي للعينة.

(٥,٤) الرماد غير الذائب في الأحماض Ash Insoluble in Acids

يعتبر هذا التقدير مقياساً لتلوث أسطح الفواكه والخضروات وأغلفة القمح والأرز بملوثات التربة كالسليكات والتي لا تذوب في الأحماض عدا بروميد الهيدروجين.

(٥,٥) قلوية الرماد Alkalinity of Ash

يتميز رماد الفواكه والخضروات بقلويته لاحتوائه على عناصر الكالسيوم والماغنسيوم والبوتاسيوم والصوديوم، أما رماد اللحوم وبعض الحبوب فيكون حامضياً لاحتوائه على عناصر الفوسفور والكبريت والكلوريد. وتتخذ درجة قلوية الرماد كدليل على جودة الفواكه وعصائرها، فأملاح أحماض الستريك والماليك والطرطريك تنتج كربونات (قلوية التأثير) عند حرقها.

(٥,٦) مقارنة بين طرق الترميد المختلفة

إن إجراء طريقة الترميد الجاف التقليدي بسيطة التنفيذ إذ لا تحتاج إلى عمالة ولا تتطلب مواد كيميائية غالية ويمكن أن تستخدم لتحليل العديد من العينات بشكل آلي. على الرغم من ذلك فإن هذا النوع من التحاليل مضيعة للوقت والمعادن الطيارة قد تفقد عند درجات الحرارة العالية ولكن الميكروويف يمكن أن يعوض عن ذلك بقدرته على تسريع الترميد الجاف. الترميد الرطب وطريقة البلازما على درجة الحرارة المنخفضة أكثر سرعة وأقل خسارة للمعادن الطيارة لأن العينات تسخن عند درجات حرارة منخفضة على الرغم من ذلك يتطلب استخدام الترميد الرطب مواد كيميائية خطرة وتركيز في العمل بينما طريقة البلازما تتطلب أجهزة غالية الثمن وطاقتها الإنتاجية منخفضة.

(٥,٧) تحليل العناصر المعدنية Determination of Mineral Content

معرفة تركيز ونوع المعادن الموجودة في المنتجات الغذائية مهمة في أغلب الأحيان في صناعة المواد الغذائية. فالخصائص الرئيسية الفيزيوكيميائية للمعادن والتي تستخدم في تمييزهم من (Matrix) الأنسجة المحيطة هي: الثباتية المنخفضة وقدرتها على

التفاعل مع بعض الكواشف الكيميائية لإعطاء تغيرات قابلة للقياس والأطياف الكهرومغناطيسية المتميزة هي الوسيلة الأكثر فاعلية في تقدير نوع وتركيز العناصر المعدنية في الأغذية ومن الأمثلة على ذلك استخدام الامتصاص الذري أو الإشعاع السبكتروفوتومتري ومثل هذه الأجهزة يمكن أن تستخدم لتحديد كمية المعادن في الأغذية.

وتجدر الإشارة في هذا الصدد إلى أهمية التقدير الدقيق للمعادن في غذاء الإنسان لأهميتها الغذائية، ولدورها في التصنيع الغذائي، ولاحتمالات سميتها. هذا ولم تتاح حتى الآن طريقة معملية لتقدير كل العناصر بدرجة متساوية من الدقة التحليلية وفي مختبرات تحليل الأغذية الصغيرة، والتي يكون القائمين على تشغيلها من الفنيين المهرة، يفضل إجراء تحليل العناصر المعدنية بالطرق التقليدية البسيطة، لخفض تكاليف التحليل. أما إذا كان عدد العينات المطلوب تحليل محتواها من العناصر المعدنية كبيراً خاصة في المختبرات التي تقوم بدراسات مسحية دورية للدولة على الأغذية أو ماء الشرب، فإن عامل الوقت، والذي يفضل اختصاره، يجعل الأفضلية لاستخدام أجهزة التحليل السريعة، برغم تكلفتها العالية.

(٥,٧,١) تقدير العناصر المعدنية باستخدام جهاز قياس طيف الامتصاص الذري Atomic Absorption Spectrophotometer أو جهاز طيف الانبعاث Emission Spectroscopy:

يعتمد اختيار أحد هذين الجهازين في التحليل على نوع العناصر المطلوب تقديرها. ويؤدي وجود فرن الاحتراق الجرافيتي Graphite Furnace بجهاز طيف الامتصاص الذري لإكساب الجهاز حساسية عالية تؤدي لإمكانية تقدير العناصر المعدنية التي يصل تركيزها لأجزاء في البليون ($١٠^{-٩}$)، وهذا التركيز بالطبع، لا يمكن

قياسه بالطرق التقليدية. ويعتمد اتخاذ قرار اختيار جهاز ما لتحليل العناصر المعدنية على عوامل عديدة أهمها تكاليف التحليل، وتوافر الأجهزة اللازمة للتحليل في مختبر ما، وتكلفة الأجهزة، ودرجة الدقة والحساسية المطلوبة من التحليل، والأهمية النسبية لنوعية العناصر موضع التقدير.

ومن أهم الاعتبارات، والقواعد العامة التي يجب مراعاتها، وتفهمها جيداً قبل البدء في تقدير العناصر المعدنية ما يلي:

- يجب أن تكون كل الأجهزة والأدوات المستخدمة في التقدير نقية وخاملة قدر الإمكان، كما يفضل استخدام أدوات من الكوارتز والبلاتين، والكربون الزجاجي.

- ضرورة تنظيف الأجهزة والأوعية والأدوات المختلفة المستخدمة في التقدير بواسطة البخار لخفض معدل فقد بعض العناصر المعدنية بالادمصاص، وتقليص قيمة البلانك.

- يجب تجنب كافة أخطاء التقدير قدر الإمكان، ويفضل استخدام طرق التحليل الدقيقة والتي تستخدم فيها أدوات وأوعية صغيرة الحجم، على أن تكون مساحة سطحها لحجمها مناسبة، كما يفضل إجراء معظم خطوات تقدير العناصر المعدنية في وعاء واحد. وإذا كانت العناصر المعدنية متطايرة فيجب تقديرها في نظام مقفل وأن تكون درجة الحرارة المستخدمة في التقدير أقل ما يمكن لخفض أو تجنب تطاير تلك المعادن.

- يجب أن تكون كافة الجواهر الكشافة، والغازات الخاملة والمواد المساعدة في التقدير نقية قدر الإمكان. فالماء عند استخدامه في الإذابة يجب أن يكون في أعلى درجات النقاء وخالي تماماً من أية عناصر معدنية، وفي كل الأحوال يفضل دائماً اتخاذ عينة بلانك.

- يفضل دائماً تقدير العناصر المعدنية باستخدام أقل درجة حرارة ممكنة، على أن تكون أيضاً ثابتة قدر الإمكان.

- يجب تجنب تلوث العينات من جو المعمل باستخدام مناضد وحجرات نظيفة، ويفضل إمرار الهواء الداخل لحجرات التقدير خلال مرشحات لادمصاص أي عناصر ملوثة للهواء، ويصبح هذا الإجراء إلزامياً عندما يكون التقدير للعناصر المعدنية ذات التركيزات المنخفضة جداً (١٠$^{-٦}$ إلى ١٠$^{-٩}$ مولر).

- في كافة طرق التقدير، يفضل دائماً خفض خطوات التقدير قدر الإمكان لتجنب احتمالات التلوث.

- عادة ما يتم تحليل نفس العينة في أكثر من مختبر، وتفضل المختبرات المرجعية Reference Laboratory للتأكد من كفاءة الطريقة، وكفاءة الفنيين، وضمان دقة النتائج، وكفاءة تكرارية التقدير Reproducibility.

- تؤثر عوامل عديدة على دقة نتائج تحليل العناصر المعدنية، منها على سبيل المثال لا الحصر، رقم الـ pH وشكل العينة ودرجة الحرارة، ونوعية الجواهر الكشافة وكفاءتها في التقدير ... الخ. ولذلك يجب إتباع كافة الخطوات والإرشادات للممارسة العملية السليمة أثناء تقدير العناصر المعدنية.

- عند تقدير عناصر المولیبدینم، والمنجنيز والحديد، والفوسفور، يجب أن يتم تقديرها وهي ذائبة في محلول حامض هيدروكلوريك مخفف وذلك بعد الهضم الرطب للعينة الغذائية بحامضي النيتريك والبيركلوريك. أما عند الرغبة في التقدير الكمي لعناصر الكبريت، والكالسيوم، والبوتاسيوم، والصوديوم فيتم الاستخلاص بمحلول ثنائي ثيازون dithiazone القلوي. وعند تقدير عناصر الزنك والكوبالت والنحاس يستخدم في استخلاصها محلول ثنائي ثيازون الحامضي.

- في طرق التقدير الحديثة يمكن تقدير عديد من العناصر المعدنية في عملية واحدة مهما قلت تركيزاتها إلا أن الأجهزة المطلوبة لمثل هذا التحليل مكلفة وقد تتجاوز الاعتمادات المالية لمعظم مختبرات رقابة الجودة.

(٥,٧,٢) تقدير العناصر المعدنية بتفاعلات الأكسدة والاختزال Redox reactions

تعتبر تفاعلات الأكسدة والاختزال أساساً لطرق تحليل عديدة، فتفاعل المادة مع عنصر الأوكسجين يطلق عليه أكسدة oxidation، أما إزالة الأوكسجين من المادة فيطلق عليه اختزال reduction. وفي عملية الأكسدة تزال إلكترونات من الذرة أما الاختزال فهو اكتساب الذرة للإلكترونات. ولذلك فهناك تفاعلات أكسدة أو اختزال لا يساهم فيها الأوكسجين ولكنها تعتمد فقط على إزالة أو اكتساب إلكترونات للذرات المتفاعلة. وبتعبير آخر، فإن أي تفاعل يؤدي لزيادة الشحنة الموجبة يطلق عليه تفاعل أكسدة، بينما يطلق على التفاعل الذي يؤدي لنقص الشحنة الموجبة بالاختزال. وطالما أنه لا يمكن تخليق الإلكترونات أو تحطيمها في التفاعلات الكيميائية العادية، فإن أي عملية أكسدة ستصاحبها بالتالي عملية اختزال، ولذلك فإنه يمكن اعتبار كل تفاعلات الأكسدة والاختزال تفاعل لمادة مؤكسدة مع مادة مختزلة. وهذه التفاعلات المزدوجة تسمى بتفاعل Redox:

$$X^n \longrightarrow X^{n+1} + e^-$$ (تفاعل أكسدة – خسارة إلكترونية)

$$Y^m + e^- \longrightarrow Y^{m-1}$$ (تفاعل اختزال – مكسب إلكتروني)

$$X^n + Y^m \longrightarrow X^{n+1} + Y^{m-1}$$ (تفاعل مزدوج – نقل إلكترونات)

فتختزل المادة المؤكسدة وتؤكسد المادة المختزلة. ويمكن أن تعمل المادة المتفاعلة أو تلك الناتجة من التفاعل كدليل indicator تحدد به دقة انتهاء التفاعل. فالبرمنجات (MnO_4^-)، على سبيل المثال، ذات لون قرنفلي غامق (مؤكسد)، بينما يكون لون أيون

المنجنوز أحمر شاحب جداً (مختزل)، لذلك ففي عملية المعايرة بالبرمنجات لا يستخدم دليل لتحيد نقطة الانتهاء في الكثير من تفاعلات رودكس

$$Mno^{-}4 + 8H^{+} + 5e^{-} \longrightarrow Mn^{2+} + 4H_2O$$ (تفاعل اختزال)

(وردي شاحب) (قرنفلي غامق)

وبوجه عام، فلتفاعلات الأكسدة والاختزال تطبيقات محدودة عند استخدامها في التقدير الكمي للمعادن في الأغذية. ويمكن استخدامها في تقدير تركيز الكالسيوم، والحديد، والنحاس، واليود.

ولتقدير الكالسيوم والحديد بطريقة الأكسدة والاختزال تذاب أكسالات الكالسيوم في حامض الكبريتيك، ويسخن المحلول، وتجري عملية المعايرة بواسطة برمنجات البوتاسيوم حتى نصل لنقطة الانتهاء End point ذات اللون الأحمر الفاتح. وبحجم وعيارية برمنجات البوتاسيوم المستهلكة حتى الوصول لنقطة التعادل يمكن حساب محتوى العينة من الكالسيوم أو الحديد.

وتبين المعادلات التالية طريقة تقدير الحديد بمعايرته بنظام أكسدة واختزال.

$$5Fe^{2-} \longrightarrow 5Fe^{3+} + 5e^{-}$$ (تفاعل أكسدة)

$$Mno4^{-} + 8H^{+} + 5e^{-} \longrightarrow Mn^{2+} + 4H_2O$$ (تفاعل اختزال)

$$5Fe^{2+} + Mno4^{-} + 8H^{+} \longrightarrow 5Fe^{3+} + Mn^{2+} + 4H_2O$$ تفاعل (زوجي)

برمنجات البوتاسيوم تعاير في المحلول المائي لرماد الغذاء. وحيث إن هناك Fe^{2+} موجودة في الغذاء فإن Mno_4 تتحول إلى Mn^{2+} والذي يعطي لون وردي شاحب وحين تتحول كل Fe^{2+} إلى Fe^{3+} فإن Mno_4 تبقى في المحلول وتعطي لون أرجواني والذي هو نقطة النهاية.

(٥,٧,٣) طريقة المعايرة بالترسيب Precipitation Titration

عندما يكون أحد مواد التفاعل بالمعايرة راسباً غير ذائب يمكن تقديره بطرق تعرف بطرق المعايرة بالترسيب وهناك طريقة للمعايرة بالترسيب يطلق عليها طريقة موهر Mohr وتستخدم هذه الطريقة في تقدير الكلوريد في الغذاء حيث تعتمد على تكوين راسب صلب ذا لون برتقالي من كرومات الفضة وتكون نقطة انتهاء هذا التفاعل هي بداية ظهور اللون البرتقالي.

نترات الفضة تعاير في محلول مائي يحتوي على العينة المراد تحليلها ومؤشر الكرومات

$$Ag\,Cl(s) + Na\,NaNO3 \longrightarrow Ag\,NO_3 + Na\,Cl\,(s)$$

التداخل بين الفضة والكلوريد أقوى بكثير من ذلك الذي بين الفضة والكروم. لهذا فإن أيون الفضة سيتفاعل مع أيون الكلوريد ويعطي AgCl وحتى ينتهي أيون الكلوريد كلياً فإن أي إضافة أخرى من نترات الفضة تؤدي إلى تكوين كرومات الفضة غير الذائبة وذات لون برتقالي صلب.

$$Ag^{+} + Cl^{-} \longrightarrow Ag\,Cl\ (\text{عديمة اللون})$$

$$2Ag^{+} + CrO_4^{2-} \longrightarrow Ag_2\,CrO_4\ (\text{برتقالي})$$

إن نقطة النهاية لهذا التفاعل هو بداية ظهور اللون البرتقالي. حجم محلول نترات الفضة (المعروف بالمولارية) يتطلب للوصول للنقطة النهائية ويحسب تركيز الكلوريد في المحلول بعد ذلك.

(٥,٧,٤) الطرق اللونية لتقدير العناصر المعدنية

تمتص بعض الموجات الضوئية في المنطقة المرئية للطيف الكهرومغناطيسي بينما ترتد بعض هذه الموجات من جراء انعكاسها بعد اصطدامها بالمادة. ويتكون اللون الذي نراه للمادة من المدى الذي يقع فيه الطول الموجي للضوء المنعكس. ولكي

يمكن استخدام الطرق اللونية في تقدير عنصر ما، يتحتم أن ينتج عن التفاعل الكيميائي لون ثابت يتكون بتفاعل ما محدد مع العنصر المطلوب تقديره. وتعني زيادة كثافة هذا اللون زيادة تركيز العنصر المقدر ونتيجة لذلك يقل الضوء المار خلال المحلول. وكلما زادت المسافة التي يمر من خلالها الضوء يقل أيضاً الضوء النافذ. ويحكم هذه العلاقات سوياً قانون بيير Beer's Law. وبالتقدير الكمي للضوء المار خلال محلول أو على العكس، الضوء الممتص في المحلول يمكن تقدير تركيزات المواد المتفاعلة. هذا، وقد تم استخدام تلك الأسس لتقدير التركيز لمعادن كثيرة. ويمكن تقدير الفوسفور باستخدام مركب الموليبدوفانادات والذي يتفاعل مع الفوسفور لإنتاج لون (برتقالي مصفر) من مركب الفوسفوليبدوفانادات phosphomolybdovanadate والذي يمكن أن يقاس عند امتصاص طول موجي ٤٢٠ نانومتر ومن ثم يقارن مع المنحنى القياسي وهناك كواشف أخرى مختلفة يمكن أن يقاس بها تركيز المعادن الأخرى بالطريقة اللونية. ويتميز اللون الناتج بثباتيته العالية مما يعطي الأفضلية لتقدير الفوسفور بهذه الطريقة.

(٥,٧,٥) تقدير العناصر المعدنية بالإلكترودات الاختيارية للأيونات

Ion Selective Electrodes

المحتوى المعدني للعديد من الأغذية يمكن أن تقدر باستخدام الإلكترودات الاختيارية للأيونات (ISE) تعمل هذه على نفس الأساس العلمي لتقدير أيونات الهيدروجين ولكن تركيب القطب الكهربائي الزجاجي مختلف إذ تكون حساسة لأنواع معينة من الأيونات بدلاً من (H^+). الأقطاب الإلكترودية الزجاجية متوفرة وبشكل تجارى لتقدير تركيز الصوديوم والأمونيوم الرصاص والكالسيوم والليثيوم والبوتاسيوم فى المحاليل المائية.

عند استخدام الإلكترودات الاختيارية يجب أن ندرك مفهومي النشاط، والتركيز حيث يعتبر النشاط Activity مقياساً للفعالية الكيميائية Chemical Reactivity،

بينما يكون التركيز هو المقياس لكل صور الأيونات في المحلول سواء المرتبطة أو الحرة. وبسبب التفاعلات التي قد تحدث بين الأيونات وبعضها أو بين الأيونات والمذيب فإن التركيز الفعال أو النشاط يكون عادة أقل من التركيز الفعلي. ويمكن ربط النشاط بالتركيز بالمعادلة الآتية:

$$C \times V = A$$

حيث A = النشاط، V = معامل النشاط، C = التركيز

وحينئذ يكون معامل النشاط دالة للقوة الأيونية Ionic Strength، وتكون القوة الأيونية دالة للتركيز، وللشحنات على كافة الأيونات في المحلول. بضبط القوة الأيونية لكل العينات المختبرة وكذلك المحاليل القياسية عند مستوى ثابت تقريباً، يمكن استخدام معادلة Nernst للربط ما بين استجابة الإلكترود وتركيز المادة التي يتم قياسها. ومن الناحية العملية تضبط القوة الأيونية لكل من العينات المختبرة والمواد القياسية التي تستخدم في المعايرة إلى قوة أيونية مرتفعة وثابتة باستخدام المحلول المنظم المناسب. وتعمل المحاليل المنظمة أيضاً على إلغاء أثر الأيونات الأخرى المتداخلة، وضبط رقم الـ pH، وكذلك تحد من التداخلات الكيميائية التي تسببها عمليتي الارتباط، وتكوين المعقدات Complexation. وتجدر الإشارة في هذا الصدد، إلى ضرورة مراعاة الاعتبارات التالية عند قياس تركيز أنواع الأيونات المختلفة باستخدام الإلكترود الاختياري للأيونات:

المحافظة على جهد ثابت للإلكترود المرجعي وإجراء الاختبار على درجة حرارة ثابتة وضبط القوة الأيونية بدقة وضبط رقم الـ pH وإزالة أية تداخلات أيونية وتجنب تداخل طرق التقدير.

والتركيز لأي عنصر معدني يمكن قياسه باستخدام المنحنى القياسي Calibration Curve ويتم ذلك بغمر كلاً من الإلكترودين (المرجعي، الدليل) في سلسلة

من محاليل الأيونات موضع التقدير، معلومة التركيز. ثم يسجل فرق جهد الإلكترود الناشئ في هذه المحاليل القياسية بالمللي فولت، وتوقع النتائج على ورق رسم بياني يعبر محوره الصادي (Y) عن قيم فرق الجهد، ويعبر محوره السيني (X) عن لوغاريثم تركيز المادة القياسية.

وبعد رسم المنحنى القياسي، يتم تحليل العينة المرغوب تقدير تركيز العنصر فيها، ومن قراءة فرق الجهد يمكن من المنحنى القياسي معرفة تركيز العنصر. ودائماً يتميز المنحنى القياسي بجزء خطي ناجم عن الاستجابة الثابتة للإلكترود (مقاسة بالمللي فولت).

وقد يستخدم جهاز الـ pH ذا التدريجين أحدهما لقياس الـ pH والآخر لقياس فرق الجهد بالمللي فولت لتحليل العناصر المعدنية بالإلكترودات الاختيارية. فببساطة يمكن استبدال الإلكترود الزجاجي المستخدم لقياس الـ pH بالإلكترود الاختياري المناسب لأيون عنصر معين، مع ضرورة إتباع تعليمات وإرشادات طريقة التحليل المناسبة.

ومن أمثلة استخدامات الإلكترودات الاختيارية للأيونات، استخدامها في: تقدير الملح والنيترات في اللحوم المصنعة وتحديد محتوى الزبد والجبن من الملح وتقدير الكالسيوم في اللبن وتقدير عنصر الصوديوم في الآيس كريم منخفض الصوديوم وتقييم ثاني أكسيد الكربون في المشروبات الغازية، وتقدير النيترات في الخضروات المعلبة، وهناك أيضاً تطبيقات أخرى لا يتسع المجال لذكرها.

ومن أهم مميزات استخدام طريقة الإلكترودات الاختيارية للأيونات قدرتها على قياس عدد كبير من الأيونات والكاتيونات بصورة مباشرة. وهذه القياسات بسيطة نسبياً وسريعة في الإجراء عند مقارنتها بطرق التحليل الأخرى.

قد لا يحتاج تقدير أيونات العناصر بطريقة الإلكترودات أجهزة إضافية، فجهاز قياس الـ pH يمكن استخدامه أيضاً في قياس فرق الجهد (بالمللي فولت).

ومن مميزات تلك الطريقة أيضاً عدم تأثر عملية القياس بصفات غير مرغوبة في طرق القياس الأخرى مثل وجود عكارة في محلول القياس، أو لونه، أو لزوجته.

ويعاب على طريقة قياس العناصر المعدنية بالإلكترودات الاختيارية للأيونات ما يلي:

- عدم قدرتها على قياس التركيزات المنخفضة والأقل من ٢-٣ جزء في المليون ولو أن هناك أنواع قليلة جداً من الإلكترودات يمكنها قياس تركيزات منخفضة حتى ١ جزء في البليون.
- بطئ استجابة الإلكترود عند التركيزات المنخفضة للأيونات والأقل من $١٠^{-٤}$ مولر.
- احتمال قصر فترة صلاحية الإلكترودات الاختيارية مما يجعل فترة تشغيلها محدودة.

الفصل السادس

تحليل الكربوهيدرات

Carbohydrate Analysis

(٦,١) مقدمة

تعد الكربوهيدرات من المصادر الرئيسية للطاقة التي يحصل عليها الإنسان من غذائه، ولها صفاتها الطبيعية ودورها الوظيفي الهام في المنتجات الغذائية كما تلعب دوراً حيوياً في العمليات الفسيولوجية في جسم الإنسان. وتمثل الطاقة التي يحصل عليها الإنسان من الكربوهيدرات وحدها، على مستوى العالم حوالي ٧٠٪. وينصح تغذوياً أن يكون النشا هو المصدر الرئيسي للطاقة التي يحصل عليها الإنسان من الكربوهيدرات.

وتكسب الكربوهيدرات الأغذية صفات عديدة تشمل الحجم، والشكل، واللزوجة، والثبات الاستحلابي، وثبات الرغوة، كما تزيد من قدرتها على الارتباط بالماء، وتعمل على احتفاظ الأغذية بثباتها عند تسييحها بعد تجميدها. وللكربوهيدرات أيضاً دورها الهام في روائح ونكهات الأغذية، بالإضافة لما تضيفه على الأغذية من صفات القوام، فقد يكون قوام الغذاء هشاً، أو صلباً،أو جافاً أو ناعماً أو حتى على صورة قوام جيلي. وتساهم الكربوهيدرات أيضاً في إحساس الإنسان بالشبع. وتستخدم مركبات كربوهيدراتية كالسكريات الأحادية والثنائية كمحليات طبيعية، كما تعتبر المركبات الكربوهيدراتية المادة الخام الأساسية في التخمرات الصناعية.

ويبين الجدول رقم (٦,١) الأنواع الرئيسية للمركبات الكربوهيدراتية في الأغذية المختلفة والتي معظمها نباتية المصدر عدا سكر اللاكتوز في الحليب.

(٦,٢) تصنيف الكربوهيدرات Classification of Carbohydrates

(٦,٢,١) السكريات الأحادية Monosaccharides

السكريات الأحادية مركبات بلورية ذائبة بالماء هي الدهيدات أو كيتونات تشتمل على مجموعة كربونيل واحدة ومجموعة أو أكثر هيدروكسيل. معظم السكريات الأحادية الطبيعية تحتوي على خمس Pentoses أو ست hexoses ذرات كربون. السكريات السداسية hexoses الشائعة في الأغذية هي الجلوكوز glucose والفركتوز fructose والجلاكتوز galactose، بينما الخماسية pentoses الشائعة الاربينوز arabinose والزيلوز xylose. مراكز التفاعل في السكريات الأحادية هي مجموعات الكربونيل والهيدروكسيل.

(٦,٢,٢) السكريات القليلة التسكر Oligosaccharides

هي بليمرات من السكريات الأحادية منخفضة الوزن الجزئي نسبيا وترتبط مع بعضها بشكل تساهمي من خلال روابط جليكوسيدية Glycosidic تتألف السكريات الثنائية Disaccharide من وحدتين من السكريات الأحادية Monomers بينما تتألف السكريات الثلاثية من ثلاثة وحدات السكريات القليلة التسكر والتي تحتوى على الجلوكوز والفركتوز والجلاكتوز Monomers هي الأكثر شيوعاً في الأغذية.

(٦,٢,٣) السكريات عديدة التسكر Polysaccharides

أغلبية الكربوهيدرات الموجودة في الطبيعة توجد كمتعدد السكريات. السكريات المتعددة هي متبلمرات عالية الوزن الجزيئي من السكريات الأحادية.

يسمى عديد السكريات المشتمل على نفس السكريات الأحادية Homopolysaccharides (السكريات العديدة التسكر المتجانسة أو السكريات العديدة التسكر التغذوية) (مثل النشا، السليلوز والجليكوجين المتكونة من الجلوكوز فقط). بينما الذي يشتمل على أكثر من نوع واحد من Monomer يعرف بالـ Heteropolysaccharides (السكريات المتعددة غير المتجانسة أو السكريات العديدة التسكر البنائية (مثل البكتين والهيميسليلوز والصموغ).

الجدول رقم (٦,١): بعض أنواع الكربوهيدرات الرئيسية في الأغذية.

الكربوهيدرات	المصدر	المكونات
السكريات الأحادية:		
الجلوكوز D-Glucose	يوجد بصورة طبيعية في عسل النحل، والفواكه، عصائرها – يضاف للأغذية على صورة شراب الذرة، وينتج أثناء التصنيع بالتحليل المائي للسكروز.	
الفركتوز D-Fructose	يوجد بصورة طبيعية في عسل النحل، والفواكه، عصائرها – يضاف للأغذية على صورة شراب الذرة، عالي الفركتوز، وينتج أثناء التصنيع بالتحليل المائي للسكروز.	
سكريات كحولية:		
السوربيتول D-Glucitol	يضاف للمواد الغذائية، يعمل كمادة مرطبة Humictant.	

تابع الجدول رقم (٦,١).

الكربوهيدرات	المصدر	المكونات
السكريات الثنائية:		
السكروز Sucrose	واسع الانتشار في أنسجة الفواكه والخضروات والعصائر بنسب متفاوتة، وبصفة خاصة القصب والبنجر.	D-جلوكوز، D-فركتوز
اللاكتوز Lactose	في اللبن والمنتجات المشتقة منه.	
المالتوز Maltose	يوجد في المولت، وبنسب متفاوتة في شراب الذرة، والمالتودكسترينات.	D-جلاكتوز، D-جلوكوز D-جلوكوز
السكريات قليلة التسكر :		
مالتو أوليجوسكريد Maltooligosaccharide	توجد بنسب متفاوتة في شراب الذرة، والمالتودكسترينات	D-جلوكوز
الرافينوز Rafffinose (سكر ثلاثي)	يوجد بنسب ضئيلة في الفول beans	D-جلوكوز، D-فركتوز، D-جلاكتوز
الستاكيوز Stachyose	يوجد بنسب ضئيلة في الفول	D-جلوكوز، D-فركتوز، D-جلاكتوز
السكريات عديدة التسكر	ينتشر بصورة كبيرة في الحبوب والدرنات، ويضاف للأغذية المصنعة.	D-جلوكوز
السكريات عديدة التسكر البنائية	تضاف لمكونات المنتجات الغذائية المختلفة لتؤدي أدوار وظيفية في أغلب الأحيان	

تابع الجدول رقم (٦,١).

الكربوهيدرات	المصدر	المكونات
الجينات Algins		
كربوكسي ميثيل سليلوز CMC		
كاراجينان carageenans		
صمغ الجوار Guar gum		
صمغ عربي Arabic gum		
هيدروكس بروبيل ميثيل سليلوز HPMC		
صمغ بذور الخروب Locust bean gum		
ميثيل سليلوز Mythylcelluloses		
مركبات بكتينية Pectins		
زانثان Xanthan		
السكريدات العديدة لجدر الخلايا	توجد بصورة طبيعية في الخلايا النباتية	
بكتين طبيعي		
سليلوز		
هيميسليلوز		
بيتاجلوكان		

وتوجد حوالي ٩٠٪ من الكربوهيدرات في الطبيعة في صورة سكريات عديدة وكما سبق القول فإن النشا فقط من أنواع السكريات العديدة التي يستطيع الإنسان أن يهضمها أولاً إلى وحدات جلوكوز والتي يمثلها في جسمه ليحصل منها

على السعرات الحرارية اللازمة له. أما السكريات العديدة غير القابلة للهضم فتقسم إلى قسمين الذائبة وغير الذائبة. وتمثل هذه المجموعة مع الليجنين الألياف الغذائية dietary fibers. وتنظم الألياف الغذائية سواء الذائبة أو غير الذائبة وظائف الإخراج العادية، كما تخفض من معدل الاستجابة لزيادة السكر في الدم hyperglycemic كما قد يكون لها دوراً في خفض كوليسترول السيرم. وعلى أية حال، فقد تضاف الألياف الغذائية إلى بعض المنتجات المصنعة بسبب الصفات الوظيفية التي تضيفها للأغذية.

وتشمل الطرق التحليلية للمركبات الكربوهيدراتية الطرق الوصفية اللونية، ثم طرق التقدير الكمي سواء الكيميائية، أو اللونية، أو الكرماتوجرافية ومنها الوصفية أو الكمية لكروماتوجرافيا الورق، وكروماتوجرافيا الغاز GC لمشتقات السكريات، وكروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة TLC، وأيضاً الطرق الإنزيمية، وطرق الإلكتروفوريسيس، بالإضافة لطرق كروماتوجرافيا السائل ذات الأداء العالي HPLC.

(٦,٣) تجهيز العينة Sample Preparation

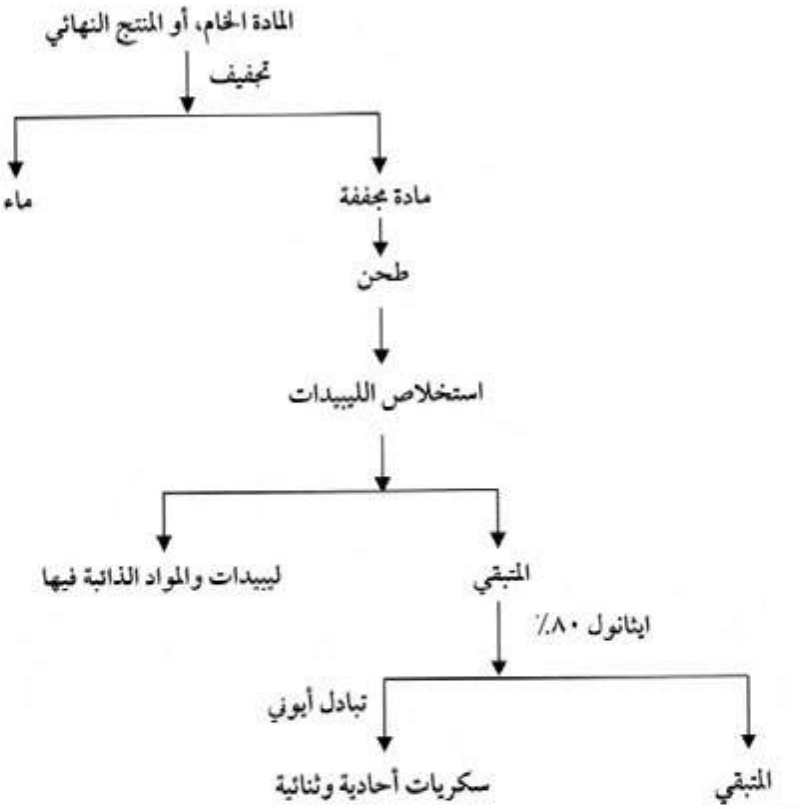
كمية التجهيزات المطلوبة لتجهيز عينة لتحليل الكربوهيدرات تعتمد على طبيعة الغذاء المحلل. المحاليل المائية، مثل عصائر الفاكهة والشراب syrup والعسل. تتطلب عادة قليلاً من التجهيز قبل التحليل. من الناحية الأخرى، تحتوي العديد من الأغذية على الكربوهيدرات التي ترتبط طبيعياً أو كيميائياً بمكونات أخرى، (مثال على ذلك: المكسرات و محاصيل الحبوب و الفاكهة والخبز والخضروات). في هذه الأغذية فإنه من الضروري بمكان فصل الكربوهيدرات من بقية الغذاء قبل أن يتم

التحليل. تعتمد الطريقة المحددة لتقدير الكربوهيدرات على نوع الكربوهيدرات ونوع نظام الغذاء وغرض التحليل، على أية حال، هناك بعض الإجراءات الشائعة للعديد من تقنيات الفصل على سبيل المثال، تجفف الأغذية عادة تحت التفريغ (لمنع الهدم الحراري) وتطحن إلى مسحوق ناعم (لتحسين استخلاص المذيب) وبعد ذلك نزع الدهن defatted بمذيب استخلاص.

وعادة ما تكون الخطوة الأولى في إعداد العينات في أغلب المواد الغذائية للتحليل هي عملية التجفيف، والتي يمكن الاستفادة منها أيضاً في تقدير المحتوى الرطوبي للمادة الغذائية. وتتم عملية التجفيف فيما عدا السوائل بوضع كمية مناسبة من المادة الغذائية في فرن تجفيف تحت تفريغ على ٥٥°م وضغط ١٠٠ مم زئبق.

وتلي عملية التجفيف طحن العينة لتصبح مسحوق ناعم، ثم تستخلص الليبيدات من العينة باستخدام مخلوط الكلوروفورم والميثانول (٥:٩٥ ح/ح) في جهاز سوكسلت. ويؤدي استخلاص الليبيدات من عينة المادة الغذائية قبل تحليل الكربوهيدرات لسهولة واكتمال استخلاص الكربوهيدرات. ويوضح الشكل رقم (٦,١) رسم تخطيطي لإعداد العينة للتحليل واستخلاص السكريات الأحادية والثنائية.

هذا وقد تستخدم طرق أخرى للاستخلاص مع منتجات غذائية معينة لتحليل منتجات حبوب الإفطار الجاهزة للأكل فلا يتم استخلاص الدهون بواسطة الإثير البترولي ثم تستخلص السكريات باستخدام الايثانول ٥٠٪.



الشكل رقم (٦,١). رسم تخطيطي لإعداد العينة للتحليل واستخلاص السكريات الأحادية والثنائية.

(٦,٤) استخلاص وتنقية المركبات الكربوهيدراتية

تحضر الأغذية الصلبة بفرمها وتنعيمها قبل الاستخلاص بحيث لا يتأثر محتواها من الرطوبة والتركيب الكيمياوي بعدها تبدأ عملية الاستخلاص. فالأغذية المحتوية على نشا يتم استخلاص السكريات منها على درجة حرارة منخفضة تتراوح

ما بين ٤٠° -٥٠°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. أما إذا كانت المستخلصات ذات نشاط إنزيمي واضح فعند هذه الحالة يضاف إليها كلوريد الزئبقيك Mercuric chloride لتثبيط هذه الإنزيمات وتجنب تحللها للسكريات أثناء فترة الانتظار أو الخزن الطويل لهذه العينات.

يتم استخلاص السكريات من المصادر النباتية بواسطة محلول كحولي مقطر مرتين ومعادل بكربونات الكالسيوم ويشترط بعد امتزاجه بماء العينة أن يهبط تركيزه في النهاية إلى ٨٠٪ وتسخن العينة مع الكحول على حمام مائي لمدة ٣٠ دقيقة وعلى حرارة منخفضة يتم من خلالها تبخير الكحول يلي ذلك عملية التنقية Clarification للمستخلص المائي قبل تقدير السكريات فيه حيث يتم إزالة العكرة Turbidity التي تسببها البروتينات والنشا الذائبة مع المستخلص يعرقل وجودها التقدير وخاصة بالطرق البصرية Polarimetric Assays . وفي الوقت نفسه يعمل على عدم وضوح نقطة النهاية End Point في الطرق التسحيحية للمحاليل الملونة حيث تعمل البروتينات الذائبة في هذه الحالة على ترسيب أيونات النحاس بالطرق التي تعتمد على اختزال النحاس في تقدير السكريات.

إن عملية تنقية المستخلصات المائية لا تشمل إزالة العكارة فقط وإنما تعمل على إزالة جميع المواد التي يمكن أن تسبب تداخلات Interfering Substances ضارة في تقدير السكريات من دون أن يحدث أي تغيير عليها ويجب أن تكون طريقة الترسيب بسيطة وحجم الراسب قليلاً وأن الزيادة في كمية مواد التنقية لا تؤثر في طريقة العمل

المستعملة ومن هذا وجد بأن مواد التنقية تلبي مثل هذه المواصفات على درجات متفاوتة وأن استعمال هذه المواد يتوقف بالتأكيد على الغذاء وكمية المواد المتداخلة وطريقة العمل حيث إن المستخلصات المحضرة للطريقة البصرية يجب أن تكون نقية وعديمة اللون وخالية تماماً من الشوائب ومن جميع المركبات النشطة في التدوير الضوئي كالبروتينات والحوامض العضوية والبكتين والتانين. وتستعمل أملاح الرصاص في إزالة الألوان وترسيب الحوامض العضوية ذات النشاط في التدوير الضوئي وهي بذلك يصبح استعمالها ضرورياً في تنقية المحاليل المحضرة للقياسات البصرية وتعتبر أكثر المركبات استعمالاً لهذا الغرض. كما يستعمل المزيج المتكون من هيدروكسيد الباريوم وكبريتات الزنك لعمليات الترسيب في المحاليل القاعدية. أما البروتينات فيمكن إزالتها بمختلف المرسبات العامة كثلاثي كلوريد حامض الخليك Trichloroacetic أو حامض الفوسفوتنكستيك Phosphotungstic acid. وهناك بعض الحالات التي بواسطتها يضطر لإزالة الحوامض الأمينية من المستخلص لأنها تتعارض مع تقدير السكريات. ففي مثل هذه الظروف يمرر المستخلص من خلال كروماتوجرافي عمود التبادل الأيوني Ion Exchanges Column لإزالتها لأن مثل هذه الحوامض الأمينية يصعب فصلها بواسطة مرسبات البروتين.

(٦,٥) طرق تقدير الكربوهيدرات

(٦,٥,١) الطرق الكيميائية Chemical Methods

تستعمل عدد من الطرق الكيميائية لتقدير السكريات الأحادية و السكريات المتعددة Oligosaccharides and Monosaccharides مستندة على الحقيقة بأن العديد من هذه المواد عبارة عن مواد مختزلة Reducing Agents والتي يمكن أن تتفاعل مع مركبات أخرى لإنتاج رواسب أو معقد ملون والذي يمكن أن يقدر. تركيز

الكربوهيدرات يمكن أن يقدر وزنياً Gravimetrically أو لونياً Spectrophotometrically أو بالمعايرة Titration. الكربوهيدرات غير المختزلة يمكن أن تقدر باستعمال نفس الطرق إذا تم أولاً تحليلها لجعلها مختزلة. من الممكن تقدير تركيز كلاً من السكريات غير المختزلة والمختزلة بتنفيذ تحليل السكريات المختزلة قبل وبعد التحلل hydrolyzation. العديد من الطرق الكيميائية المختلفة متوفرة لتقدير الكربوهيدرات. أغلب هذه الطرق يمكن أن تقسم إلى ثلاثة أنواع categories : المعايرة titration، الوزنية gravimetric واللونية colorimetric. مثال لكل من هذه الأنواع المختلفة كما يلي:

(٦,٥,٢) طرق المعايرة Titration Methods

طريقة لين أينون Lane-Eynon مثال على طريقة المعايرة لتقدير تركيز السكريات المختزلة في العينة، تستعمل السحاحة لإضافة محلول الكربوهيدرات المراد تحليله إلى دورق يحتوي على كمية معلومة من محلول كبريتات النحاسيك المغلي ودليل الميثيلين الأزرق Methylene Blue. تتفاعل السكريات المختزلة في محلول الكربوهيدرات مع كبريتات النحاسيك الموجودة في الدورق. وعندما يتم التفاعل تتسبب أي إضافة أخرى من السكريات المختزلة إلى تغيُّر الدليل من الأزرق إلى الأبيض ثم يسجل حجم محلول السكر المطلوب للوصول بالتفاعل إلى نقطة النهاية. التفاعل ليس stoichemetric (التفاعل لا يتم بأوزان متكافئة)، بمعنى أنه من الضروري تجهيز منحنى قياسي عند إجراء التجربة مع سلسلة من المحاليل القياسية معلومة التركيز من الكربوهيدرات.

من عيوب هذه الطريقة:

١- تعتمد النتائج على دقة أوقات التفاعل، درجات الحرارة، تركيزات المحاليل المستعملة ولذا يجب السيطرة (التحكم) على هذه المتغيرات.

٢- لا يمكن التمييز بين الأنواع المختلفة من السكر المختزل.

٣- لا يمكن تقدير تركيز السكريات غير المختزلة مباشرة.

٤- عرضة للتداخل من الأنواع الأخرى من الجزيئات التي تتفاعل كمواد مختزلة.

(٦,٥,٣) الطرق الوزنية Gravimetric Methods

طريقة Munson and Walker مثال على الطريقة الوزنية لتقدير تركيز السكريات المختزلة في العينة. يتم تأكسد الكربوهيدرات بالتسخين في وجود كمية من كبريتات النحاسيك والطرطرات القاعدية alkaline tartrate تحت ظروف محكمة والتي تؤدي إلى تكوين راسب أوكسيد النحاسوز:

سكر مختزل + Cu^{2+} + قاعدة ⟵ سكر مؤكسد + CuO_2 (راسب)

إن كمية الراسب المتكون تتعلق مباشرة بتركيز السكريات المختزلة في العينة الأولية. تركيز الراسب المتكون يمكن تقديره وزنياً (بواسطة ترشيح ثم تجفيف ثم وزن)، أو بالمعايرة (بإعادة تذويب الراسب ثم معايرته مع دليل مناسب). تعاني هذه الطريقة من نفس العيوب كما في طريقة لين و إينون، ولكنها أكثر قابلية للتطبيق وأكثر دقة.

(٦,٥,٤) الطرق اللونية Colorimetric Methods

أ) طريقة انثرون Anthrone Method

إن طريقة انثرون مثال للطريقة اللونية لتقدير تركيز السكريات الكلية في المادة الغذائية حيث تتفاعل السكريات مع كاشف انثرون تحت ظروف حامضية لإنتاج لون أزرق مخضر. تخلط العينة بحامض الكبريتك sulfuric acid وكاشف anthrone وبعد ذلك تغلى حتى إتمام التفاعل، ثم يترك المحلول ليبرد ثم تقاس شدة

اللون absorbance عند طول موجي ٦٣٠ نانومتر. هناك علاقة خطية بين شدة اللون وكمية السكر الموجود في العينة الأصلية. إذ تقدر بهذه الطريقة كلاً من السكريات المختزلة وغير المختزلة، بسبب وجود مؤكسد قوي هو حامض الكبريتيك. مثل الطرق الأخرى هي ليست قياسية stoichemetric، بمعنى أنه من الضروري تجهيز منحنى قياسي عند إجراء التجربة مع سلسلة من المحاليل القياسية معلومة التركيز من الكربوهيدرات.

ب) طريقة الفينول – حامض الكبريتيك Phenol-Sulfuric Acid Method

طريقة الفينول وحامض الكبريتيك مثال للطريقة اللونية كثيرة الاستخدام لتقدير التركيز الكلي للكربوهيدرات الموجود في الأغذية. يوضع محلول مائي رائق من الكربوهيدرات المختبرة في أنبوبة اختبار، ثم يضاف الفينول وحامض الكبريتيك. يتحول المحلول إلى لون أصفر –برتقالي كنتيجة للتفاعل بين والفينول. وتتناسب شدة اللون عند ٤٩٠ نانوميتر مع تركيز الكربوهيدرات في العينة يسبب حامض لكبريتيك تحول السكريات غير المختزلة الى سكريات مختزلة ولذا فإن هذه الطريقة تقدر السكريات الكلية.هذا التفاعل ليس قياسيا ولذا فمن الضروري تجهيز منحنى قياسي عند إجراء التجربة.

(٦,٥,٥) الطرق الإنزيمية Enzymatic Methods

الطرق التحليلية المعتمدة على الإنزيمات تعتمد قدرتها على تحفيز تفاعلات معينة. هذه الطرق سريعة ومتخصصة وحساسة جداً في التركيزات المنخفضة. ولذا تعتبر مثالية لتقدير الكربوهيدرات في الأغذية. بالإضافة، فإنها تحتاج إلى تجهيز عينة صغيرة. الأغذية السائلة يمكن أن تختبر مباشرة، بينما الأغذية الصلبة يجب أن تذوب في الماء أولاً. هناك العديد من الخلطات الإنزيمية الجاهزة والتي يمكن الحصول عليها

بشكل تجاري لإجراء تحليل للكربوهيدرات المعنية. الطريقتان شائعتا الاستعمال لتقدير تركيز الكربوهيدرات هي: (١) السماح للتفاعل للوصول إلى النهاية (إكمال التفاعل) ثم قياس تركيز الناتج، والذي يتناسب مع تركيز المادة الأولية؛ (٢) قياس معدل السرعة الابتدائية للإنزيم المحفز للتفاعل لأن المعدل يتناسب مع تركيز المادة الأولية. بعض الأمثلة لاستعمال الطرق الإنزيمية لتقدير تركيز السكر في الأغذية مبينة كما يلي:

أ) الجلوكوز – الفركتوز D-Glucose/D-Fructose:

هذه الطريقة تستعمل سلسلة من الخطوات لتقدير تركيز كلاً من الجلوكوز والفركتوز في العينة. أولاً، يحول الجلوكوز إلى الجلوكوز –٦ فوسفات G6P بإنزيم hexakinase و ATP، ثم، يؤكسد G6P بواسطة $NADP^+$ في وجود G6P-dehydrogenase (G6P-DH).

$$\text{gluconate-6-phosphate} + NADPH + H^+ \longrightarrow G6P + NADP^+$$

كمية NADPH المتكونة تتناسب مع تركيز G6P في العينة ويمكن أن تقاس لونياً spectrophotometrically عند ٣٤٠ نانومتر. يمكن تقدير تركيز الفركتوز بتحويله إلى جلوكوز، باستعمال إنزيم آخر متخصص، ثم يكرر إجراء التجربة السابقة.

ب) المالتوز – السكروز Maltose/Sucrose

يمكن أن يقدر 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 α-glucosidase:

$$2\ \text{glucose} \longrightarrow \text{Maltose} + H_2O\ (\alpha\text{-glucosidase})$$
$$\text{glucose} + \text{fructose} \longrightarrow \text{Sucrose} + H_2O\ (\alpha\text{-glucosidase})$$

تركيزات الجلوكوز والفركتوز يمكن أن تقدر بالطريقة السابقة. إن المشكلة الرئيسية بهذه الطريقة أن العديد من السكريات العديدة oligosaccharides تتحول أيضاً إلى سكريات أحادية بواسطة إنزيم α-glucosidase، ولذلك من الصعب تقدير السكريات المحددة الموجودة بالضبط. هذه الطريقة مفيدة عندما يراد معرفة نوع الكربوهيدرات الموجودة، ولكن ليس تركيزاتهم النسبية.

(٦,٥,٦) الطرق الطبيعية Physical Methods

تستعمل العديد من الطرق الطبيعية المختلفة لتقدير تركيز كربوهيدرات الأغذية. تعتمد هذه الطرق على تغير في بعض الخواص الفيزوكيميائية physiochemical في الغذاء كلما حدث تفاوت في تركيز كربوهيدراتها. الطرق الأكثر استعمالاً تتضمن: البولاريميتر polarimetry معامل الانكسار refractive index، الأشعة تحت الحمراء IR والكثافة density.

أ) الاستقطاب (البولاريميتر) Polarimetry

الجزيئات التي تحتوي على ذرة كربون غير متناظرة لها القدرة على تدوير الضوء المستقطب. جهاز الاستقطاب (البولاريميتر) polarimeter هو جهاز يقيس قيم دوران زاوية الضوء المستقطب عندما يمر بمحلول. يشتمل جهاز الاستقطاب على مصدر للضوء monochromatic light ذو طول موجة موحدة، ووحدة استقطاب polarize، خلية للعينة بطول معلوم، ومحلل لقياس قيمة زاوية الدوران. إن مدى الاستقطاب يعتمد على تركيز الجزيئات النشطة ضوئياً في المحلول حسب المعادلة:

$$a = [a]/lC$$

حيث إن a هي زاوية الدوران المقاسة، [a] النشاط الضوئي (وهو ثابت لكل نوع من الجزيء)، l هي سمك خلية العينة و C التركيز. تعتمد قيم زاوية الدوران على درجة الحرارة وطول موجة الضوء المستعمل. ولذا فإن هذين المتغيرين يثبتان عادة عند

٢٠°م و ٥٨٩.٣ نانومتر (the D-line for sodium). يجهز المنحنى القياسي مقابل التركيز باستعمال سلسلة من المحاليل معلومة التركيز، أو يمكن الحصول على قيمة [a] من المراجع إذا عرف نوع الكربوهيدرات المختبر. إن تركيز الكربوهيدرات في العينة المجهولة يمكن أن يقدر بقياس زاوية الدوران لها.

ب) معامل الانكسار Refractive Index (RI)

إن معامل الانكسار (n) لأي مادة هو سرعة الضوء في الفراغ مقسوم على سرعة الضوء في المادة ($c = c/c_m$). يمكن أن يقدر معامل الانكسار لمادة بقياس قيمة زاوية الانكسار (r) وقيمة زاوية السقوط (i) عند الحدود بينها وبين مادة أخرى معلومة معامل الانكسار (Snell's Law: sin(i)/sin(r) = n2/n1).

علمياً، يقاس معامل الانكسار لمحاليل الكربوهيدرات عادة في خلايا الكوارتز quartz. يزيد معامل الانكسار لمحلول الكربوهيدرات بزيادة التركيز ولذا يمكن أن يستعمل لقياس كمية الكربوهيدرات المختبرة. معامل الانكسار RI أيضاً يعتمد على درجة الحرارة وطول الموجة. ولذا تتم القياسات عادة عند درجة حرارة ٢٠°م وطول موجة ٥٨٩,٣ نانومتر معينة. هذه الطريقة سريعة وبسيطة ويمكن أن تنفذ بآلات بسيطة محمولة يدوياً. تستعمل بشكل دوري (روتيني) في المصانع لتقدير تركيزات السكر في الشراب syrup. والعسل، والدبس molasses، ومنتجات الطماطم والمربيات jams.

ج) الكثافة Density

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

د) الأشعة تحت الحمراء Infrared (IR)

المادة تمتص الأشعة تحت الحمراء بسبب اهتزاز أو دوران مجموعات الجزيء. تحتوي الكربوهيدرات على مجموعات الجزيء والتي تمتص الأشعة تحت الحمراء عند أطوال موجية، حيث لا أحد من مكونات الغذاء الرئيسية الأخرى يمكن أن يمتصها، ولذلك فإن تركيزها يمكن أن يقدر بواسطة قياس امتصاص الأشعة تحت الحمراء عند أطوال الموجة هذه. بإجراء القياسات عند عدد من أطوال موجات معينة مختلفة، من الممكن تقدير تركيز الكربوهيدرات، البروتينات، الرطوبة، والليبيدات. القياسات تتم عادة بقياس كثافة موجة الأشعة تحت الحمراء المنعكسة من سطح العينة: كلما زادت درجة الامتصاص، كلما قلت درجة الانعكاس. 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 تطوراً قادرة على تزويد معلومات حول التركيب الجزيئي للكربوهيدرات بالإضافة إلى التركيز مثل: أجهزة NMR و mass spectrometry.

(٦,٥,٧) طريقة الإنزيمات المثبتة Immunoassays

طريقة الإنزيمات المثبتة لاقت استعمال متزايد في مصانع الأغذية للتحليل النوعي والكمي للمنتجات الغذائية. طريقة الإنزيمات المثبتة المتخصصة للكربوهيدرات ذات الوزن الجزيئي المنخفض طورت بربط الكربوهيدرات المختبر ببروتين. وبعد ذلك حقنه في حيوان،مع الوقت، يطور الحيوان أجسام مضادة محددة لجزيء الكربوهيدرات. هذه الأجسام المضادة يمكن أن تستخلص من الحيوان وتستعمل كجزء من عدة اختبارات لتقدير تركيز الكربوهيدرات المحدد في الأغذية. الطريقة حساسة جداً، متخصصة، سهلة الاستعمال وسريعة.

(٦,٥,٨) طرق التحليل المتخصصة للسكريات الأحادية وسكريات الأوليجو

Specific Analysis of Mono- and Oligosaccharides

أ) كروماتوجرافيا السائل ذات الضغط العالي

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

ولا تتطلب طريقة كروماتوجرافيا السائل ذات الأداء العالي إلى تحويل السكريات إلى مشتقات سهلة التطاير قبل التحليل كما هو الحال في كروماتوجرافيا الغاز GC ولكنها تحتاج إلى ترشيح من نوع خاص بمرشح دقيق micron filter قبل حقن العينات في الجهاز.

وسنناقش فيما يلي بعض التفاصيل الخاصة بطريقة التحليل بكروماتوجرافيا السائل ذات الأداء العالي لإلقاء مزيد من الضوء على هذه الطريقة الحساسة والتي زاد استخدامها في مختبرات عديدة في الآونة الأخيرة.

١ - الأطوار (الأوساط) الثابتة Stationary Phases

كروماتوجرافيا التبادل الأيوني: تعد الكربوهيدرات أحماضاً ضعيفة لها قيمة pK_a في حدود ١٢ - ١٤. وفي المحاليل مرتفعة الـ pH تتأين بعض مجموعات الهيدروكسيل في الكربوهيدرات وبذلك يمكن فصل السكريات عن بعضها البعض باستخدام راتنج للتبادل الأيوني تملأ به أعمدة الفصل، وعندئذ تخرج السكريات من

العمود بالتتابع التالي: سكريات كحولية – سكريات أحادية – سكريات ثنائية – أوليجوسكريدات. وتستخدم مع كروماتوجرافيا التبادل الأيوني وسيلة كشف إلكتروكيميائية electro chemical. هذا وقد أمكن بهذه الوسيلة التعرف على مخاليط السكريات والأوليجوسكريدات في منتجات عديدة كعسل النحل، ومشروبات البيرة، سكر البنجر المتحلل، وعصير البرتقال.

٢- كروماتوجرافيا الطور العادي Normal Phase Chromatography

في كروماتوجرافيا الطور العادي يكون الوسط الثابت قطبي polar وتتم عملية إزاحة مخلوط السكريات باستخدام طور متحرك تزداد قطبيته بالتدرج، وهذه الطريقة من الطرق الشائعة الاستخدام في كروماتوجرافيا السائل ذات الأداء العالي. ويتم في هذه الطريقة إدخال مجموعة أمين مع السليكا جيل باستخدام أحد الجواهر الكشافة ويطلق على الوسط الثابت حينئذ الوسط المرتبط بالأمين Amoni-bonded Stationary Phase. وتتم إزاحة السكريات باستخدام وسط سائل متحرك من الأسيتونتريل والماء بحيث يتراوح تركيز الأسيتونيتريل بين ٥٠-٨٠٪. ويكون ترتيب خروج المركبات المزاحة من عمود السليكا جيل – المرتبط بالأمين كالتالي: سكريات أحادية – سكر كحولي – سكر ثنائي – ثم الأوليجوسكريدات. وقد استخدمت هذه الطريقة بنجاح في تعريف وتقدير الكربوهيدرات في منتجات: المشروبات، عسل النحل، والآيس كريم، والمخبوزات، ومنتجات حبوب الإفطار، وأغذية الأطفال، والفواكه والخضروات، ومنتجات الحبوب.

ويعاب على أعمدة السليكا جيل – المرتبطة بالأمين (عند فصل السكريات) أن السكريات المختزلة تتفاعل وترتبط مع مجموعة الأمين المرتبطة بالوسط الثابت مما يؤدي لتدهور أداء العمود وفقدان صلاحيته بمرور الوقت. ويمكن التغلب على تلك المشكلة بإضافة نسبة ضئيلة من مواد تعرف بالمواد المعدلة modifiers للطور السائل. وتتكون

المواد المعدلة من مجموعتي أمين على الأقل، تدمص أحدهما على السليكا جيل والأخرى تكون حرة لترتبط مع الشق الكربوهيدراتي، ولأن المواد المعدلة تكون في محلول الإزاحة لذلك يعاد تجديد الطور الثابت باستمرار دون أن يفقد مجاميع الأمين المرتبطة به.

٣- كروماتوجرافيا التبادل الكاتيوني Cation Exchange Chromatography

تستخدم هذه الطريقة من طرق الفصل راتنجات كروية ذات جسيمات دقيقة، كطور ثابت، تحمل أحد أنواع الأيونات المعدنية مثل أيونات الكالسيوم Ca^{2+} أو الرصاص Pb^{2+} أو الفضة Ag^{+}. أما الطور المتحرك المستخدم في تلك الأعمدة فهو الماء بالإضافة إلى كميات متباينة (حوالي ٤٠٪) من المذيب العضوي كالأسيتون و/ أو الميثانول. ويتم الفصل في هذه الأعمدة على درجات حرارة مرتفعة (٨٠°م) فيزيد معدل انتقال الكتلة بين الوسطين الثابت والمتحرك ويتحسن معدل سريان الطور المتحرك وتنتج منحنى أضيق مما يدل على تحسين كفاءة الفصل. وتخرج الكربوهيدرات من على راتنج التبادل الكاتيوني بترتيب نقص أوزانها الجزيئية، فتنفصل في البداية سكريات الأوليجوسكريدات ذات عدد وحدات سكر أكبر من ٣ – ثم السكريات الثلاثية – فالسكريات الثنائية – فالسكريات الأحادية – فالسكريات الكحولية.

٤- كروماتوجرافيا الطور العاكس Reversed Phase Chromatography

في هذا النظام من أنظمة الفصل يكون الوسط الثابت هيدروفوبي، والوسط المتحرك غالبيته من الماء. ويعد الوسط الثابت بالتفاعل بين السليكا جيل مع مادة تضيف سلسلة ألكيل. فعندما تضاف سلسلة ألكيل من ١٨ ذرة كربون (يعرف العمود حينئذ بعمود C_{18}) وتستخدم كروماتوجرافيا الوسط العاكس لفصل السكريات الأحادية والثنائية والثلاثية إلى مجموعات، فعلى سبيل المثال يمكن تقدير السكروز، والرافينوز، والستاكيوز في فول الصويا ومنتجاته، كما يقدر السكر المحول، والسكروز، والمالتوز، والمالتوتريوز في العصائر والمشروبات الكحولية.

ويعد قصر زمن الاحتجاز retention time للسكريات الأحادية هو العيب الرئيسي في طريقة الطور الثابت، ويمكن علاج تلك المشكلة نسبياً بإضافة الأملاح ككلوريد الصوديوم فتؤدي لزيادة زمن الاحتجاز.

وتتميز أعمدة الطور العادي والعاكس بطول فترة صلاحيتها، وثباتها الجيد كما يمكن أن تعمل مع عديد من الأوساط المتحركة في مدى كبير من أرقام الـ pH (من ٢ : ١٠). ويعيب على الأطوار الثابتة التي تعتمد في تركيبها على السليكا، احتمال ذوبان السليكا لحد بسيط في سوائل الإزاحة الغنية بالماء.

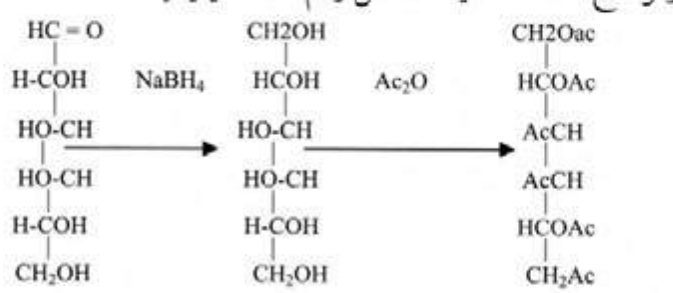
ب) تحليل السكريات بكروماتوجرافيا الغاز Gas Chromatography

يتم تحويل السكريات إلى مشتقات متطايرة وذلك لإجراء فصل للسكريات بكروماتوجرافيا السائل والغاز GLC. ومن أكثر المشتقات المتطايرة شيوعاً مشتق فوق خلات الألديتول alditol peracetate حيث يتم إنتاجه على خطوتين:

أ) اختزال المجموعة الألدهيدية إلى مجموعة كحول أولي.

ب) تحويل السكر المختزل إلى مركب فوق خلات الإستر peracetate ester متطاير أو مشتق pertrimethylsilyl.

وتوضح المعادلة الآتية (الشكل رقم ٦,٢) كيفية إعداد تلك المشتقات:



الشكل رقم (٦,٢). تحويل سكر الـ D-جلاكتوز إلى مشتق متطاير للتحليل بكروماتوجرافيا الغاز.

وفيما يلي موجزاً لخطوات تحليل السكريات بجهاز كروماتوجرافيا السائل-غاز:

- يتم اختزال السكريات المتعادلة المستخلصة من مستخلص الايثانول ٨٠٪ أو من جراء تحليل السكريات بواسطة كمية من بروميد الصوديوم الذائب في محلول هيدروكسيدالأمونيوم. وبعد تمام حدوث التفاعل على درجة حرارة الغرفة يضاف حامض الخليك الثلجي نقطة نقطة حتى يتوقف انبعاث غاز الهيدروجين، وتؤدي تلك المعاملة لتحطيم الزيادة من بروميد الصوديوم. يتم تبخير المحلول المحمض حتى الجفاف، وتزال أيونات البورات على صورة بورات الميثيل بإضافات متتالية من الميثانول وتبخيره أولاً بأول. يضاف أنهيدريد حامض الخليك Acetic anhydride ثم يقفل الدورق جيداً ويسخن إلى ١٢١°م ويبرد بعد ذلك، ويضاف الماء لتحليل الزيادة من أنهدريد حامض الخليك ثم تبخر محتويات الدورق حتى الجفاف. تذاب المحتويات الجافة في الدورق في كلوروفورم نقي، ثم تحقن في جهاز الـ GLC على أن تكون درجة الحرارة أثناء الفصل ثابتة isothermally.

- يتم التعرف على المركبات من أزمنة خروجها من الجهاز منسوبة إلى مركب سداسي خلات الإنيسيتول inisitol hexacetate كمعيار داخلي أيضاً للجهاز. وتفضل معايرة جهاز الـ GLC باستخدام مخلوط Internal standard قياسي من المركبات المفصولة بنفس تركيزاتها ومقارنة الناتج.

(٦,٥,٩) تحليل السكريات العديدة والألياف الغذائية

Analysis of Polysaccharides and Fiber

توجد أنواع مختلفة من السكريات العديدة في الأغذية، يمكن أن تصنف السكريات العديدة طبقاً لخصائصها الجزيئية (مثل: نوع وعدد وتتابع السكريات الأحادية المرتبطة). الخصائص الفيزيوكيميائية physiochemicals (مثل: قابلية الذوبان

في الماء، اللزوجة، النشاط السطحي) الخصائص التغذوية (مثل: سهل الهضم أو غير مهضوم). تحتوي معظم السكريات العديدة على ما بين مائة إلى ألف من السكريات الأحادية. تحتوي بعض السكريات العديدة على سكر أحادي من نوع واحد (سكريات عديدة متجانسة) homopolysaccharides، بينما تحتوي أخرى على خليط من أنواع مختلفة من السكريات الأحادية (سكريات عديدة غير متجانسة) heteropolysaccharides. توجد بعض السكريات العديدة كسلاسل مستقيمة، بينما أخرى توجد كسلاسل متشعبة (متفرعة). بعض السكريات العديدة يمكن أن يهضم من قبل الإنسان، ولذا تشكل مصدراً مهماً للطاقة (مثل: النشا)، بينما أخرى غير قابلة (مثل: السيليلوز، الهيميسيليلوز، والبكتين). هذه السكريات المتعددة غير القابلة للهضم تشكل مجموعة من المواد تعرف بالألياف الغذائية dietary fiber، والتي تتضمن أيضاً اللجنين lignin (الذي هو متبلمر من الجزيئات العطرية). يتبين أن استهلاك العديد من أنواع الألياف الغذائية له خصائص وظيفية ذات فوائد فسيولوجية للإنسان، مثل: منع السرطان ومرض القلب والسكري.

أ) تحليل النشا Analysis of Starch

يعد النشا أكثر السكريات المتعددة القابلة للهضم شيوعاً الموجودة في الأغذية، ولذا يعتبر مصدر الطاقة الرئيسي في غذائنا. يوجد النشا في شكله الطبيعي كحبيبات غير ذائبة في الماء (٣-٦٠ ميكروميتر). ولكن في العديد من الأغذية المصنعة، النشا لم يعد في هذا الشكل بسبب المعاملات التصنيعية (مثل: التسخين).

يتكون النشا من خليط من الأميلوز والأميلوبكتين حيث يتكون الأميلوز amylose من (٥٠٠-٢٠٠٠ وحدات جلوكوز)، والذي يكون مستقيماً linear، والأميلوبكتين amylopectin والذي يتكون من (أكثر من ١٠٠٠٠٠٠ وحدة

جلوكوز)، والتي تكون متفرعة بشكل واسع. هذان النوعان من النشا لهما خصائص فيزوكيميائية physiochemical مختلفة، ولذا من المهم في أغلب الأحيان تقدير تركيز كل مكون فردي من النشا، بالإضافة إلى تركيز النشا الكلي.

١ - تجهيز العينة Sample Preparation

لا يمكن أن يقدر المحتوى النشوي لأكثر الأغذية مباشرة لأن النشا محتوى ضمن نظام غذاء معقد بشكل هيكلي وكيميائياً. النشا في أغلب الأحيان موجود في شكل شبه بلوري (نشا حبيبي أو متراجع)، مما يجعله صعب الوصول بواسطة المذيبات الكيميائية المستعملة لتقدير تركيزه. ولذا، من الضروري عزل النشا من المكونات الأخرى الموجودة في النظام الغذائي قبل إجراء التحليل.

في الأغذية الطبيعية، مثل البقول أو محاصيل الحبوب أو الدرنات، حبيبات النشا عادة تفصل من المكونات الرئيسية الأخرى بالتجفيف، الطحن، النقع في الماء، الترشيح ثم الطرد المركزي. إن حبيبات النشا غير ذائبة في الماء ولها كثافة عالية نسبياً (١٥,٠٠ كيلوجرام/ م٣)، ولذا سوف تميل إلى الانتقال إلى قاع الأنبوبة أثناء عملية الطرد المركزي، وبذلك يمكن أن يفصل من المواد الذائبة في الماء والمواد الأقل في الكثافة. تجفف عينات الغذاء المصنعة عادة وتطحن ثم ترطب بالإيثانول الساخن. (٨٠٪ إيثانول) 80% ethanol. السكريات الأحادية والمحددة قابلة للذوبان في محلول الإيثانول، بينما النشا عديم الذوبان ، ولذلك، يمكن أن يفصل النشا من السكريات بالترشيح أو الطرد المركزي للمحلول. إذا وجد أي نشا شبه بلوري، يمكن للعينة أن تنشر في الماء وتسخن إلى درجة حرارة الجلتنة (يحدث تجلتن للنشا) >٦٥°م. إضافة حامض البيروكلوريك perchloric acid أو كلوريد الكالسيوم إلى الماء قبل التسخين يسهلان عملية ذوبان النشا الذي صعب استخلاصه.

٢- طرق التحليل Analysis Methods

عندما يستخلص النشا فإن هناك عدد من الطرق لتقدير تركيزه:

الإنزيمات المتخصصة تضاف إلى محلول النشا لتكسير النشا إلى الجلوكوز. ثم يحلل تركيز الجلوكوز بالطرق المشروحة سابقاً (مثل: الطرق الكروماتوجرافيا والإنزيمية). يمكن حساب تركيز النشا من تركيز الجلوكوز.

اليود يمكن أن يضاف إلى محلول النشا لتكوين معقد من النشا واليود غير الذائب، والذي يمكن تقديره وزنياً gravimetrically بجمع وتجفيف ووزن الراسب المتكون أو بالمعايرة titrimetrically بتقدير كمية اليود اللازمة لترسيب النشا.

إذا لم يكن هناك مكونات أخرى موجودة في المحلول يمكن أن تتداخل مع التحليل. فإن تركيز النشا يمكن أن يقدر باستعمال الطرق الطبيعية، مثل: الكثافة، معامل الانكسار والبوليميتر polarimetry.

يمكن أن يقدر تركيز الأميلوز amylose والأميلوبكتين amylopectin باستخدام نفس الطرق التي وصفت للنشا عندما يتم فصل الأميلوز من الأميلوبكتين. هذا يمكن أن يتحقق بإضافة مواد كيميائية لها القدرة على تكون معقد غير ذائب مع أحد المكونات، ولكن ليس مع الأخرى، مثال: بعض الكحول ترسب الأميلوز ولكن لا ترسب الأميلوبكتين. بعض الطرق المذكورة سوف لا تقدر تركيز النشا المقاوم الموجود في العينة. إذا كان تركيز النشا المقاوم Resistant Starch مطلوب فإن خطوة إضافية يمكن أن تضاف إلى الطريقة، حيث يضاف محلول (dimethylsulfoxide) (DMSO) لتذويب النشا المقاوم قبل إجراء التحليل.

٣- قياس درجة جلتنة النشا Degree of Gelatinization of Starch

عندما تسخن حبيبات النشا في الماء إلى درجة حرارة معينة تنتفخ حبيبات النشا، وتفقد تبلورها وتصبح أكثر قابلية للتحلل الإنزيمي ويزداد قوامها كثافة، ويطلق على هذه الظاهرة عملية الجلتنة.

ولقياس الجلتنة يستفاد من الحقيقة العلمية إن هناك إنزيمات يمكن أن تعمل على النشا المطبوخة وليست لها القدرة على تحليل حبيبات النشا غير المطبوخة. ويتميز مخلوط إنزيمي البوللوناز pullulanase والبيتا أميليز β-amylase أنها ليست لها القدرة على تحليل حبيبات النشا غير المطبوخة. أما مع النشا المجلتنة فكلا الإنزيمين لهما القدرة على تحليل النشا، فإنزيم البوللولاناز يحطم الرابط ١-٦ وبذلك يمنع تفرع الأميلوبكتين أما البيتا أميليز فيعمل على السلاسل المستقيمة ويحولها إلى مالتوز وتقاس درجة الجلتنة بقياس كمية السكريات المختزلة المتكونة بعد المعاملة الإنزيمية.

ب) المركبات غير النشوية كالصموغ والمركبات الغروية

Non-Starch Food Gums / Hydrocolloids

تشكل السكريات العديدة بالإضافة للجيلاتين (بروتيني الأصل) مجموعة مكونات تعرف بالصموغ الغذائية أو المركبات الغروية. ولذلك للمركبات استخدامات عديدة في منتجات غذائية كثيرة كاللحوم واللحوم المصنعة، ومنتجات الشوكولاتة، والآيس كريم، والمخبوزات ... الخ.

ومن الأهمية بمكان التعرف على تلك المركبات والتيقن من طرق تحليلها لتقدير نقاوتها، ولضمان سلامة بيانات البطاقة الغذائية، وللكشف عنها في المنتجات الغذائية التي لا يصرح باستخدامها.

ويصاحب تحليل تلك المركبات مشاكل عديدة لأن لهذه السكريدات العديدة تركيبات كيميائية، ودرجات ذوبان، وأوزان جزيئية متعددة، كما أن تركيبها غير

متجانس، بالإضافة إلى تباين تركيب نفس المجموعة بتباين الظروف البيئية ومصدرها النباتي. وهناك من السكريات العديدة أنواع متعادلة وأخرى أنبوبية، وبعضها يكون سلسلة مستقيمة والآخر يكون سلسلة متفرعة، وتحتوي بعض السكريدات العديدة على مجموعات إثير، أو إستر مجموعات أسيتايل حلقية. وتوجد أنواع من السكريدات العديدة تذوب في الماء البارد، وبعضها يذوب فقط في الماء الساخن، ومنها ما يتطلب ذوبانه محاليل أحماض وقلويات، أما السليلوز على سبيل المثال، فلا يذوب إلا بطرق إذابة خاصة به وتعتمد طرق التحليل على استخلاص الصموغ ثم فصلها إلى مكوناتها وبعد ذلك تقدر تلك المكونات.

الفصل السابع

الألياف الغذائية

Dietary Fibers

(٧,١) مقدمة

ظهر اهتمام كبير في الآونة الأخيرة بتقدير الألياف الغذائية في الوجبات الغذائية. والألياف الغذائية هي مجموع المكونات التي لا تهضمها إنزيمات الثدييات في المواد والمنتجات الغذائية. ومعظم الألياف الغذائية عبارة عن جدر الخلايا النباتية (سليلوز، هيميسليلوز، لجنين). وبعض الألياف الغذائية تكون غير ذائبة كالسليلوز، وبللورات السليلوز الدقيقة التي تضاف للأغذية الخاصة، والهيميسليلوز واللجنين، أما الألياف الذائبة فتشمل الصموغ الغذائية والغرويات.

وقد ازداد الاهتمام باستهلاك الألياف الغذائية في غذاء الإنسان منذ بدايات السبعينات بعدما تناولت تقارير طبية أهميتها وربطت بين انخفاض معدلات استهلاكها وزيادة احتمالات الإصابة بأمراض القلب والأمراض السرطانية. وقد تأكد طبياً أن استهلاك الألياف الغذائية مع غذاء الإنسان يقلل من الإصابة بسرطان القولون، كما يقلل من امتصاص الجلوكوز ويخفض من إفراز الأنسولين ويستفيد من ذلك المصابين بمرض السكر diabetes.

ويعتبر السليلوز والهيميسليلوز والبكتين والصموغ واللجنين هي المكونات الرئيسية للألياف الغذائية.

بعض أنواع النشا، المعروفة بالنشا المقاوم resistant starch غير قابلة للهضم بواسطة الإنسان يمكن أن تحلل كألياف غذائية.

(٧,٢) المركبات الرئيسية للألياف الغذائية
Major Components of Dietary Fiber

(٧,٢,١) السكريات المتعددة لجدار الخلية Cell Wall Polysaccharides

يوجد السليلوز في جميع النباتات كمكون رئيسي في جدران الخلايا، ويرتبط عادة بالهيمسيليلوز واللجنين. نوع ومدى هذه الارتباطات هي التي تحدد الخصائص التركيبية (القوام) للعديد من المواد النباتية الصالحة للأكل. السليلوز عبارة عن سكريات متعددة متجانسة مستقيمة طويلة من الجلوكوز، عادة تضم بحدود ١٠٠٠٠ وحدة من الجلوكوز. تتجمع جزيئات السليلوز لتشكيل microfibrils والتي تساهم في قوة وصلابة جدران خلايا النبات. الهيميسيليلوز عبارة عن مجموعة غير متجانسة من السكريات المتعددة المتفرعة heteropolysaccharides والتي تحتوي على عدد من السكريات المختلفة. يمتاز الهيميسليلوز بقابليته للذوبان في المحاليل القلوية المخففة، ولكنه غير ذائب في الماء. يشكل البكتين نوع آخر من السكريات المتعددة غير المتجانسة heteropolysaccharides الموجودة في جدران الخلايا وهي غنية بحامض الجلاكتويورينيك Galactourinic acid وهو قابل للذوبان في الماء الساخن ولذا فهو قادر على تكوين الهلام gel.

(٧,٢,٢) السكريات المتعددة عبر جدار الخلية Non Cell Wall Polysacchrides

هذه المجموعة من المواد تعتبر أيضاً كربوهيدرات غير قابلة للهضم، لكنها لا تمت بصلة لجدران خلايا النباتات. تشتمل هذه السكريات المتعددة على الصموغ hydrocolloids مثل صمغ القوار guar و locust bean gum والصمغ العربي Arabic gum

وصمغ الاجار agar واللجنينات alginates والكراجينات caragenans، والتي تستعمل بشكل شائع في الأغذية كمواد هلام gelling agents، ومثبتات stabilizers ومغلظات thickeners.

(٧,٢,٣) اللجنين Lignin

اللجنين عبارة عن بوليمر غير كربوهيدراتي non-carbohydrate polymer والتي تتكون من حوالي ٤٠ وحدة عطرية 40 aromatic subunits والتي ترتبط بشكل تساهمي. هي عادة ترتبط مع السليلوز والهيميسيليلوز في جدران خلايا النبات.

(٧,٣) الإجراءات الشائعة في تجهيز وتحليل العينة
Common Procedures in Sample Preparation and Analysis

هناك العديد من الإجراءات شائعة الاستعمال في العديد من طرق تحليل الألياف الغذائية:

١- فصل الدهون. تجفف عينة الغذاء المراد تحليلها، تطحن إلى مسحوق ناعم وبعد ذلك يستخلص الدهن بمذيب الاستخلاص.

٢- فصل البروتين. تحطم البروتينات عادة وتذاب باستعمال الإنزيمات، أو محلول حامض قوي أو محلول قلوي، بعد ذلك تفصل الأحماض الأمينية الناتجة من الألياف غير الذائبة بالترشيح أو من الألياف الكلية بواسطة الترسيب الانتقائي للألياف بمحاليل الايثانول ethanol.

٣- فصل النشا. النشا شبه البلوري يتم جلتنته بالتسخين في وجود الماء، وبعد ذلك يحطم النشا ويذاب بإنزيمات متخصصة، كمحلول حامض قوي أو محلول قلوي قوي. ثم يفصل الجلوكوز من الألياف غير الذائبة بالترشيح أو يفصل من الألياف الكلية بواسطة الترسيب الانتقائي للألياف بمحاليل الايثانول.

٤- الترسيب الانتقائي للألياف. الألياف الغذائية يمكن أن تفصل من المكونات الأخرى في المحاليل المائية بإضافة تركيزات مختلفة من الايثانول مما يسبب ترسب انتقائي. قابلية ذوبان السكريات الأحادية monosaccharides والسكريات قليلة التسكر oligosaccharide والسكريات عديدة التسكر polysaccharides تعتمد على تركيز الاثانول (٨٠٪). لهذا السبب فإن محاليل الايثانول المركزة (في أغلب الأحيان) تستعمل لترسيب الألياف من المكونات الأخرى بشكل انتقائي.

٥- تحليل الألياف. يمكن أن يقدر محتوى الألياف في أي غذاء إما وزنياً بوزن كتلة جزء الألياف غير الذائب والمعزول من العينة أو كيميائياً بتحطيم الألياف إلى السكريات الأحادية monosaccharides المكونة لها ثم قياس تركيزها باستعمال الطرق الموصوفة سابقاً.

(٧,٤) الطرق الوزنية Gravimetric Methods

(٧,٤,١) طريقة الألياف الخام Crude Fiber Method

تعطي طريقة Wendel تخميناً للألياف غير القابلة للهضم في الأغذية. تقدر بالاستخلاص المتسلسل (المتتابع) للعينة منزوعة الدهن بواسطة H_2SO_4 1.25% و NaOH 1.25%. يجمع الباقي غير الذائب بالترشيح ويجفف وبوزن ويرمد ashed لتصحيح التلوث المعدني من بقية الألياف. تقيس هذه الطريقة السليلوز واللجنين، لكنها لا تقدر الهيميسيليلوز والبكتين والصموغ، لأنه يتم هضمها بالقلوي والحامض ولذا لا يمكن جمعهم. ولهذا السبب يرى العديد من علماء الغذاء بأن استعمال هذه الطريقة يجب أن يتوقف. على الرغم من هذا، هذه الطريقة بسيطة جداً وطريقة رسمية AOAC لعدد من المواد الغذائية المختلفة.

(٧,٤,٢) طريقة الألياف الكلية والذائبة وغير الذائبة

Total, Insoluble and Soluble Fiber Method

إن المبدأ الأساسي لهذه الطريقة هو عزل الجزء المختبر (تحت الاهتمام) بواسطة الترسيب الانتقائي وبعد ذلك تقدر كتلته بالوزن. عينة الغذاء المجلتنة والمجففة ومنزوعة الدهن يتم هضمها إنزيمياً enzimatically بواسطة a-amylase، amyloglucosidase وإنزيم بروتيني protease من أجل تحطيم مكونات النشا والبروتين. ثم يقدر محتوى الألياف الكلي في العينة بواسطة إضافة ٩٥٪ ايثانول إلى محلول العينة من أجل ترسيب جميع الألياف، ثم يرشح المحلول وتجمع الألياف، تجفف، وتوزن. بدلاً عن ذلك، مركبات الألياف الذائبة في الماء وغير ذائبة في الماء يمكن أن تقدر بواسطة ترشيح العينة التي هضمت إنزيمياً. هذا يترك الألياف القابلة للذوبان في محلول الرشح ويجفف ويوزن. ثم يرسب المكون الذائب من المحلول بإضافة ٩٥٪ كحول إلى المرشح، ثم تجمع بالترشيح، تجفف وتوزن ويقدر محتوى البروتين والرماد في الأجزاء المختلفة من أجل التصحيح لأي من هذه المواد والتي قد تبقى مع الألياف:

الألياف = وزن البقايا – وزن (البروتين + الرماد).

أقرت هذه الطريقة رسمياً من قبل AOAC وتستعمل بكثرة في مصانع الأغذية لتقدير محتوى الألياف في الأغذية المتنوعة. عيب هذه الطريقة الرئيسي هو أنها تميل إلى الزيادة في تقدير (overestimate) (المبالغة) محتوى الألياف للأغذية التي تحتوي تركيزات عالية من السكريات البسيطة، مثال: الفواكه المجففة، من المحتمل أنه يتم احتجازهم في الرواسب المتكون عند إضافة الايثانول.

(٧,٥) الطرق الكيميائية Chemical Methods

في الطرق الكيميائية، محتوى الألياف مساوي لمجموع كل السكريات الأحادية غير النشا nonstarch monosaccharides زائداً اللجنين lignin المتبقي بعد إزالة

كل الكربوهيدرات القابلة للهضم. تقاس السكريات الأحادية monosaccharides باستعمال الطرق المختلفة التي وصفت سابقاً.

(٧,٥,١) طريقة انجلست كمنجز Englyst Cummings Procedure

تسخن العينة منزوعة الدهن في الماء لجلتنة النشا، ثم تضاف الإنزيمات لهضم النشا والبروتينات. يضاف الايثانول الصافي pure ethanol إلى المحلول لترسيب الألياف، والتي تفصل من المهضومة بواسطة الطرد المركزي، ثم تغسل وتجفف، ثم تحلل الألياف hydrolyzed باستعمال محلول من حمض الكبريتيك المركز sulfuric acid لتكسرها إلى السكريات الأحادية المكونة لها، ثم قياس تركيزها باستعمال الطرق الموصوفة سابقاً، مثل: الطرق اللونية أو الكروموتوجرافيا. يفترض أن تكون كتلة الألياف في العينة الأصلية مساوية للكتلة الكلية للسكريات الأحادية الموجودة. تركيز الألياف الغذائية غير القابلة والقابلة للذوبان يمكن أيضاً أن تقدر بهذه الطريقة، باستعمال خطوات الفصل المماثلة كما في طريقة الألياف الكلية والذائبة وغير الذائبة Total, insoluble and soluble methods والوزنية gravimetric المذكورة سابقاً.

هذه الطريقة يمكن أن تستعمل لتقدير محتويات الألياف الكلية والذائبة للأغذية، ولكن لا تعطي معلومات حول محتوى اللجنين لأن اللجنين ليس من السكريات المتعددة polysaccharides. ولذا فهي لا يتم تحطيمها إلى سكريات أحادية أثناء الهضم الحامضي. وهذه ليست مشكلة لمعظم الأغذية لأن محتواها من اللجنين منخفض على أية حال. إذا كان الغذاء يحتوي على كميات هامة من اللجنين فإن طريقة أخرى يجب أن تستعمل، مثل: الطريقة الوزنية أو طريق كيميائية أكثر تطوراً (مثل: طريقة Theander Marlett).

الفصل الثامن

تحليل الليبيدات

Analysis of Lipids

(٨,١) مقدمة

تعتبر الزيوت النباتية والدهون الحيوانية أحد المكونات الرئيسية في الأغذية وتتميز بأنها مصدر غني للطاقة. ولا يوجد تعريف ثابت ومحدد للليبيدات حيث عرف Chrisite سنة ١٩٨٢ الليبيدات بأنها "منتجات طبيعية واسعة الانتشار وتشمل الأحماض الدهنية ومشتقاتها والاستيرولات والتربينات والكاروتينات وأحماض الصفراء والتي تتميز بطبيعتها بذوبانيتها في المذيبات العضوية مثل الايثر البترولي Petroleum ether، والهكسان Hexane، والبنزين Benzen والكلوروفورم Chloroform. وعموماً تعرف الليبيدات بأنها المكونات القابلة للذوبان في المذيبات العضوية (مثل الايثر، الهكسان، الكلوروفورم)، وغير ذائبة في الماء. وتشتمل هذه المجموعة من المواد على الجلسريدات الثلاثية Triacylglycerols، الجلسريدات الثنائية Diacylglycerols، الجلسريدات الاحادية Monoacyglycerols، الأحماض الدهنية الحرة والفوسفوليبيدات Phospholipids، والاستيرولات Sterols، والكاروتينات Carotenoids، وفيتامينا (A, D). ومع ذلك فإن الجلسريدات الثلاثية هي المكون الرئيسي في معظم الأطعمة إذ تشكل ٩٥-٩٩٪ من الدهون الموجودة. الجلسريدات الثلاثية هي استرات من ثلاث أحماض دهنية وجزيئي جلسرول Glycerol. الأحماض الدهنية الموجودة عادة في

الأطعمة تتفاوت في طول السلسلة ودرجة عدم التشبع والمرجع على جزيء الجلسرول ولذلك فإن جزء الجلسريدات الثلاثية نفسه يشمل على خليط معقد من أنواع مختلفة من الجزئيات لفظ دهن – زيت يستعملان في أغلب الأحيان بشكل متبادل من قبل علماء الغذاء. بالرغم من أنه أحياناً يستعمل مصطلح الدهن لوصف الليبيدات الصلبة عند درجة حرارة الغرفة بينما يستخدم مصطلح الزيت لوصف الزيوت السائلة عند درجة حرارة الغرفة.

(٨,٢) اختيار وحفظ العينة Sample Selection and Preservation

كما هو الحال عند إجراء أي تحليل فإن صلاحية النتائج تعتمد على سحب العينات بطريقة صحيحة وكذا عملية الحفظ قبل التحليل إذ لابد أن تكون العينة المختبرة تمثل بقدر الإمكان تركيب العينة الأصلية، كذلك فإن تجهيز العينة في تحليل الدهون تعتمد على نوع الغذاء المحلل (مثل لحم، حليب، زبدة، قشطة، ...إلخ) وكذا طبيعة تكوين الدهن مثل قابليته للتطاير Volatility وسهولة الأكسدة، ونوع التحاليل المراد استخدامها مثل الاستخلاص بالمذيبات أو بالأجهزة.

(٨,٣) تجهيز العينة Sample Preparation

تعتمد عملية استخلاص الليبيدات من الأنسجة النباتية أو الحيوانية على عدة أسس عامة أو خطوات رئيسية كما يلي:

(٨,٣,١) معاملات ما قبل الاستخلاص Pretreatments before extraction

أ) التجفيف Drying: في كثير من الأحيان لا تستطيع المذيبات العضوية التي تستخلص بها الزيوت والدهون أن تتخلل الأنسجة ذات الرطوبة العالية بسهولة، وبالتالي تنخفض كفاءة عملية الاستخلاص، وكذلك فإنه بالإضافة لأهمية عملية

التجفيف في زيادة كفاءة الاستخلاص فإنه تؤدي كذلك لسهولة طحن العينات وبالتالي زيادة مساحة سطح الاستخلاص وكسر المستحلب المائي، إلا أن تجفيف العينات على درجة حرارة مرتفعة قد يؤدي لنتائج عكسية حيث يؤدي لارتباط الدهن مع البروتين والكربوهيدرات مما يؤدي إلى تعقيد وصعوبة عملية الاستخلاص بالمذيبات.

ب) **حجم الجزيئات Particle Size**: تعتمد كفاءة عملية الاستخلاص من العينات الجافة على حجم الجزيئات فكلما كان حجم الجزيئات صغير كلما زادت مساحة سطح الاستخلاص وكفاءته. لذا فإنه لابد وأن تطحن العينات المجففة بشكل ناعم قبل الاستخلاص بالمذيب للحصول على عينة أكثر تجانساً ولزيادة المساحة السطحية لليبيد المعرضة للمذيب وكذا فإن عملية الطحن لابد أن تكون عند درجات الحرارة المنخفضة للتقليل من عملية الأكسدة.

ج) **التحليل الحامضي**: تحتوي بعض الأغذية على ليبيدات والتي تكون مركبات معقدة مع البروتينات (الليبوبروتينات Lipoproteins) أو مع السكريات المتعددة Polysacharides (الجليكوليبيدات Glycolipids). لتقدير تركيز هذه المكونات يصبح من الضروري تكسير الروابط بين الليبيد والبروتينات والكربوهيدرات سوياً قبل عملية الاستخلاص بالمذيب. التحلل الحامضي شائع الاستعمال لتحرير الليبيدات المرتبطة إلى أشكال قابلة للاستخلاص بسهولة، مثال:عينة تهضم بواسطة تسخينها لمدة ساعة في وجود حمض الهيدروكلوريك (3N HCl).

د) **اختيار المذيب**: المذيب المثالي لاستخلاص الليبيد هو الذي يستخلص كل مكونات الليبيد بالكامل من الغذاء، بينما يترك كل المكونات الأخرى. عملياً، تعتمد كفاءة عملية الاستخلاص بالمذيب على قطبية (polarity) الليبيدات المختبرة مقارنة مع

قطبية المذيب، الليبيدات القطبية (مثل glycolipids أو phospholipids) أكثر قابلية للذوبان في المذيبات القطبية (مثل الكحول alcohols)، من المذيبات غير القطبية (مثل الهكسان hexane). من الناحية الأخرى، الليبيدات غير القطبية (مثل triacylglycerols) أكثر قابلية للذوبان في المذيبات غير القطبية من المذيبات القطبية. الحقيقة أن الليبيدات المختلفة لها قطبيات مختلفة، تعني أنه من المستحيل اختيار مذيب عضوي وحيد لاستخلاصهم جميعاً. ولذا فإن المحتوى الكلي المقدر بواسطة الاستخلاص بالمذيب يعتمد على طبيعة المذيب العضوي المستعمل لتنفيذ عملية الاستخلاص: المحتوى الكلي لليبيد المقدر باستعمال مذيب واحد قد يكون مختلف عن الذي قدر باستعمال مذيب آخر. بالإضافة إلى الاعتبارات السابقة فإنه يجب أن تتوفر الشروط التالية في المذيبات المستخدمة في عملية الاستخلاص. المذيب يجب أن يكون رخيص وله درجة غليان منخفضة نسبياً (لكي يمكن إزالة بسهولة بالتبخير)، يكون غير سام ويكون غير قابل للاشتعال (لأسباب السلامة). لذا فإنه من الصعب إيجاد مذيب واحد يلبي جميع هذه المتطلبات. ولكن الاثيل ايثر (Ethyl ether) وبترولیم ایثیر (petroleum ether) هي المذيبات المستعملة الأكثر شيوعاً، ولكن البنتان pentane والهكسان hexane يستعملان أيضاً لبعض الأغذية.

(٨,٣,٢) الاستخلاص بالمذيب بشكل دفعات Batch Solvent Extraction

أساس هذه الطرق هو خلط العينة والمذيب في وعاء مناسب، مثال: قمع الفصل (separatory funnel). يهز الوعاء بشدة، ثم يترك المذيب العضوي والوسط (الطور الوجه) المائية لكي ينفصلان (إما بالجاذبية أو الطرد المركزي centrifugation). يزال الوسط المائي، ويقدر تركيز الليبيد في المذيب بتبخير المذيب ثم يقاس كتلة الليبيدات المتبقية ($\%lipid = 100 \times M_{lipid}/M_{sample}$) هذه العملية يمكن أن تكرر عدة

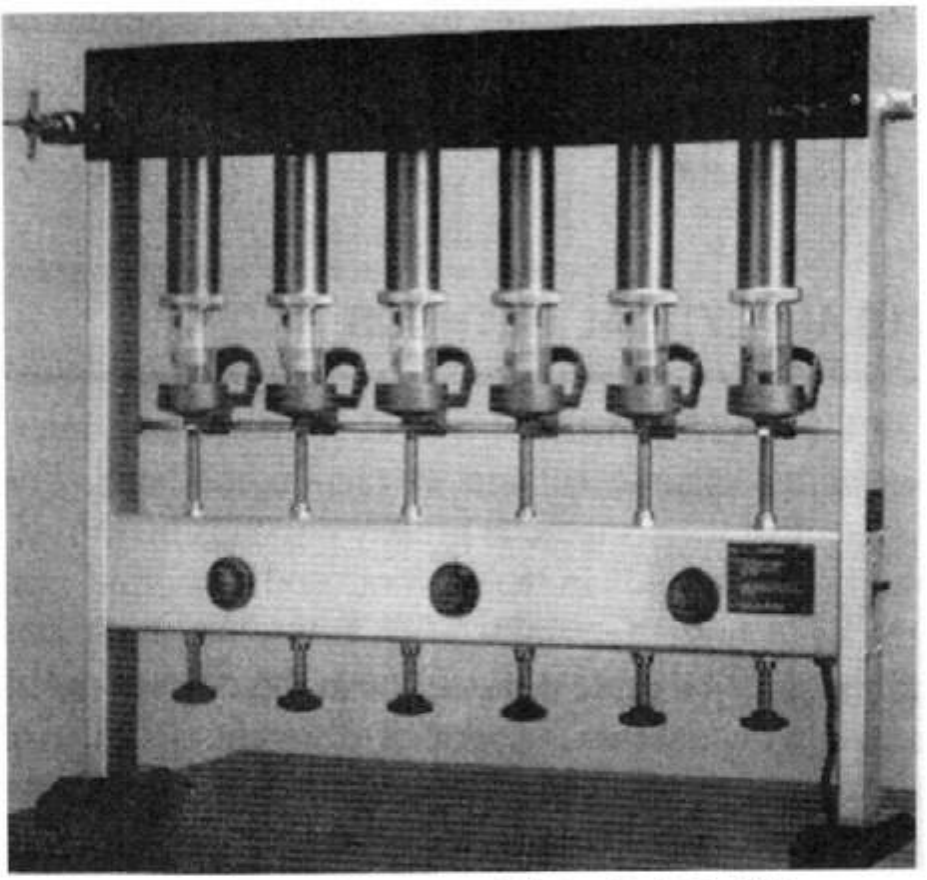
مرات لتحسين كفاءة عملية الاستخلاص. في هذه الحالة، الوسط المائي يمكن أن يمر بعملية استخلاص أخرى باستعمال مذيب جديد، ثم تجمع سوياً كل جزيئات المذيب ويقدر الليبيد بالوزن بعد تبخير المذيب. كفاءة استخلاص نوع معين من الليبيد بواسطة نوع معين من المذيب يمكن أن يحسب بمعامل التوزيع المتعادل (equilibrium partition coefficient).

$$K = C_{solvent}/C_{aqueous}$$

حيث إن ($C_{solvent}$) و ($C_{aqueous}$) هي تركيز الليبيد في وسط المذيب والوسط المائي، على التوالي؛ كلما زاد معامل التوزيع كلما زادت كفاءة عملية الاستخلاص.

(٨,٣,٣) طرق الاستخلاص بالمذيب بشكل مستمر Continuous Extraction Methods

يتم استخلاص الدهن بشكل مستمر من العينة بواسطة نزول المذيب عليها بعد تكثيفه من الحالة البخارية فعند تماس المذيب مع المادة الغذائية يتم استخلاص الدهن استخلاصاً تدريجياً ومتواصلاً ومن ثم تجمعه في أسفل الدورق الذي يتبخر منه المذيب ثانية. ويعتبر جهاز كولدفش (الشكل رقم ٨,١) نموذجاً لإجراء عملية الاستخلاص المستمرة لأن عملية التزحيل Percolation مستمرة في التقطير فوق العينة وإلى الدورق في الأسفل مما يضمن تشبع العينة بالمذيب واستخلاص الدهن بشكل متواصل. أما جهاز اندرايتر Underwriter أو المسمى جهاز ASTM فهو نموذج آخر من الأجهزة ذات الاستخلاص المستمر ويتكون من مكثف معدني ملتوي وعلى جهته العليا يوجد غطاء معدني يستعمل لغلق الدورق المخروطي الزجاجي العريض الفوهة وفي أسفل المكثف بتدلي أنبوب الاستخلاص والذي توضع العينة في داخله، أما الاعتراض الرئيسي على هذا الجهاز هو أن العينة تكون محاطة طول الوقت بأبخرة ساخنة من المذيب وأن الاستخلاص يتم فعلاً بمذيب ساخن بدلاً من مذيب بارد والشكل عبارة عن رسم تخطيطي لهذا الجهاز.



الشكل رقم (٨,١). جهاز الكولدفش Goldfish لاستخلاص الدهون.

(٨,٣,٤) الاستخلاص بالمذيب بشكل متقطع Semi-continuous Solvent Extraction

تستعمل طرق الاستخلاص بالمذيب بشكل شبه مستمرة (متقطعة) بكثرة لزيادة كفاءة عملية استخلاص الليبيد من الأغذية.

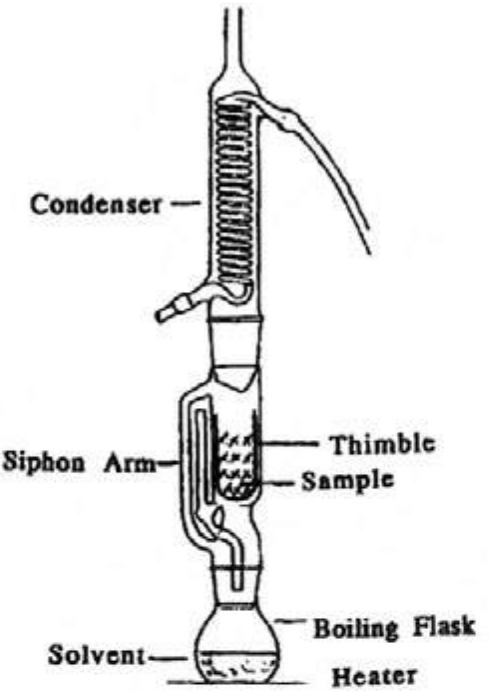
أ) طريقة سوكسلت المثال الشائع للطريقة المتقطعة

يعتبر جهاز السوكسلت Soxhlet كما في الشكل رقم (٨,٢) نموذجاً للاستخلاص المتقطع فهو مصمم بطريقة يسمح بها لصعود بخار المذيب إلى المكثف

بطريق منفصل عن طريق عودته كسائل إلى داخل الدورق. ويمكث المذيب السائل اعتيادياً فترة من الزمن بتماسه المباشر مع العينة الموجودة في داخل الكستبان لاستخلاص الدهن قبل نزوله عن طريق أنبوب السيفون Siphon إلى الدورق. في طريقة سوكسلت العينة تجفف، تطحن إلى جزيئات صغيرة ثم توضع في كستبان مسامي. يوضع الكستبان في وحدة الاستخلاص والتي تكون معلقة فوق دورق وتحت مكثف. يسخن الدورق ثم يتبخر المذيب ويصعد إلى المكثف حيث يتحول إلى سائل فيتساقط إلى وحدة الاستخلاص المحتوية على العينة. في النهاية، يتجمع المذيب في وحدة الاستخلاص ويحيط العينة بالكامل. وحدة الاستخلاص مصممة بحيث عندما يتجاوز المذيب المحيط بالعينة مستوى معين يفيض ثم يسقط أسفل إلى الدورق الساخن مرة أخرى، ثم تبقى الليبيدات في الدورق بسبب انخفاض قابليتها للتبخر . في نهاية عملية الاستخلاص، والتي تدوم عادة بضع ساعات، ينقل الدورق المحتوي على المذيب والليبيد، ثم يبخر المذيب وتقاس الكتلة المتبقية لليبيد (M_{lipid}). النسبة المئوية لليبيد في العينة الأولية (M_{sample}) يمكن أن يحسب:

$$\%lipid = 100 \times (M_{lipid} / M_{sample})$$

وتمتاز هذه الطريقة بأن المذيب الموجود حول العينة يكون بارداً وأن العينة متشربة جيداً بالمذيب وأن المذيب بدوره يمكث فترة زمنية طويلة بتماس مباشر مع العينة، أما من الجهة الأخرى فقد يعاب على هذا النوع من المستخلصات الدهنية هو أن المذيب المجاور للغذاء يتشبع بتركيز عالٍ من الدهن مما يمنع نفاذيته لاستخلاص الدهن إلا بعد دورة تفريغ كاملة (Siphoning Cycle).



Soxhlet extraction apparatus.

الشكل رقم (٨,٢). جهاز السوكسلت.

(٨,٣,٥) الاستخلاص بالهضم Digestion Extraction

صمم جهاز الماجونير Majonnier Apparatus كما في الشكل رقم (٨,٣) أصلاً لاستخلاص الدهن في منتجات الألبان ولكن وجد مؤخراً بأنه مناسب لتقدير الدهن في كثير من الأغذية الأخرى كالخبز ومنتجات الحبوب على مبدأ الاستخلاص السائل/ السائل.

الشكل رقم (٨,٣). جهاز الماجونير.

(٨,٣,٦) الاستخلاص بالمذيب بشكل سريع Accelerated Solvent Extraction (ASE)

يمكن أن تزاد كفاءة عملية الاستخلاص بالمذيب عن طريق تنفيذها عند درجة حرارة وضغط أعلى من المستعمل عادة. تزيد فعالية المذيب في استخلاص الليبيدات من الغذاء بزيادة درجة حرارته، ولكن الضغط يجب أيضاً أن يزاد لإبقاء المذيب في الحالة السائلة، هذا يقلل من كمية المذيب المطلوبة لتنفيذ التحليل، وهذا مفيد من ناحية التكلفة ووجهة النظر البيئية. وهناك آلات خاصة متوفرة لإجراء عملية الاستخلاص بالمذيب عند درجات الحرارة والضغوط المرتفعة.

(٨,٣,٧) الاستخلاص بواسطة سائل تحت الظروف فوق الحرجة

Supercritical Fluid Extraction (SFE)

يمكن تنفيذ عملية الاستخلاص بالمذيب باستعمال آلات خاصة والتي تستعمل ثاني أكسيد الكربون تحت الظروف فوق الحرجة supercritical carbon dioxide

(بدلاً من السوائل العضوية) كمذيب. تجد هذه الأجهزة استعمالاً كبيراً بسبب التكلفة والمشاكل البيئية المرتبطة بالاستعمال ورمي المذيبات العضوية. عندما يسخن ثاني أكسيد الكربون المضغوط pressurized CO_2 فوق درجة حرارة حرجة معينة يصبح في الحالة السائلة supercritical fluid، والتي لها بعض من خصائص الغاز وبعض من خصائص السائل. الحقيقة أنه يتصرف مثل الغاز يعني أنه يمكن أن يتخلل بسهولة إلى العينة ويستخلص الليبيدات، بينما الحقيقة بأنه يتصرف مثل السائل يعني أنه يمكن أن يذيب كمية كبيرة من الليبيدات (خصوصاً عند ضغوط مرتفعة). الآلات المستخدمة على هذا الأساس بأن تسخن عينة الغذاء المختبر في وحدة الضغط وبعد ذلك بخلط ثاني أكسيد الكربون السائل معها. يستخلص ثاني أكسيد الكربون الليبيد، ويكون طبقة مذيب منفصلة، والتي تكون منفصلة من المكونات المائية. ثم يخفض الضغط ودرجة حرارة المذيب مما يسبب لثاني أكسيد الكربون بالتحول إلى غاز، تاركاً أجزاء الليبيد الباقية. يقدر محتوى الليبيد في الغذاء بوزن نسبة الليبيد المستخلص من العينة الأصلية.

(٨,٣,٨) طرق الاستخلاص بغير المذيبات السائلة

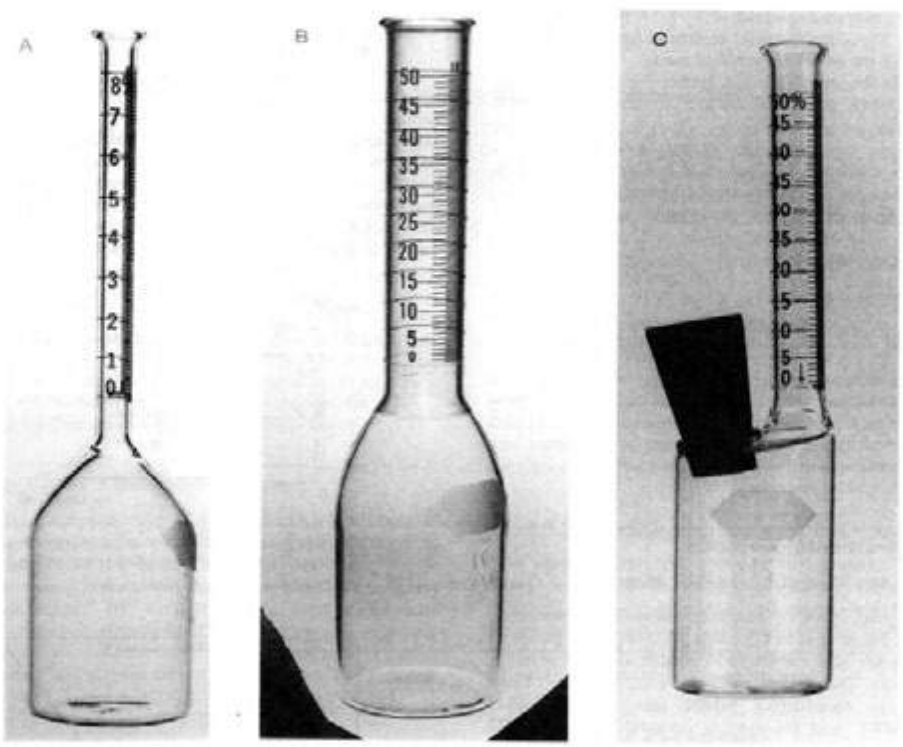
Non-solvent Liquid Extraction Methods

عدد من طرق الاستخلاص بالسوائل لا تعتمد على المذيبات العضوية، ولكن تستعمل مواد كيميائية أخرى لفصل الليبيدات من بقية الغذاء.مثل طريقة بابكوك Babcock، جربر Gerber وطرق المنظفات Detergent هي أمثلة لطرق الاستخلاص بغير المذيبات السائلة لتقدير محتوى الليبيد في الحليب ومنتجات الألبان الأخرى.

أ) طريقة بابكوك Babcock Method

تؤخذ كمية محددة من الحليب بدقة بواسطة ماصة pipette إلى دورق مصمم خصيصاً (قنينة Babcock) كما في الشكل رقم (٨,٤). يخلط حمض الكبريتيك sulfuric

acid بالحليب ويرج حتى التجانس والذي يهضم البروتين. يولد حرارة، ويحلل غشاء حبيبات الدهن المحي بالقطرات، وبذلك يحرر الدهن، ثم يعمل طرد مركزي للعينة بينما هي تسخن (٥٥-٦٠°م) والذي يسبب ارتفاع الدهن السائل إلى رقبة قنينة باكوك. إن رقبة القنينة مدرجة لإعطاء كمية دهن الحليب موجودة كنسبة مئوية (wt%). تستغرق طريقة بابكوك حوالي ٤٥ دقيقة للتنفيذ، وهي دقيقة إلى حوالي ٠,١٪. هذه الطريقة لا تقدر الفوسفوليبيدات phospholipids في الحليب، بسبب وجودها في الوسط المائي أو في الحدود بين وسط الليبيد والوسط المائي.



الشكل رقم (٨,٤). قنينة بابكوك.

ب) طريقة جربر Gerber Method

هذه الطريقة مشابهة لطريقة بابكوك ما عدا استعمال خليط من حمض الكبريتيك sulfuric acid وكحول الايزوايايل isoamyl alcohol، وقنينة مختلفة قليلاً في الشكل رقم (٨,٤). وهذه الطريقة أسرع وأسهل في التنفيذ من طريقة بابكوك. يستعمل كحول الايزوايايل لمنع تفحم السكريات بالحرارة وحمض الكبريتيك، والتي يمكن أن تكون مشكلة في طريقة بابكوك، لأنها تجعل الأمر صعباً لقراءة كمية الدهن في القنينة المدرجة. هذه الطريقة مستعملة بشكل رئيسي في أوروبا، بينما طريقة بابكوك مستعمل بشكل رئيسي في الولايات المتحدة الأمريكية. كما هو الحال مع طريقة بابكوك، هذه الطريقة لا تقدر الفوسفوليبيدات.

ج) طريقة المنظفات Detergent Method

فكرة هذه الطريقة أن المنظف يتفاعل مع البروتين ليعطي مركب من بروتين منظف والذي يعمل على تحطيم المستحلب ويحرر الدهن. طورت هذه الطريقة للتغلب على مخاوف السلامة والإزعاج المرتبطة باستعمال الأحماض شديدة التآكل. تخلط العينة مع خليط من مواد مخففة للتوتر السطحي surfactants في قنينة بابكوك. تزيح هذه المواد غشاء حبيبات الدهن والذي يحيط بقطرات المستحلب في الحليب، مما يسبب لهم الاندماج وانفصال الدهن. تجرى عملية طرد مركزي للعينة مما يسمح للدهن التحرك إلى الرقبة المدرجة للقنينة، حيث يمكن تقدير تركيز الدهن فيها.

د) الطرق الآلية Instrumental Methods

هناك العديد من الطرق الآلية المختلفة متوفرة لتقدير محتوى الليبيد الكلي في المواد الغذائية. هذه الطرق يمكن أن تقسم إلى ثلاثة أنواع مختلفة طبقاً للأسس الفيزيوكيميائية physiochemical لها:

١- قياس الخصائص الطبيعية measurement of bulk physical properties.

٢- قياس إدمصاص الأشعة measurement of adsorption of radiation.

٣- قياس تبعثر الأشعة measurement of scattering of radiation.

كل طريقة آلية لها مميزاتها وعيوبها الخاصة وأنواع الأطعمة والتي يمكن أن تطبق عليها.

أولاً: قياس الخصائص الطبيعية Measurement of bulk physical properties

الكثافة: إن كثافة الزيت السائل أقل من كثافة معظم مكونات الغذاء الأخرى، ولذا هناك نقصان في كثافة الغذاء كلما زاد محتواه من الدهن، وهكذا يمكن تقدير محتوى الليبيد في الأطعمة بقياس كثافتهم.

التوصيل الكهربائي: إن التوصيل الكهربائي لليبيدات أقل بكثير من التوصيل الكهربائي للمواد المائية، ولذا ينخفض التوصيل للغذاء كلما زاد تركيز الليبيد ولذا فإن قياسات التوصيل الكهربائي الكلي للأغذية يمكن أن تستعمل لتقدير كميات الدهون.

ثانياً: الموجات فوق الصوتية:

السرعة التي تقطعها الموجة فوق الصوتية خلال مادة تعتمد على تركيز الدهن في الغذاء، وهكذا يمكن تقدير محتوى الليبيد بقياس السرعة فوق الصوتية. هذه التقنية قادرة على القياسات السريعة، غير المدمرة للعينة (on-line) لمحتوى الليبيد.

(٨,٣,٩) قياس إدمصاص الأشعة Measurement of Adsorption of Radiation

أ) الأشعة المرئية – فوق البنفسجية UV-visible: تركيز ليبيدات معينة يمكن أن يقدر بقياس امتصاص absorbance الأشعة فوق البنفسجية – المرئية. يجب استخلاص وتخفيف الليبيد في محلول مناسب قبل التحليل، ولهذا فإن التقنية يمكن أن تستغرق وقت طويل وتحتاج إلى عمل مركز.

ب) الأشعة تحت الحمراء Infrared: هذه الطريقة مبنية على أساس امتصاص طاقة IR عند طول موجي (5.73 µm) بسبب اهتزازات أو دورات الجزيئي المرتبط بجزيئات الدهن: كلما زادت شدة الامتصاص كلما زادت كمية الدهن الموجودة. الأشعة تحت الحمراء IR مفيد جداً للتحليل السريع و on-line لمحتوى الليبيد عندما يكون المنحنى القياسي المناسب قد طور.

جـ) الرنين المغناطيسي النووي Nuclear Magnetic Resonance: جهاز طيف NMR spectroscopy يستعمل بشكل دوري لتقدير التركيز الكلي لليبيد في الأغذية. يقدر محتوى الليبيد بقياس المنطقة تحت المنحنى peak في أطياف تغيير NMR الكيميائية التي تمثل جزئيات الليبيد. محتويات الليبيد يمكن أن تقدر في أغلب الأحيان في بضعة ثواني بدون الحاجة لأي تجهيز للعينة عن طريق استعمال آلات متوفرة بشكل تجاري.

د) امتصاص الأشعة السينية X-ray absorption: تمتص اللحم الطري الأشعة السينية X-rays بقوة أكثر من الدهن، ولذا فإن امتصاص الأشعة السينية ينقص كلما زاد تركيز الليبيد. طورت الآلات التجارية التي تستعمل (تستغل) هذه الطريقة لتقدير محتوى الليبيد في اللحوم ومنتجات اللحم.

(٨,٣,١٠) قياس تبعثر الأشعة Measurement of Scattering of Radiation

أ) تبعثر الضوء Light Scattering: تركيز قطرات الزيت في مستحلبات الغذاء المخففة يمكن أن تقدر باستعمال تقنيات الضوء المبعثر لأن عكرة المستحلب تتناسب مباشرة مع تركيز قطرات الزيت الموجودة.

ب) تبعثر فوق الصوتي Ultrasonic Scattering: تركيز قطرات الزيت في مستحلبات الغذاء المركزة يمكن أن تقدر باستعمال تقنيات التبعثر فوق الصوتية لأن سرعة فوق الصوتية وامتصاص الأشعة فوق السمعية بواسطة مستحلب تتعلق بتركيز قطرات الزيت الموجودة.

عدد من هذه الطرق الآلية لها مميزات رئيسية على تقنيات الاستخلاص المذكورة سابقاً، وهي أنها لا تسبب إتلاف للعينة، تتطلب قليلاً أو لا تتطلب تجهيز للعينة، والقياسات عادة سريعة، ودقيقة وسهلة.

العيب الرئيسي للتقنيات التي تعتمد على قياسات الخصائص الطبيعية للأغذية هو أن المنحنى القياسي calibration curve يجب أن يجهز بين الخواص الطبيعية المختبرة ومحتوى الليبيد الكلي، وهذا قد يعتمد على نوع الليبيد المختبر ونظام مخلوط الغذاء الموجود فيه الليبيد، بالإضافة إلى هذه التقنيات يمكن فقط أن تستعمل لتحليل الأغذية ذات التراكيب البسيطة نسبياً. الأغذية التي تحتوي العديد من المكونات المختلفة والتي تركيزها قد يتفاوت، من الصعب حل مساهمته التي يسهم بها الدهن إلى القياس الكلي من تلك المكونات الأخرى.

(٨,٤) مقارنة الطرق Comparison of Methods

طريق سوكسلت Soxhlet للاستخلاص هي واحدة من الطرق شائعة الاستعمال لتقدير الليبيدات الكلية في الأغذية المخففة. هذا بسبب أن الطريقة سهلة جداً للاستعمال والطريقة المعترف بها رسمياً لتشكيلة واسعة من تقديرات محتوى الدهن. من العيوب الرئيسية لهذه التقنية هي أنه مطلوب أن تكون العينة جافة نسبياً (للسماح للمذيب بالتغلغل أو الاختراق)، وهي متلفة للعينة، وهي مستهلكة للوقت، للأغذية عالية المحتوى من الرطوبة من الأفضل غالباً استعمال تقنية الاستخلاص بالمذيب بشكل دفعات أو تقنية طرق الاستخلاص بغير المذيبات. عديد من الطرق الآلية تكون بسيطة التشغيل، سريعة، قابلة للإعادة بدقة، تتطلب تجهيز قليل للعينة وغير متلفة للعينة، ولكن، هذه الطرق في الغالب مكلفة ويمكن فقط أن تستعمل لأنواع محددة من الأغذية، وبمعنى آخر: حيث لا يوجد هناك تداخل من المكونات

الأخرى. بالإضافة، مطلوب عادة تحضير المنحنيات القياسية للطرق الآلية لمحتوى الدهن المطلوب قياسه باستعمال الطريقة القياسية.

تميل تقنيات الاستخلاص إلى أن تكون أكثر دقة وأكثر قابلية للتطبيق، ولذا الطرق القياسية للتحليل الرسمي للعديد من مواد الغذاء (مثال: متطلبات البطاقة الغذائية والمتطلبات القانونية)، الطرق الآلية مفيدة جداً للقياسات السريعة لمحتوى الدهن أو في مختبرات الجودة لمختبرات الغذاء، حيث العديد من العينات يجب أن تقاس بسرعة.

(٨,٥) تقدير تركيب الليبيد Determination of Lipid Composition

(٨,٥,١) المقدمة

في الجزء السابق نوقشت الطرق التحليلية لقياس تركيز الليبيدات الكلي في الأغذية، بدون أي اهتمام حول نوع الليبيدات الموجودة. الليبيدات عبارة عن مجموعة متنوعة من المركبات التي تشتمل على tri-, di- and monoacylglycerols الأحماض الدهنية الحرة، الفوسفوليبيدات، الاسترولات، الكاروتينات، وفيتامينات A and D بالإضافة،فإن معظم هذه المجاميع الفرعية معقدة كيميائياً. جميع triacylglycerols هي عبارة عن استرات من جليسرول glycerol وثلاث جزيئات للأحماض الدهنية، الأحماض الدهنية يمكن أن يكون لها أطوال سلاسل مختلفة. وهكذا حتى الليبيد الذي يتكون فقط من triacylglycerols قد يحتوي على عدد كبير من المركبات الكيميائية المختلفة. في أغلب الأحيان يهم علماء الغذاء معرفة القدرة على تحديد تركيز الأنواع المختلفة لجزيئات الليبيد الموجودة، بالإضافة إلى تركيز الليبيد الكلي. وهناك الكثير من الأسباب لتقدير نوع الليبيدات الموجودة في الأغذية منها:

أ) **قانوني**، تطلب عادة الاشتراطات الحكومية أن تكون كميات الليبيدات المشبعة، وغير المشبعة وعديدة عدم التشبع polyunsaturated، بالإضافة إلى كمية الكوليسترول، محددة على البطاقات الغذائية.

ب) **جودة الغذاء**، الخصائص الطبيعية المرغوبة للأغذية، مثل المظهر والنكهة وإحساس الفم mouthfeel والقوام، تعتمد على نوع الليبيدات الموجودة.

جـ) **أكسدة الليبيد**، الأغذية التي تحتوي على التركيزات العالية من الليبيدات غير المشبعة تكون معرضة لعملية أكسدة الليبيد، والتي يمكن أن تؤدي إلى تكوين نكهات وروائح غير مرغوبة، بالإضافة إلى مركبات سامة، مثل: أكسيدات الكوليسترول.

د) **الغش**، غش الدهن والزيوت يمكن أن يكتشف بقياس نوع الليبيدات الموجودة، ومقارنتها بمثيلتها المتوقعة في العينة غير المغشوشة.

هـ) **تصنيع الغذاء**، العديد من مصانع الأغذية تعتمد على معرفة نوع الليبيدات الموجودة من أجل تعديل ظروف التصنيع إلى قيمهم القصوى، مثل: درجات حرارة، معدل مقدار التدفق، ... الخ.

(٨,٥,٢) تجهيز العينة Sample Preparation

من المهم للعينة المختارة للتحليل أن تكون ممثلة لليبيدات الموجودة في الغذاء الأصلي، وأن لا يطرأ أي تغير فى خصائصها قبل التحليل، وتحليل أنواع الليبيدات الموجودة في الغذاء يتطلب عادة بأن يكون الليبيد موجود بشكل نقي جداً. ولذا فإن الأغذية التي هي عبارة عن دهون، مثل زيت الزيتون أو الزيت النباتي أو الشحم، يمكن أن تحلل عادة بتجهيز أقل، ولكن للعديد من الأغذية الأخرى من الضروري استخلاص وتنقية الليبيد قبل التحليل. أحياناً يمكن استخلاص الليبيدات بواسطة عمل ضغط بسيط على الغذاء من أجل استخراج الزيت، مثال: بعض السمك،

المكسرات nuts والبذور seeds. ولكن معظم الأغذية تحتاج إلى طرق استخلاص، مثل طرق الاستخلاص بالمذيبات أو طرق الاستخلاص بغير المذيبات التي وصفت في السابق. عندما يتم فصل الليبيدات، فإنها تسيح في أغلب الأحيان وبعد ذلك ترشح أو تعامل بالطرد المركزي centrifuged لإزالة أي مادة غريبة. بالإضافة إلى ذلك، إنها تجفف في أغلب الأحيان لإزالة أي رطوبة متبقية والتي قد تتداخل في التحليل. كما هو الحال عند أي إجراء تحليلي من المهم أن لا تتأثر خصائص المكون تحت التحليل أثناء عملية الاستخلاص. فأكسدة الليبيدات غير المشبعة يمكن أن تقلل بإضافة مثبطات الأكسدة، أو بحقن العبوات بغاز النتروجين وتفادي التعرض للحرارة والضوء.

(٨,٥,٣) الفصل والتحليل بواسطة الكروماتوجرافيا

Separation and Analysis by Chromatography

الكروماتوجرافيا chromatography هو أحد أهم الطرق التحليلية لفصل وتحليل خصائص الليبيدات، خصوصاً عندما تقارن مع التقنيات التي يمكن أن تستعمل للتعرف على التركيب الكيميائي للمنحنيات peaks، مثال: طيف الكتلة mass spectrometry أو NMR. التحليل الكروماتوجرافي يتضمن مرور خليط الجزيئات التي تنفصل خلال عامود يحتوي على وسط قادر بشكل انتقائي إعاقة تدفق الجزيئات. تنفصل الجزيئات في الخليط بسبب اختلاف صلاتها في الوسط الذي في العمود. إذ كلما قويت الصلة بين جزيء معين والوسط، أصبحت حركته تعاق بقوة، مما جعله يمر ببطء من خلال العمود. وهكذا الجزيئات المختلفة يمكن أن تفصل على أساس قوة تفاعلها مع الوسط. بعد أن يتم الفصل بالعمود، يقدر تركيز كل واحد من الجزيئات بكاشف detector مناسب (مثال: المرئي – فوق البنفسجي UV-visible، fluorescence، أو تأين اللهب flame ionization، تستعمل البيانات المتحصل عليها في الحساب الكمي للدهون المشبعة و غير المشبعة وعديدة عدم التشبع polyunsaturate

والكوليسترول؛ درجة أكسدة الدهون وكشف الغش وتقدير وجود مانعات الأكسدة. و تتوفر أشكال مختلفة من تقنيات الكروماتوجرافيا لتحليل الليبيدات في الأغذية مثل : كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة Thin Layer chromatography (TLC) والكروماتوجرافيا الغازية gas chromatography (GC)، وكروماتوجرافيا السائل ذات الضغط العالي high Performance liquid chromatography (HPLC).

(٨,٥,٤) فصل الليبيد بواسطة Lipid Fraction by TLC

تستعمل 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. بمقارنة 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. ومن مميزات هذه الطريقة سهولة اختيار مادة الادمصاص حسب نوع المادة المراد فصلها وسهولة فصل المواد القطبية والمتطايرة.

(٨,٥,٥) استرات ميثيل الحمض الدهني بواسطة Fatty Acid Methyl Esters by GC

الجلسريدات الثلاثية triglycerides والأحماض الدهنية الحرة ليست متطايرة جداً لذا فإنه من الصعب أن تحلل باستعمال جهاز GC. لهذا السبب عادة تشتق

الليبيدات derivitize قبل التحليل من أجل زيادة درجة تطايرها. إذ يعمل عملية تصبن للجلسريدات الثلاثية أي تكسيرها إلى جليسرول glycerol وأحماض دهنية حرة وثم تجرى عملية ميثل methylation.

$$\text{Fatty acid methyl esters (FAMEs)} \longrightarrow \text{Triacylglycerol} + (CH_3OH, NaOH) + \text{glycerol}$$

عملية التصبن تخفض الوزن الجزيئي وعملية الـ methylation تخفض القطبية (polarity) وكلا العمليتان تزيدان 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.

(٨,٥,٦) الطرق الكيميائية Chemical Methods

طورت العديد من الطرق الكيميائية لإعطاء معلومات حول نوع الليبيدات الموجودة في الدهون والزيوت الصالحة للأكل. هذه الطرق تعطي فقط معلومات حول متوسط الخواص لمكونات الليبيدات الموجودة مثال: متوسط الوزن الجزيئي، درجة عدم التشبع أو كمية الأحماض الموجودة. على الرغم من هذا، فهي طرق سهلة الأداء ولا تتطلب أدوات غالية، ولذا فهي تستعمل بكثرة في مجال الصناعة والبحث.

الخواص الكيموفيزيائية

أ) معامل الانكسار Refractive Index

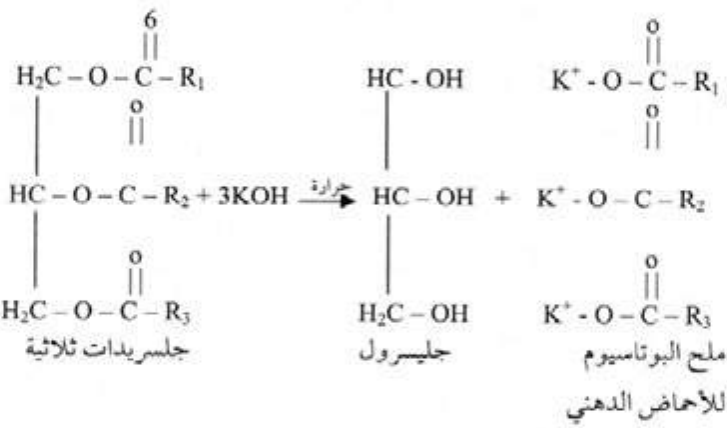
يعرف معامل الانكسار (RI) في الزيوت بأنه معدل سرعة الضوء في الهواء إلى سرعة الضوء في الزيت. وتقاس عادة العينات باستخدام جهاز الرافراكتومتر

Refractometer عند ٢٠° أو ٢٥°م للزيت و ٤٠°م للدهن حيث إن الدهن يذوب عند هذه الدرجة.

يستخدم RI للتحكم في عمليات الهدرجة وهناك علاقة بينه وبين رقم اليود فيقل RI كلما قل الرقم اليودي وكذا يستخدم لقياس النقاوة.

ب) رقم التصبن Saponification Number

التصبن هو المعاملة التي ينتج عنها تكسير أو تحلل الدهون إلى جليسرول وأحماض دهنية بواسطة معامل الدهن بقلوي.



يعرف رقم التصبن بأنه كمية القلوي الضرورية لصوبنة كمية معلومة من الدهن أو الزيت. ويعبر عنها بالمليجرام من KOH اللازمة لصوبنة ١ جرام من العينة. رقم التصبن يعبر عن الوزن الجزيئي للجلسريدات الثلاثية في العينة، وكلما قل رقم التصبن كلما زاد طول سلسلة الأحماض الدهنية.

وتتلخص طريقته بأن يضاف زيادة من هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي للعينة ثم يسخن المحلول لتصبن الدهن. هيدروكسيد البوتاسيوم غير المتفاعل يعاير

محلول قياسي من حامض HCl و يستخدم الفينولفثالين ككاشف ثم يحسب رقم التصبن.

$$\text{Saponification value} = \frac{(B - S) \times N \times 56.1}{\text{Sample weight (g)}}$$

حيث:

B = عدد ml المعايرة من البلانك

S = عدد ml المعايرة من العينة

N = العيارية Hcl

56.1 = الوزن الجزيئي لـ KOH

ويمكن قياس رقم التصبن حسابياً كما في المعادلة التالية:

$$\text{رقم التصبن} = \frac{٣ \times ٥٦,١ \times ١٠٠}{(١١ \times ٣) - [٩٢,٠٩ + (\text{متوسط الوزن الجزيئي} \times ٣)]}$$

حيث إن:

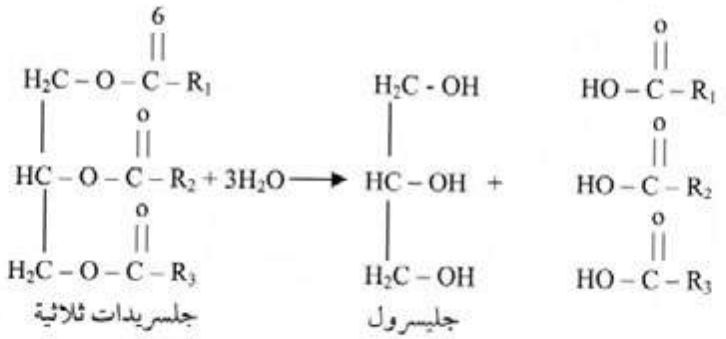
٥٦,١ = الوزن الجزيئي لـ KOH

٩٢,٠٩ = الوزن الجزيئي للجلسرول

حيث إن متوسط الوزن الجزيئي = هو مجموع Fractional الأوزان الجزئية للأحماض الدهنية في العينة.

جـ) الأحماض الدهنية الحرة والرقم الحمضي Free Fatty Acids and Acid Value

قياس حمضية الدهن يقاس عادة كمية الأحماض الدهنية المتحللة من الجلسريدات الثلاثية.



الأحماض الدهنية الحرة هي عبارة عن النسبة بالوزن لأحماض دهنية معينة. أما الرقم الحمضي acid value فإنه مليجرام من KOH اللازمة لمعادلة الأحماض الحرة الموجودة في ١ جرام من الدهن أو الزيت ويمكن 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، ٩٥٪ المعادل ودليل الفينولفثالين ككاشف تضاف مع بعض ثم تعاير مع NaoH وتحسب نسبة الأحماض الدهنية الحرة كما في المعادلة التالية:

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

د) الرقم اليودي Iodine Value

هو عبارة عن "عدد جرامات اليود اللازمة لتشبع الروابط الزوجية في ١٠٠ جرام من العينة". ويستخدم 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. وتوضح المعادلة التالية طريقة التفاعل:

$$-CH_2 - CH = CH - CH_2 - R + I_2 \longrightarrow -CH_2 - \underset{H}{\overset{I}{C}} - \underset{H}{\overset{I}{C}} - CH_2 - R$$

وقد قسمت الزيوت على أساس الرقم اليودي إلى:

- زيوت غير قابلة للجفاف Non drying oil : ذات رقم يودي أقل من ١٠٠.
- زيوت نصف جافة Semi drying oil : ذات رقم يودي من ١٠٠-١٣٠.
- زيوت قابلة للجفاف Drying oils : ذات رقم يودي أعلى من ١٣٠.

ومن ناحية أخرى فإن قيمة الرقم اليودي تتوافق عادة مع متوسط عدد الروابط المزدوجة double bonds في العينة المختبرة، ولكنها لا تعطي فكرة عن توزيع هذه الروابط بين الأحماض الدهنية الموجودة بالعينة.

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:

$$\underset{\text{(excess)}}{ICl} + R - CH = CH - CH - R \longrightarrow R - CHI - CHCl - R + \underset{\text{(remaining)}}{ICl}$$

محلول من يوديد البوتاسيوم يضاف ليقلل الزيادة من ICl ويحرر الأيودين

$$ICl + 2KI \longrightarrow KCl + KI + I_2$$

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

$$\underset{\text{(أزرق)}}{I_2 + \text{starch} + 2Na_2S_2O_3} \longrightarrow \underset{\text{(عديم اللون)}}{2NaI + \text{starch} + Na_2S_4O_6}$$

ثم يحسب الرقم اليودي كما في المعادلة:

$$\text{الرقم اليودي} = \frac{(\text{ح} - \text{ح}_{\text{،}}) \times \text{ع} \times ١٢٦,٩ \times ١٠٠}{\text{وزن العينة (جرام)} \times ١٠٠}$$

حيث إن:

ح = حجم الثيوكبريتات بالمللتر التي استهلكت في البلانك

ح، = حجم الثيوكبريتات بالمللتر التي استهلكت في التجربة

ع = عيارية الثيوكبريتات

هـ) رقم البيروكسيد Peroxide Value

وهو عبارة عن "عدد ملليمكافئات البيروكسيد الموجودة في ١كجم زيت أو دهن". ويستخدم في تقدير درجة التزنخ الأكسيدي للزيوت والدهون حيث إن تكوين الهيدروبيروكسيدات في المراحل الأولى يعطي فكرة عن درجة صلاحية الزيوت للاستهلاك الآدمي، والهيدروبيروكسيدات عديمة الطعم واللون ولكنها تتحلل بسرعة لتعطي ألدهيدات ذات رائحة ونكهة قوية وكريهة، وترتبط قيمة البيروكسيد إلى حد ما بالنكهة المنبعثة من الألدهيدات وناتجات الأكسدة الأخرى. ولا 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. ويمكن إيجاز طريقة إجراء هذا الاختبار فيما يلي:

يذاب الزيت أو الدهن في مخلوط من حامض الخليك الثلجي – ايزواوكتان (٢:٣) ثم يضاف يوديد البوتاسيوم المشبع والذي يتفاعل مع البيروكسيد ومن ثم يتحرر اليود كما في المعادلة:

$$\underset{\text{زيادة}}{ROOH + K^+ I^-} \xrightarrow{M^+ + \text{heat}} ROH + K^+ OH^- + I_2$$

ثم يعاير اليود المتحرر بواسطة ثيوكبريتات الصوديوم في وجود دليل النشا

$$I_2 + \text{starch} + 2NaS_2O_3 \longrightarrow 2NaI + \text{starch} + Na_2S_4O_6$$

(أزرق) (عديم اللون)

ثم يحسب رقم البيروكسيد كما في المعادلة التالية:

$$\text{رقم البيروكسيد (ملليمكافئ/ كجم زيت أو دهن)} = \frac{\text{ح} \times \text{ع} \times ١٠٠}{\text{وزن العينة (جرام)}}$$

حيث إن:

ح = حجم ثيوكبريتات الصوديوم بالملليتر

ع = عيارية ثيوكبريتات الصوديوم

و) قيمة الانسيدين والأكسدة الكلسية Anisidine Value and Totox Value

يعبر رقم الانسيدين عن كمية الألديهيدات 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 الألدهيدات وتقاس نواتج التفاعل لونياً باستخدام جهاز الاسبكتروفوتومتر. أما الأكسدة الكلسية يعبر عن قيمة الأكسدة الكلية للزيوت أو الدهون ويعرف بأنه عبارة عن ضعف رقم البيروكسيد مضافاً إليه قيمة الانسيدين

$$\text{Totox Value} = 2\text{-peroxide value} + \text{p-ansidine}$$

وتتلخص طريقته بأن يذاب الزيت أو الدهن في الايزواوكتان iso-octane وهذا بتفاعل الانسيدين وبعد ١٠ دقائق يقرأ الامتصاص عند ٣٥٠ نانومتر ثم تحسب قيمة الانسيدين كما في المعادلة:

$$\text{قيمة الانسيدين} = \frac{25 \times (1.2\ A_S - A_B}{\text{sample weight (g)}}$$

حيث:

A_S = الامتصاص بعد التفاعل

A_B = الامتصاص قبل التفاعل

ز) اختبار حامض الثيوباربتيوريك Thiobarbituric Acid (TBA)

يستخدم هذا الاختبار كدلالة على حدوث الأكسدة النهائية للزيوت والدهون ويعتمد على قياس المركبات الألدهيدية الناتجة من تكسير الهيدروبيروكسيدات منتجاً الرائحة غير المقبولة للمستهلك. وهو يقيس الناتج الثانوي لأكسدة الدهون (المالون ألدهايد). وهو يشمل تفاعل المالون ألدهايد مع TBA ليعطي مركب ملون يقاس باستخدام جهاز الاسبكتروفوتومتر ويمكن توضيح طريقته بأنه يؤخذ وزن معلوم من العينة وتجانس مع ماء مقطر ثم تضبط pH إلى ١,٢ وتنقل العينة إلى دورق التقطير ثم يضاف إليها بعض النقط من السيليكون (كمادة مضادة للفوران antifoaming)، بعض كريات صغيرة من الزجاج glass beads لتنظيم عملية الغليان. تقطر محتويات الدورق في جهاز التقطير بسرعة وتجمع أول ٥٠ مل من المتقطر. كمية مناسبة من ناتج التقطير يضاف إليها كمية مساوية من TBA توضع في أنبوبة اختبار، ثم توضع الأنبوبة بعد ذلك في حمام مائي لمدة ٣٥ دقيقة مع عمل تجربة بلانك في نفس الظروف. يضبط الامتصاص الضوئي على العينة البلانك ثم يقرأ الامتصاص الضوئي للون المتكون على طول موجي ٥٣٠ نانومتر مستخدماً المنحنى القياسي Standard Curve. قراءة الامتصاص تحول إلى مليجرام من المالنوالدهايد لكل كيلوجرام من العينة.

الفصل التاسع

تحليل البروتينات

Analysis of Proteins

(٩,١) مقدمة

البروتينات هي متبلمرات من الأحماض الأمينية، وتتكون من عشرين نوعاً مختلفاً من الأحماض الأمينية. تختلف البروتينات عن بعضها البعض طبقاً لنوع وعدد وتتابع سلسلة الأحماض الأمينية والتي تكوّن العمود الفقري للببتيد المتعددة polypeptide.

وللبروتينات تراكيب جزيئية، خواص تغذوية وخواص فيزيوكيميائية physiochemical مختلفة. وهي مهمة في الغذاء حيث أنها مصدر رئيسي للطاقة، وتحتوي على الأحماض الأمينية الأساسية، (مثل valine, lysine, tryptophan, methionine, leucine, isoleucine)، الضرورية لصحة الإنسان، والتي لا يستطيع الجسم تكوينها، البروتينات أيضاً مكونات هيكلية رئيسية للعديد من الأغذية الطبيعية، غالباً فهي تحدد القوام texture العام للأغذية، مثل: طراوة منتجات اللحوم أو الأسماك. وتستعمل غالباً في الأغذية كمكونات نظراً لخواصها الوظيفية الفريدة، وقدرتها على توفير مظهر وقوام أو ثبات مرغوب. تستعمل البروتينات كمواد جلي gelling agents وكمستحلبات emulsifiers، كمواد رغاوي foaming agents، ومغلظات thickeners. العديد من بروتينات الغذاء هي إنزيمات والتي تكون لها القدرة على تحسين معدل بعض التفاعلات الكيموحيوية biochemical. هذه التفاعلات يمكن أن

يكون لها إما تأثير سلبي أو ايجابي على الخواص الكلية للغذاء. محللو الأغذية يهتمون بمعرفة التركيز الكلي، نوع التركيب الجزيئي والخواص الوظيفية للبروتينات في الأغذية.

ويعتبر تحليل البروتين عملية معقدة وتعتريها بعض الصعوبات لوجود بعض المكونات الغذائية الأخرى متشابهة في صفاتها الفيزيوكيميائية مع البروتينات.

ولا تعتبر البروتينات هي المصدر الوحيد للنيتروجين في المواد الغذائية فهناك أيضاً المركبات النيتروجينية اللابروتينية التي يمكن أن تأتي من الأحماض الأمينية، والببتيدات الصغيرة، والأحماض النووية والفوسفوليبيدات، والسكريات الأمينية، والبورفيرينات، والقلويدات، وحامض اليوريك، واليوريا،وأيونات الأمونيوم، وعلى هذا الأساس، فالنيتروجين العضوي الكلي في الأغذية يمثله بصفة أساسية النيتروجين البروتيني، والمواد النيتروجين العضويه اللابروتينية.

(٩,٢) أهمية التحليل Importance of Analysis

تأتي أهمية تحليل البروتين من الآتي:

تقدير النشاط البيولوجي: فبعض البروتينات كالإنزيمات والمثبطات لها أهميتها الكبير في علوم الأغذية والتغذية منها على سبيل المثال لا الحصر، إنزيمات تحليل البروتين التي تستخدم في نظرية اللحوم، الإنزيمات البكتينية ودورها الحيوي في نضج الفواكه، وكذلك مثبطات التربسين في البقوليات ودورها كمواد مضادة للتغذية antinutritional factors.

الصفات الوظيفية: لبروتينات أنواع الأغذية المختلفة صفات وظيفية فالجليادين والجلوتينين لهما دورهما الأساسي في صناعة الخبز، كازين اللبن وتكوينه

للخثرة في صناعة الجبن، وكذلك بياض البيض وإنتاجه للرغوة في المنتجات الغذائية التي تمتاز بصفة الهشاشة.

البطاقة التغذوية: ودورها في رفع درجة الوعي الغذائي ومعرفة المستهلك بما يتناوله وقيمته الغذائية ومدى تغطية احتياجاته الغذائية.

هذا ويكون 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).

(٩,٣) تقدير تركيز البروتين الكلي
Determination of Overall Protein Concentration

تعتمد الطرق المختلفة لتقدير المحتوى الكلي من البروتين في غذاء ما على تقدير عنصر ما أو مجموعة معينة من البروتين ثم حساب نسبة البروتين باستخدام معامل تحويل ثبتت صحته بالتجربة. وتشمل طرق تحليل مكونات البروتين، تقدير الكربون أو النيتروجين، أو بعض الأحماض الأمينية أو الروابط الببتيدية، وفي بعض البروتينات يدل على تركيزها أو نسبتها بعض العناصر مثل الحديد في بروتين الهيموجلوبين أو اليود في الثيروجلوبين، .. الخ. ويمكن استخدام أي من تلك التقديرات في تقدير البروتين وفي كل تلك الطرق وغيرها نفترض أن يكون المكون

المقدر للتعبير عن محتوى الغذاء من البروتين، موجود كلية في شق البروتين فقط، ولذلك فللتقدير الصحيح للبروتين يجب إزالة أي مكون آخر نيتروجيني وغير بروتيني حتى لا يتداخل هذا النيتروجين في تقدير قيمة البروتين في المواد الغذائية.

(٩,٣,١) طريقة كلداهل Kjeldahl Method

طورت طريقة كلداهل في عام ١٨٨٣ من قبل عالم يدعى Johsann Kjeldahl. 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. نفس الفكرة الأساسية ما زالت تستعمل حتى اليوم، بالرغم من أن عدد من التحسينات عملت لتسريع العملية وللحصول على قياسات أكثر دقة. تعتبر هذه الطريقة القياسية لتقدير تركيز البروتين، لأن طريقة كلداهل لا تقيس محتوى البروتين مباشرة، بل تحتاج إلى معامل (F) لتحويل نسبة النيتروجين المقاس إلى تركيز بروتين. معامل التحويل (٦,٢٥) نتج عن قسمة النتروجين الكلي على نسبة النتروجين في جزيئي البروتين والذي يساوي ١٦٪ أي (١٠٠/ ١٦) هذا هو المعامل العام وأيضا هو معامل التحويل لبروتينات اللحوم والخضروات ولبقية البروتينات معامل تحويل مختلف يعتمد على تركيبها من الأحماض الأمينية (مثلا للحبوب = ٥,٧ وفى منتجات الألبان = ٦,٣٨ وهكذا). طريقة كلداهل يمكن أن تقسم إلى ثلاث خطوات، الهضم والمعادلة والمعايرة.وتقسم طريقة كلداهل الى ثلاثة خطوات: الهضم و التقطير و المعايرة.

أ) المبادئ Principles

إعداد العينة: تطحن الأغذية الصلبة بحيث تمر من منخل سعة ثقوبه ٢٠ ثقباً في البوصة الطولية (20 mesh) ثم تؤخذ عينة ممثلة ومتجانسة.

ب) الهضم Digestion

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، والمواد العضوية الأخرى إلى (H_2O) و (CO_2). غاز الأمونيا (NH_3) (ammonia gas) المتكون لا يتحرر في محلول الحامض لأن الأمونيا تكون على شكل أيون الأمونيوم (NH_4^+) (ammonium ion) والذي يرتبط مع أيون الكبريتات (SO_4^{2-}) وهكذا يبقى في المحلول:

(١) $$N\ (food) \longrightarrow (NH_4)_2\ SO_4$$

ج) التقطير (المعادلة Neutralization)

بعد إكمال عملية الهضم يوصل دورق الهضم بدور الاستقبال receiving flask بواسطة أنبوب. المحلول في دورق الهضم يصبح قلوي بإضافة هيدروكسيد الصوديوم sodium hydroxide، والذي يحول كبريتات الأمونيوم إلى غاز الأمونيا:

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

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.

(٣) $$NH_3 + NH_3BO_3\ (boric\ acid) \longrightarrow NH_4^+ + H_2BO_3^-\ (borate\ Ion)$$

د) المعايرة Titration

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:

(٤) $H_2BO_3^- \longrightarrow H_3BO_3$

تركيز أيون الهيدروجين (in moles) المطلوب للوصول إلى نقطة النهاية يكون مكافئة إلى تركيز النيتروجين الموجود في عينة الغذاء الأصلية (معادلة ٣). المعادلة التالية يمكن أن تستعمل لتقدير تركيز النيتروجين في عينة تزن (m) جرامات مستعملاً محلول حامض XM HCl للمعايرة:

(٥) $\%N = (x \text{ moles}/1000cm^3) \times [(v_s - v_b)\ cm^3/mg] \times (14 \text{ g/moles}) \times 100$

حيث (v_s) و (v_b) 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 (reagents) لإجراء التحليل. عندما يقدر محتوى النيتروجين فإنه يحول إلى محتوى البروتين باستعمال معامل التحويل الملائم:

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

هـ) معامل التحويل

يتراوح محتوى بروتين الأغذية من النيتروجين ما بين ١٣,٤ إلى ١٩,١٪ لكن يفترض عادة أن مخلوط البروتين النقي يحتوي على ١٦٪ نيتروجين، ولذلك يقدر عادة محتوى العينة من البروتين بضرب نسبة النيتروجين في معامل ١٠٠÷١٦= ٦,٢٥. وبطبيعة الحال (وكما أسلفنا من قبل) يختلف تركيز النيتروجين في البروتينات المختلفة وبالتالي تتباين معاملات تحويل النيتروجين إلى بروتين:

الغذاء	٪النيتروجين في البروتين	المعامل
البيض أو اللحم	١٦,٠٠	٦,٢٥
الحليب	١٥,٧٠	٦,٣٨
القمح	١٨,٧٦	٥,٣٣
الذرة	١٧,٧٠	٥,٦٥
الشوفان	١٨,٦٦	٥,٣٦
فول الصويا	١٨,٢٢	٥,٥٢
الأرز	١٩,٣٤	٥,١٧

و) المميزات والعيوب Advantages and Disadvantages

المميزات Advantages: طريقة كلداهل كثيرة الاستعمال عالمياً وما زالت الطريقة القياسية لمقارنة كل الطرق الأخرى. عالميته universality، دقتها العالية high precision وقابليتها للإعادة الجيدة good reproducibility جعلتها الطريقة الرئيسية لتقدير البروتين في الأغذية.

العيوب Disadvantages: لا تعطي مقياس للبروتين الحقيقي، لأنه ليس كل النيتروجين في الأغذية على شكل بروتين. البروتينات المختلفة تحتاج إلى معاملات تصحيح مختلفة لأن لديها اختلاف في الأحماض الأمينية المتتابعة. استعمال حامض الكبريتيك المركز عند درجات الحرارة العالية يسبب خطر كبير، كما أن استعمال بعض المحفزات المحتملة قد يسبب خطر. تحتاج الطريقة إلى وقت للتنفيذ.

(٩,٣,٢) طريقة دوماس المحسنة Enhanced Dumas Method

مؤخراً، طورت تقنية الآلة الذاتية (الأتوماتيكية) والتي تكون قادرة على القياس السريع لتركيز البروتين في عينات الغذاء. هذه التقنية مستندة على طريقة

وصفت أولاً من قبل عالم يدعى دوماس منذ قرن ونصف مضى. بدأت هذه الطريقة تتنافس مع طريقة كلداهل كالطريقة القياسية لتحليل البروتينات في بعض المواد الغذائية بسبب سرعتها rapidness .

أ) المبادئ الرئيسية General Principles

تحرق عينة معلومة الكتلة في وحدة عند درجة حرارة عالية (حوالي ٩٠٠°م) 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) (-9.59%N). 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.

ب) المميزات والعيوب Advantages and Disadvantages

المميزات: (أ) أسرع بكثير من طريقة كلداهل (أقل من ٤ دقائق لكل قياس، مقارنة مع ١-٣ ساعات لكلداهل). (ب) ليست بحاجة إلى مواد كيماوية أو محفزات سامة. (ج) العديد من العينات يمكن أن تقاس آلياً. (د) سهلة الاستعمال.

العيوب: (أ) التكلفة الأولية العالية. (ب) لا تعطي مقياس للبروتين الحقيقي، لأنه ليس كل النيتروجين في الأغذية على شكل بروتين. (ج) البروتينات المختلفة تحتاج إلى

معاملات تصحيح مختلفة لأن لديها اختلاف في الأحماض الأمينية المتتابعة. (د) صعوبة الحصول على عينة فى حالة الحجم الصغير للعينة.

(٩,٣,٣) 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 الإلكترومغناطيسي (electromagnetic spectrum)، 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 absorbance أو (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 .

هناك عدد من طرق الطيف المرئي – فوق البنفسجي UV-visible شائعة الاستعمال لتقدير محتوى البروتين مثل:

(٩,٣,٤) القياس المباشر عند موجة ضوئية طولها ٢٨٠ نانومتر

Direct measurement at (280 nm)

يمتص التربتوفان والثيروسين الضوء فوق البنفسجي عند طول موجي ٢٨٠ نانومتر. محتوى التربتوفان والثيروسين للعديد من البروتينات يبقى ثابتاً، ولذا فإن الامتصاص لمحاليل البروتين عند ٢٨٠ نانومتر يمكن أن يستعمل لتقدير تركيزها.

مزايا هذه الطريقة أن العملية سهلة التنفيذ وغير متلفة للعينة، ولا تتطلب مذيبات خاصة. لكن العيب الرئيسي هو أن الأحماض النووية nucleic acids تمتص أيضاً عند ٢٨٠ نانومتر لذا يمكن أن تتداخل مع البروتين وخاصة إذا وجد بتركيزات كافية. إلا أنه قد طورت الطريقة للتغلب على هذه المشكلة، بواسطة قياس الامتصاص عند طولين موجبين مختلفين.

(٩,٣,٥) 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 ١٥-٣٠ دقيقة قبل أن يقرأ الامتصاص عند ٥٤٠ 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.

(٩,٣,٦) طريقة لوري Lowry Method

تجمع طريقة لوري 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 ٥٠٠-٧٠٠ نانومتر اعتماداً على الحساسية المطلوبة. هناك قمة peak صغيرة عند حوالي ٥٠٠ نانومتر يمكن أن تستعمل لتقدير تركيزات البروتين العالية وقمة كبيرة عند حوالي ٧٥٠ نانومتر يمكن أن تستعمل لتقدير

تركيزات البروتين المنخفضة. هذه الطريقة أكثر حساسية إلى التركيزات المنخفضة من البروتينات من طريقة بيوريت.

(٩,٣,٧) طرق الارتباط بالصبغة Dye binding methods

تضاف كمية زائدة معلومة من صبغة تحمل شحنة سالبة anionic إلى محلول بروتيني ورقمه الهيدروجيني pH معدل لكي يكون ذو شحنة موجبة (وبمعنى آخر أقل من نقطة التعادل الكهربائي the isoelectric point). تشكل البروتينات مركباً عديم الذوبان مع الصبغة بسبب التجاذب الكهروستاتيكي بين الجزيئات، لكن الصبغة غير المرتبطة تبقى ذائبة. ترتبط الصبغة السالبة anionic dye مع المجموعات الموجبة cationic groups لبقايا الأحماض الأمينية القاعدية (آرجنين، هستدين وليسين) ومع مجموعات الأمين الحرة الطرفية. كمية الصبغة غير المرتبطة المتبقية في المحلول بعد إزالة معقد البروتين – الصبغة غير الذائبة تزال بواسطة الطرد المركزي وتقدر بقياس امتصاصها. كمية البروتين الموجودة في المحلول الأصلي تتناسب مع كمية الصبغة المرتبطة معه: ($dye_{bound} = dye_{initial} - dye_{free}$).

(٩,٣,٨) 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.

أ) المميزات والعيوب Advantages and Disadvantages

المميزات: تقنيات الطيف المرئي – فوق البنفسجي سريعة وبسيطة جداً للتنفيذ، وحساسة للتركيزات المنخفضة من البروتينات.

العيوب: تقنيات الطيف المرئي – فوق البنفسجي من الضروري استعمال محاليل مخففة وشفافة، والتي لا تحتوي على مركبات ملونة والتي تمتص أو تبعثر الضوء عند نفس طول موجة البروتين تحت التحليل. تعني الحاجة إلى محاليل شفافة. إن أكثر الأغذية يجب أن تمر بكميات هامة من تجهيز العينة قبل أن يتم تحليلها، مثال: التجانس homogenization، الاستخلاص بالمذيب solvent extraction، الطرد المركزي centrifugation، الترشيح filtration، والتي يمكن أن تستغرق وقتاً طويلاً. بالإضافة، فإنه من الصعب أحياناً استخلاص البروتينات بشكل كمي من بعض أنواع محددة من الأغذية، خصوصاً بعد إجراء معاملة أو معالجة لكي تصبح البروتينات متجمعة أو مرتبطة بشكل تساهمي بمواد أخرى. بالإضافة، الامتصاص يعتمد على نوع البروتين المحلل (البروتينات المختلفة لها أحماض أمينية متتابعة مختلفة).

(٩,٣,٩) التقنيات الآلية الأخرى Other Instrumental Techniques

هناك أنواع واسعة من الطرق الآلية المختلفة متوفرة لتقدير محتوى البروتين الكلي في مواد الغذاء. هذه يمكن أن تقسم إلى ثلاثة أصناف مختلفة طبقاً لمبادئ خواصهم الفيزوكيميائية physiochemical: (١) مقياس الخواص الطبيعية الكلية، (٢) مقياس ادمصاص الأشعة، (٣) مقياس تبعثر الأشعة. كل طريقة آلية لها مزاياها وعيوبها، ومدى من الأغذية التي يمكن أن تطبق عليها.

أ) المبادئ Principles

١ – مقياس الخواص الطبيعية الكلية Measurement of Bulk Physical Properties

الكثافة Density: إن كثافة البروتين أكبر من معظم مكونات الغذاء الأخرى، ولذا فإن هناك زيادة في كثافة الغذاء كلما زاد محتواها من البروتين. وهكذا فإن محتوى البروتين للأغذية يمكن أن يقدر بواسطة قياس كثافتها.

معامل الانكسار Refraction Index: إن معامل الانكسار لمحلول مائي يزيد كلما زاد تركيز البروتين ولذا يمكن استعمال قياسات RI لتقدير محتوى البروتين.

٢- مقياس الأشعة المتصة Measurement of Adsorption of Radiation

المرئي – فوق البنفسجي UV-visible: تركيز البروتينات يمكن أن يقدر بوساطة قياس الامتصاص للأشعة فوق البنفسجية – المرئية (كما في السابق).

الأشعة تحت الحمراء Infrared: تقنيات الأشعة تحت الحمراء يمكن أن تستعمل لتقدير تركيز البروتينات في عينات الغذاء. تمتص البروتينات الأشعة IR طبيعياً بسبب خاصة الاهتزازات (امتداد وانحناء) بعض المجموعات الكيميائية على طول العمود الفقري للببتيد المتعدد polypeptide. قياسات امتصاص الأشعة عند أطوال موجات محددة يمكن أن تستعمل لتحديد تركيز البروتين في العينة، الأشعة IR مفيدة جداً للتحليل السريع on-line لمحتوى البروتين. يتطلب أيضاً تجهيز قليل للعينة وغير متلف للعينة. عيبها الرئيسي كلفتها الأولية العالية والحاجة إلى تعيير (معايرة) مطولة.

الرنين المغناطيسي النووي Nuclear Magnetic Resonance (NMR): يمكن استعمال spectroscopy (NMR) لتقدير تركيز البروتين الكلي في الأغذية. يحدد محتوى البروتين بواسطة قياس المنطقة تحت قمة peak في تغيير أطياف NMR الكيميائية والتي تقابل جزء البروتين.

٣- مقياس تبعثر الأشعة Measurement of Scattering of Radiation

تبعثر الضوء Light scattering: تركيز تجمعات البروتين في محلول مائي يمكن أن يقدر باستعمال تقنيات تبعثر الضوء لأن عكارة المحلول تتناسب مباشرة مع تركيز التجمعات الموجودة.

التبعثر فوق الصوتي Ultrasonic scattering: تركيز مجمعات البروتين يمكن أيضاً أن يقدر باستعمال تقنيات التبعثر فوق الصوتي لأن سرعة الأشعة فوق الصوتية وامتصاص الأشعة فوق السمعية تتعلقان بتركيز تجمعات البروتين الموجودة.

ب) المميزات والعيوب Advantages and Disadvantages

عدد من هذه الطرق الآلية لها مزايا رئيسية على التقنيات الأخرى المذكورة سابقاً لأنها غير متلفة للعينة، تتطلب تجهيزاً قليلاً للعينة أو لا تتطلب، والقياسات سريعة ودقيقة. العيب الرئيسي لهذه التقنيات والذي يعتمد على مقياس الخواص الطبيعية الكلية Bulk Physical Properties للأغذية هو أن منحنى المعايرة يجب أن يعد بين الخواص الطبيعية ذات الاهتمام ومحتوى البروتين الكلي، وهذا قد يعتمد على نوع البروتين الموجود ونظام مصفوفة الغذاء الموجود ضمنه. بالإضافة، التقنيات المعتمدة على قياسات الخواص الفيزيوكيميائية الكلية يمكن فقط أن تستعمل لتحليل الأغذية ذات التراكيب البسيطة نسبياً. في الغذاء الذي يحتوي العديد من المكونات المختلفة والتي تركيزها قد تتفاوت، من الصعب التمييز بين المساهمة من البروتين إلى القياس الكلي من المساهمة من المكونات الأخرى.

(٩,٣,١٠) مقارنة الطرق Comparison of Methods

كيف نقرر أي تقنية أكثر ملائمة لتطبيقاتنا العملية؟ أول شيء لابد من تحديد بماذا سوف تستخدم هذه النتائج، وهل التحليل لأغراض رسمية أم لا؟

فمثلاً لأغراض مراقبة الجودة، في أغلب الأحيان من المهم أن يكون لديك مقاييس سريعة وبسيطة لمحتوى البروتين ولذا فإن تقنيات IR مناسبة جداً لهذا الغرض. أما للدراسات الأساسية (البحثية) في المختبر، حيث تحلل في أغلب الأحيان البروتينات النقية، فإن تقنيات الطيف المرئي – فوق البنفسجي تفضل في أغلب

الأحيان لأنها تعطي مقاييس سريعة وموثوقة reliable، وحساسة إلى التركيزات المنخفضة من البروتين.

العوامل الأخرى والتي يمكن أن تؤخذ في الحسبان هي مقدار التجهيز المطلوب للعينة وحساسيتها وسرعتها. فمثلاً تتطلب طرق كلداهل ودوماس و IR تجهيزاً قليلاً جداً للعينة. إذ أنه بعد اختبار عينة ممثلة للغذاء يمكن أن تختبر مباشرة. من الناحية الأخرى، تتطلب طرق المرئي – فوق البنفسجي المختلفة تجهيزاً أطول للعينة قبل التحليل. إذ يجب أن يستخلص البروتين من الغذاء على هيئة محلول شفاف، والذي يتضمن عادة عمليات التجنيس homogenization (الذي يتطلب وقتا طويلا)، ثم الاستخلاص بالمذيب والترشيح والطرد المركزي. بالإضافة، قد يكون من الصعب عزل بعض البروتينات بالكامل من الأغذية حيث أنها مرتبطة بقوة مع مكونات أخرى. الحساسية كذلك تختلف ن تقنية إلى أخرى، بمعنى آخر: التركيز الأقل من البروتين الذي يمكن أن تكتشفه طرق المرئي – فوق البنفسجي أكثر حساسية، حيث إنها قادرة على اكتشاف تركيزات البروتين المنخفضة حتى ٠,٠٠١ وزن٪. بينما حساسية طرق كلداهل، ودوماس و IR حوالي تقريباً ٠,١ وزن٪. الوقت اللازم لكل تحليل وعدد العينات الذي يمكن أن تحلل في نفس الوقت عوامل مهمة لابد أن تؤخذ في الاعتبار عند اختيار أي تقنية تحليلية. فتقنيات IR قادرة على التحليل السريع (أقل من دقيقة) لتركيز البروتين عندما يتم معايرة الطريقة. الأجهزة الحديثة لطريقة دوماس أتوماتيكية بالكامل fully automated ويمكن أن تقيس تركيز البروتين للعينة في أقل من ٥ دقائق، مقارنة مع طريقة كلداهل والتي تأخذ ما بين ٣٠ دقيقة وساعتين للتنفيذ. العوامل الأخرى التي قد تكون مهمة عند اختبار التقنية المناسبة هي: توفر الأجهزة، سهولة العملية، الدقة المطلوبة، التقنية متلفة أو غير متلفة للعينة.

(٩,٤) فصل وتمثيل البروتين Protein Separation and Characterization

في السابق تم مناقشة التقنيات المستعملة لتقدير التركيز الكلي للبروتين في الغذاء. محللو الغذاء يهتمون أيضاً بنوع البروتين الموجود في الغذاء لأن لكل بروتين خواص (صفات) تغذوية nutritional وفيزوكيميائية فريدة. نوع البروتين يحدد عادة بواسطة فصل وعزل البروتينات الفردية من خليط معقد من البروتينات لكي يمكن لاحقاً أن يعرفوا ويميزوا . تفصل البروتينات على أساس الاختلافات في خواصها الفيزوكيميائية، 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 .

المعلومات الأولية حول تأثيرات الظروف البيئية على تركيب وتفاعلات البروتين مفيدة جداً عند اختيار تقنية الفصل الأكثر ملائمة. أولاً، لأنها تساعد على تحديد الظروف الأكثر ملائمة للاستعمال لعزل بروتين معين من خليط البروتينات (مثال: الرقم الهيدروجيني pH، القوة الأيونية Ionic strength، المذيب Solvent، درجة الحرارة ... الخ). وثانياً، لأنها قد تكون مهمة لاختيار الظروف التي سوف لن تؤثر عكسياً على التركيب الجزيئي للبروتينات.

(٩,٥) طرق تعتمد على صفات القابلية للذوبان المختلفة

Methods Based on Different Solubility Characteristics

يمكن أن نفصل البروتينات باستغلال الاختلافات في قابلية ذوبانها في المحاليل المائية. إن قابلية ذوبان جزيء البروتين محدد بواسطة تتابع أحماضه الأمينية لأن هذا يحدد حجمه، شكله، كراهيته للماء hydrophobicity، وشحنته الكهربائية electrical charge أو درجة الحرارة للمحلول. تقنيات الفصل هذه هي الأكثر سهولة للاستعمال عندما يكون هناك كميات كبيرة من العينة، لأنها نسبياً سريعة، رخيصة ولا تتأثر بمكونات الغذاء الأخرى. تستعمل هذه التقنيات في الغالب كخطوة أولى في أي عملية فصل لأن أغلبية المواد الغريبة يمكن أن تزال بسهولة.

(٩,٦) 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 و من الشائع استعمال كبريتات الأمونيوم $(NH_4)_2SO_4$ لأن لها قابلية ذوبان عالية في الماء، ويمكن استعمال الأملاح الأخرى، مثل: NaCl أو KCl. وهناك إجراء من خطوتين لزيادة 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 لترسب البروتين. وهذا يؤدي إلى ترسيب البروتين المختبر (والذي يمكن أن يفصل بواسطة عملية الطرد المركزي). المشكلة الرئيسية لهذه الطريقة هي أن التركيزات الكبيرة من الملح تلوث المحلول، والتي يجب أن تزال قبل إجراء عملية الإذابة مرة أخرى resolubized بواسطة عملية dialysis أو ultrafiltration.

(٩,٧) الترسيب عند نقطة التعادل الكهربائي Isoelectric Precipitation

نقطة التعادل الكهربائي isoelectric point (IP) للبروتين هي الرقم الهيدروجيني والتي يتكون عندها الشحنة الصافية على البروتين صفر. تعمل البروتينات إلى التجمع والترسيب عند IP لها لأنه ليس هناك نفور كهربائي ساكن electrostatic repulsion يفصلهم عن بعض. البروتينات لها نقاط تعادل كهربائي مختلفة بسبب الاختلاف في تتابع أحماضه الأمينية (بمعنى آخر: الأعداد النسبية لمجموعات anionic ومجموعات cationic)، ولهذا يمكن فصلهم (البروتينات) عن طريق تعديل الرقم الهيدروجيني للمحلول. عندما تعدل pH إلى IP لبروتين معين فإن ترسيبه يترك البروتينات الأخرى في المحلول.

(٩,٨) 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 أن 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 ٥ إلى ٦٠٪. 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.

(٩,٩) الدنترة بالبروتينات الملوثة Denaturation of Contaminating Proteins

العديد من البروتينات يحدث لها دنترة وتترسب من المحلول عندما تسخن فوق درجة حرارة محددة أو بتعديل المحلول إلى رقم هيدروجين حامض أو قلوي عالي. البروتينات الثابتة (المستقرة) عند درجة الحرارة العالية أو عند نهايات الرقم الهيدروجيني تفصل بسهولة جيداً بهذه التقنية لأن البروتينات الملوثة يمكن أن ترسب بينما البروتين المختبر يبقى في المحلول.

(٩,١٠) الفصل بسبب خصائص الادمصاص المختلفة
Separation due to different Adsorption Characteristics

تتضمن كروماتوجرافي الادمصاص فصل المركبات بواسطة عملية الارتباط-الانفصال الاختياري (الانتقائي) selective adsorption desorption على سطح مادة صلبة solid matrix والذي يوجد في عمود حيث يمرر الخليط خلاله. تعتمد عملية الفصل على الألفة (التجاذب) affinities المختلفة للبروتينات المختلفة للسطح الصلب. كروماتوجرافيا الالفة والتبادل الأيوني affinity and ion-exchange chromatography نوعان رئيسيان في كروماتوجرافي الادمصاص adsorption chromtography شائعة الاستعمال لفصل البروتينات. يمكن أن تنفذ عملية الفصل باستعمال إما كروماتوجرافي العمود المفتوح أو كروماتوجرافي السائل ذات الضغط العالي high-pressure liquid chromatography (HPLC).

(٩,١١) تحليل الأحماض الأمينية Amino Acid Analysis

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: كروماتورجافيا التبادل الأيوني، كروماتورجافيا الألفة أو كروماتوجرافيا الامتصاص.

(٩,١١,١) 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 الحاملة للشحنات. ويطلق على المادة الصلبة الحاملة 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 وبعد ضبط رقم pH والقوة الأيونية للمحلول المنظم تحدث استجابة البروتين للمادة المدمصة. ثم تزاح البروتينات موضع الاختبار اختيارياً من عمود الفصل بتغيير 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.

(٩,١١,٢) كروماتوجرافيا الألفة Affinity Chromatography

كروماتوجرافيا الألفة هي أحد أنواع كروماتوجرافيا الادمصاص، وفيها يفصل البروتين بواسطة مادة صلبة حاملة تحتوي على مادة ارتباط تعاوني ligand covalently عبارة 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.

(٩,١٢) فصل البروتينات متباينة الأحجام Separation by Size

البروتين يمكن أيضاً أن يفصل طبقاً لحجمه حيث يتراوح الوزن الجزيئي للبروتينات من ١٠٠٠٠ 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.

(٩,١٢,١) 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 ١٢ ساعة. وتستعمل كثيراً في المختبر وهذه الطريقة في أغلب الأحيان تستعمل لإزالة الملح من محلول البروتين بعد عملية الفصل بالتمليح.

(٩,١٢,٢) 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 وحداته كل على حدة، وكذلك لتقديرات الأوزان الجزيئية للبروتينات.

(٩,١٢,٣) فصل البروتينات بالهجرة في المجال الكهربائي

Separation by Electrophoresis

يعرف الإلكتروفوريسيس بعملية هجرة الجزيئات المستخدمة في محلول باستخدام مجال كهربائي يحرك تلك الجزيئات.

أ) 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 bonds 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.

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 = ٨,٨، وكذلك محلول خلات كاتويني cationic acetate buffer عند pH = ٤,٣.

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.

وتستخدم عادة مادة جيل غير مستمر لتحسين سريان البروتين خلال هذا المخلوط المعقد. وتتكون مادة هذا الجيل من جل متكدس stacking gel له مسام كبيرة (عادة من ٣-٤٪ أكريلاميد) وجيل للسريان resolving gel ذي 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 = ٦,٨ بحيث 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 pH مختلفة 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 ٤-١٥٪ من الأكريلاميد.

ولأداء عملية الفصل، توضع البروتينات في المحلول المنظم عند رقم الـ pH المناسب 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 الإلكتروفوريسيس يتم إظهار مناطق (حزم) شقوق البروتينات على الجيل باستخدام صبغة مناسبة للبروتين كصبغة كوماسي الزرقاء اللامعة coomassie brilliant blue أو صبغة فضة silver stain. كما يمكن أيضاً استخدام صبغات إنزيمية متخصصة أو أجسام مضادة معينة للكشف عن نوع محدد من البروتين.

وبعد ذلك يتم حساب الحركة النسبية أو الإلكتروفوريتية (R_m) لكل حزمة بروتين انفصلت بهذا النظام كما يلي:

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

ب) 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 تندرج فيها قيم الـ pH باستخدام مركبات أمفوليتية ampholytes، ينتقل البروتين إلى منطقة يكون فيها pH مساوياً لنقطة التعادل الكهربائي وعندما تصل البروتينات

المتحركة على الجيل إلى الموضع الذي تتساوى فيه قيمة pH الجيل 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 نقاط تعادل كهربائية (Pl_e) تختلف عن بعضها البعض بمقدار قد يقل حتى عن ٠,٠٢ وحدة pH، لذا فإنه من الأفضل اختيار جيل مناسب للبروتين المراد فصله.

(٩,١٣) 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 أو كروماتوجرافيا الاستجابة affinity chromatography.

الفصل العاشر

التحليل الطيفي

Spectroscopy

(١٠,١) مقدمة

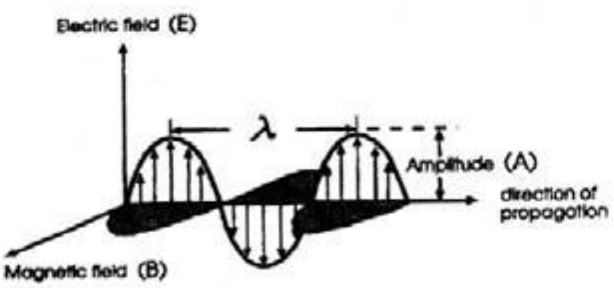
يبحث علم التحليل الطيفي في دراسة إنتاج وقياسات وتفسير الطيف Spectra الناتج عن التفاعل أو التداخل Interaction بين الأشعة الكهرومغناطيسية Electromagnetic Radiation وبين كل من ذرات المادة Atoms أو جزيئاتها Molecules. ويتوفر العديد من طرق التحليل الطيفي التي تمكن من حل مدى واسع من المشاكل التحليلية. وتختلف هذه الطرق فيما يتعلق بنوع المادة تحت التحليل (مثل التحليل الطيفي الجزيئي أو الذري) أو فيما يتعلق بنوع التداخل بين الأشعة والمادة (مثل الامتصاص أو الانبعاث أو الحيود) أو فيما يتعلق بنطاق الطيف الكهرومغناطيسي المستخدم. ويعطي التحليل الطيفي حقائق ومعلومات دقيقة عن المادة تحت التحليل ولذلك فهو يستخدم استخداماً واسعاً في التحليل الكيفي والكمي جميعاً. لذلك نجد أن طرق التحليل الطيفي التي تعتمد على امتصاص الأشعة أو انبعاثها في نطاق الأشعة فوق البنفسجية ومنطقة الطيف المنظور والأشعة تحت الحمراء وأشعة الراديو هي طرق اعتيادية في مختبرات تحليل الأغذية التقليدية. وكل واحدة من هذه الطرق متميزة في أنها تستطيع اختبار أنواع مختلفة من التحولات الجزيئية أو الذرية.

(١٠,٢) الضوء Light

(١٠,٢,١) خصائص الضوء Properties

يمكن اعتبار الضوء كجسيمات أو دقائق particles من الطاقة تتحرك في الفضاء على شكل موجات waves. وهذا المفهوم عن الضوء يوحي بأن الطاقة المرتبطة بشعاع من الضوء لا تنتشر في الفضاء على شكل متواصل في المجالين الكهربائي والمغناطيسي للموجة لكنها على الأرجح تتمركز في حزم ضوئية منفصلة، لذلك أطلق على الضوء أنه ثنائي الطبيعة: يحمل صفات الموجات والدقائق معاً، فنجد ظواهراً ترتبط بانتشار الضوء مثل التداخل والحيود والانكسار يمكن تفسيرها وفقاً لنظرية "الموجات" للأشعة الكهرومغناطيسية. ولكن من ناحية أخرى نجد أن تفاعل الضوء مع المادة والذي هو أساس التحليل الطيفي الامتصاصي والانبعاثي لا يمكن فهمه إلا بالرجوع إلى مفهوم "الدقائق" للضوء.

ويمكن التعبير عن الخصائص الموجية للأشعة الكهرومغناطيسية عن طريق تردد الموجة Wave's frequency، الطول الموجي wave length وسعة الموجة amplitude كما هو موضح في الشكل رقم (١٠,١).



الشكل رقم (١٠,١). رسم توضيحي للأشعة الكهرومغناطيسية المنتشرة على طول المحور السيني. المجالين الكهربائي والمغناطيسي يتعامدان مع بعضهما ومع اتجاه الانتشار

تكون الموجة مستقطبة استوائياً plane-polarized بمعنى أن المجالين الكهربائي والمغناطيسي اللذان يكونان الموجة كل واحد منهما متذبذب ومحدود بمستوى فردي. ويعرف تردد الموجة frequency – ويرمز له بحرف "ν" – بأنه عدد الذبذبات التي تحدثها الموجة عند نقطة معينة في كل ثانية. وهذا التعريف هو معكوس الفترة period "P" وهي الزمن بالثواني اللازم لمرور قمتين متتاليتين للموجة بنقطة ثابتة. أما الطول الموجي wavelength "λ" فيمثل المسافة بين قمتين متتاليتين للموجة. وتعتمد وحدات الطول الموجي على نطاق الأشعة الكهرومغناطيسية المستخدم في التحليل. وقد تسجل بيانات التحليل الطيفي أحياناً كوحدات الرقم الموجي "√" Wavenumbers والتي تمثل معكوس الطول الموجي ووحدتها هي "Cm^{-1}" ومعظم استخدامات الرقم الموجي هو التحليل الطيفي الذي يستخدم نطاق الموجات تحت الحمراء. ويمكن حساب سرعة انتشار الموجة الكهرومغناطيسية "v_I"، كوحدات مسافة في الثانية في أي وسط "I" وذلك بحاصل ضرب تردد الموجة المعينة، كدورة لكل ثانية في الطول الموجي في ذلك الوسط.

$$v_I = \nu\lambda_I \quad (١)$$

حيث:

v_I = سرعة الانتشار في الوسط I

ν = تردد الموجة

λ_I = الطول الموجي في الوسط I

ويحدد تردد الموجة الكهرومغناطيسية بواسطة مصدر الإشعاع ويبقى ثابتاً أثناء اجتياز الموجة أوساط مختلفة. بينما تختلف سرعة انتشار الموجة قليلاً اعتماداً على نوع الوسط الذي ينتشر عبره الضوء. ويتغير الطول الموجي للإشعاع بمقدار التغير في

سرعة انتشار الموجة كما تبينه المعادلة رقم (١). وتمثل سعة الموجة أو ارتفاعها Amplitude "A" تمثل مقدار المتجه الكهربائي electric vector عند قمة الموجة. إن قدرة الإشعاع Radiant Power "P" وشدة الإشعاع Radiant Intensity "I" لأي حزمة ضوء ليتناسبان مع تربيع سعة الموجات التي تؤلف ذلك الإشعاع. يوضح الشكل رقم (١٠,٢) بأن الموجات الكهرومغناطيسية تتألف من مجالات كهربائية ومغناطيسية متذبذبة، وهي متعامدة تبادلياً مع بعضها البعض ومتوافقة الأطوار مع بعضها كما أنها متعامدة مع اتجاه انتشار الموجة. وكما هو واضح في الشكل فإن الموجات تمثل التغيرات في قوى المجال الخاصة مع الزمن عند موقع محدد أو التغيرات في قوى المجال الخاصة على طول مسافة معينة عند زمن محدد. ويمثل المكونان الكهربائي والمغناطيسي للموجة كسلسلة من المتجهات والتي تكون أطوالها مناسبة مع حجم المجال المعين. ومن الجدير بالذكر أن المكون الكهربائي هو الذي يكون فعالاً فقط في تفاعلات تحول الطاقة مع المادة وهذا المجال الكهربائي المتذبذب هو المهم في ظاهرة التحليل الطيفي مثل الامتصاص والنفاذية وانكسار الضوء ولكنه من المستحيل وجود مجال كهربائي بدون رفيقه المجال المغناطيسي.

وكما ذكرنا من قبل فإن ظاهرة مثل امتصاص الضوء أو انبعاثه لا يمكن فهمها إلا بالرجوع إلى المفهوم الدقائقي للضوء Particulate Nature of Light. إن دقائق الطاقة التي تتحرك عبر الفضاء بخصائصها الموجية تسمى الفوتونات photons. هذه الفوتونات تحتوي على كمية محدودة من الطاقة وتسير بسرعة الضوء وعلى أطوال موجية مختلفة. ويمكن التعبير عن طاقة الفوتون عن طريق معرفة تردد الأشعة frequency "ν" والذي يمثل عدد الدورات الكاملة المارة بنقطة معينة في الثانية الواحدة (هيرتز H_z) والمعادلة رقم (٢) توضح تلك العلاقة:

$$E = h\nu \qquad (٢)$$

حيث:

E = طاقة الفوتون

h = ثابت بلانك (ويساوي 6.62×10^{-27} erg/s

ν = تردد الموجة

كما أن:

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \qquad (٢,١)$$

حيث إن:

C = سرعة الضوء و تساوى 2.98×10^{10} cm/s

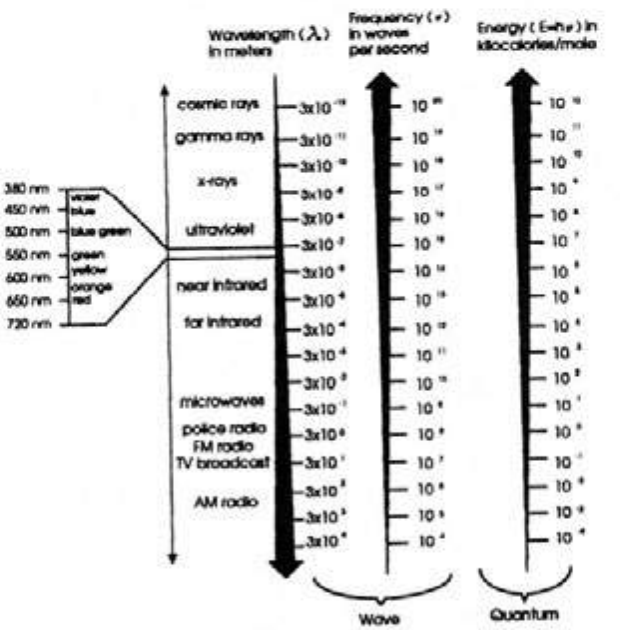
وبالتعويض في المعادلة رقم (٢) من المعادلة (٢,١) نحصل على:

$$\nu = h\frac{c}{\lambda} \qquad (٢,٢)$$

ويتضح من هذه الصيغ أنه كلما قصر طول موجة الأشعة كلما زادت طاقتها وزاد ترددها بمعنى أن طول الموجة يتناسب عكسياً مع الطاقة والتردد.

وتشير هذه العلاقة إلى أن الفوتونات والتي تكون الضوء آحادي اللون monochromatic light وهو أشعة كهرومغناطيسية يتألف من موجات لها تردد واحد وطول موجي واحد، كل هذه الفوتونات لها طاقة متكافئة. وكما أن تردد الموجة ثابت فإن طاقة الفوتون المرافقة لها أيضاً لا تتغير. إن درجة سطوع حزمة من الأشعة أحادية اللون، عندما نعبر عنها بواسطة الطبيعة الدقائقية للضوء، ستكون حاصل ضرب تدفق الفوتونات والطاقة للفوتون الواحد. ونقصد بتدفق الفوتونات عدد الفوتونات التي تتدفق عبر وحدة مساحة متعامدة مع حزمة الأشعة لكل وحدة زمنية. ويلزم من

هذا أنه إذا أردت تغيير تدفق حزمة ضوء آحادي اللون فسوف تحتاج لتغيير في تدفق الفوتونات. وفي التحليل الطيفي عادة لا يستخدم مصطلح السطوع Brightness ولكن يستخدم مصطلح "القدرة الإشعاعية "P" Radiant Power" أو مصطلح "شدة الإشعاع "I" Radiant Intensity" لحزمة الضوء. ويستعمل هذا المصطلحان مترادفين عندما يشار إلى كمية الطاقة الإشعاعية ترتطم بمساحة معينة في وحدة زمنية. وفي وحدات النظام العالمي للمقاييس SI units فإن القدرة الإشعاعية تساوي عدد جولات الطاقة الإشعاعية التي ترتطم على مساحة قدرها متر مربع واحد من الكاشف Detector في كل ثانية. ويوضح الجدول رقم (١٠,١) الذي يتبعه فيبين المخطط العام للطيف الكهرومغناطيسي.



الشكل رقم (١٠,٢). الطيف الكهرومغناطيسي

جدول رقم (١٠,١). خصائص الضوء.

الرمز/ المصطلح	العلاقة	الوحدات المستخدمة
λ= الطول الموجي	$\lambda\nu = C$	nm (نانومتر، $١٠^{-٩}$ متر)
		A° (انقوستروم، $١٠^{-١٠}$ متر)
		μM (ميكرون، $١٠^{-٦}$ متر)
		mμ (مليمكرون، $١٠^{-٩}$ متر)
ν = التردد		H_3 (هيرتز، ١هيرتز=ذبذبة واحدة لكل ثانية) $ث^{-١}$
C = سرعة الضوء		٢.٩٩٧٩×١٠^{٨} متر في الثانية (في الفراغ)
$\bar{\upsilon}$ = الرقم الموجي	$\bar{\upsilon} = \frac{1}{\lambda}$	cm^{-1}
P = الفترة	$P = \frac{1}{\lambda}$	ثانية
E = الطاقة	$E = h\upsilon$	جول (١جول = ١كجم $م^{٢}$ $ث^{-٢}$)
	$= \frac{hc}{\lambda}$	كالوري (١كال = ٤.١٨٤ جول)
	$= hc\,\bar{\upsilon}$	إرج (١إرج = $١٠^{-٧}$ جول)
		cv (١cv = ١.٦٠٢٢×١٠^{-١٩} جول)
ا = ثابت بلانك		٦.٦٢٦٢×١٠^{-٢٧} ث
P = قوة الإشعاع		جول $(م^{٢})^{-١}$ $(ث)^{-١}$

(١٠,٣) حالات الطاقة للمادة

(١٠,٣,١) الطبيعة الكمية للمادة

توجد الطاقة في شكل مضاعفات لكمٍّ ثابت، وبالتالي فإن محتوى الطاقة الكامنة أو الداخلية للذرة أو الجزيء لا يتغير في شكل مستمر ولكن في سلسلة من المراحل المتفرقة. وفي الحالات العادية توجد الذرات والجزيئات في الغالب في الحالة

المستقرة Ground state وهي الحالة ذات محتوى الطاقة الأدنى. وتستطيع ذرات وجزيئات الحالة المستقرة اكتساب طاقة وفي هذه الحالة يتم تصعيدها إلى مستويات طاقة أعلى تعرف بحالات الإثارة Excited states. إن الطبيعة الكمية Quantum nature للذرات والجزيئات تفرض حدوداً على مستويات الطاقة المتاحة لتلك الأنواع. وبالتالي تكون هناك مستويات طاقة داخلية مسموح بها تحديداً لكل ذرة أو جزيء. ومستويات الطاقة الداخلية التي لا تماثل القيم المسموح بها للذرة أو الجزيء المعين لا يمكن تحقيقها. ومجموعة مستويات الطاقة المسموح بها لأي ذرة أو جزيء تكون مميزة لتلك الذرة أو الجزيء بالتحديد. أيضاً فإن المسافات البينية بين مستويات الطاقة الكامنة المسموح بها تكون مميزة لذلك النوع المعين من الذرات أو الجزيئات. لذلك فإن مجموعة المسافات البينية بين مستويات الطاقة الكامنة لأي ذرة أو جزيء قد تكون بمثابة بصمة الأصابع المميزة النوعي في التحليل الكيفي أو النوعي Quantitative. ويستفيد التحليل الطيفي النوعي في حالة الامتصاص أو الانبعاث من هذه الظاهرة وذلك لأن هذه التقنيات تقدر المسافات البينية للطاقة لأي مركب مجهول بقياس الانتقالات بين مستويات الطاقة المسموح بها.

(١٠,٤) مستويات الطاقة الإلكترونية والاهتزازية والدورانية

Electronic, Vibrational and Rotational Energy Levels

إن الطاقة الكامنة النسبية لأي ذرة أو جزيء لتقابل الفرق في الطاقة بين حالة الطاقة التي تتواجد فيها الذرة أو الجزيء وبين طاقة الحالة المستقرة لتلك الذرة أو الجزيء. ويوضح الشكل رقم (١٠,٣) مستويات الطاقة الكامنة لجزيء عضوي. في هذا الشكل تمثل أدنى حالات الطاقة، خط القاعدة، تمثل الحالة المستقرة. وموضح في الشكل أيضاً ثلاثة حالات للطاقة الإلكترونية مع ما يقابلها من مستويات الطاقة

الاهتزازية والطاقة الدورانية. وكل واحدة من هذه الحالات الإلكترونية تتطابق مع مدار إلكتروني محدد. والإلكترونات التي توجد في مدارات مختلفة تكون لها طاقة كامنة مختلفة. وعندما يغير الإلكترون المدار الذي يوجد فيه، حين يمتص أو يفقد فوتوناً من الطاقة، تسمى هذه الحالة بحالة انتقال إلكترونية Electronic transition لأن الإلكترون هو الذي يغير من مستوى طاقة إلى آخر. ولكن أي تغيير يحصل في طاقة الإلكترون الكافية يؤدي بالضرورة إلى تغيير مقابل في الطاقة الكامنة للذرة أو الجزيء الذي يرتبط به.

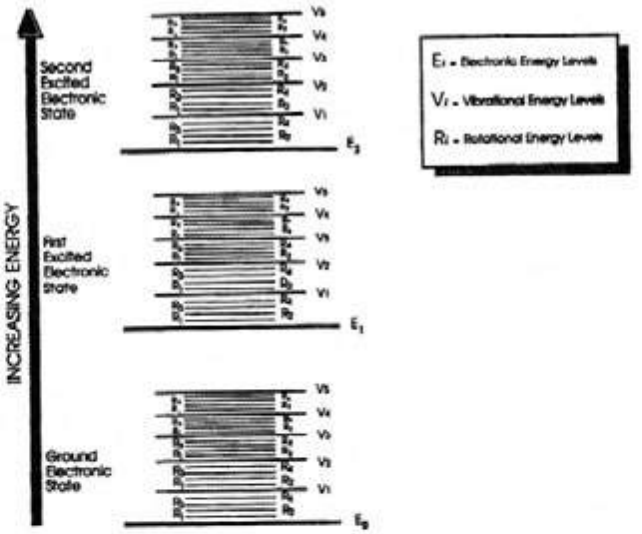
والشكل التالي يوضح مستويات الطاقة الجزيئية، توضح ثلاث حالات إلكترونية

من E_0 إلى E_2 = انتقالات الطاقة الإلكترونية

من V_1 إلى V_5 = تغيرات الطاقة الاهتزازية

من R_1 إلى R_4 = تغيرات الطاقة الدورانية (اقتصر الرسم على المستوى المستقر فقط)

وتتشابه الذرات مع الجزيئات في أن هناك مستويات طاقة محددة مسموح بها لإلكترونيات الذرة. وبالتالي فإن شكل مستويات الطاقة سوف يحتوي أيضاً على سلسلة من مستويات الطاقة الإلكترونية. ولكن بخلاف الجزيء فإن مستويات الطاقة الإلكترونية للذرة لا يوجد فيها مستويات طاقة اهتزازية أو مستويات طاقة دورانية مقابلة، لذلك تبدو أقل تعقيداً من شكل مستويات الطاقة في الجزيء. وتتوافق مستويات طاقة الذرة مع مدارات الإلكترونات المسموح بها ومع المدارات الفرعية المقابلة (1s, 2s, 2p, etc). إن مقدار الفرق في الطاقة بين الحالة المستقرة وحالة الإثارة الأولى لإلكترونيات التكافؤ في الذرات وإلكترونات الربط bonding electrons في الجزيئات يكون في نفس المدى لمحتوى طاقة الفوتونات المرتبطة بالأشعة فوق البنفسجية UV والأشعة المرئية Vis.



الشكل رقم (١٠,٣). مستويات الطاقة الجزيئية، توضح ثلاث حالات إلكترونية

من E_0 إلى E_2 = انتقالات الطاقة الإلكترونية

من V_1 إلى V_5 = تغيرات الطاقة الاهتزازية

من R_1 إلى R_2 = تغيرات الطاقة الدورانية

توضح الخطوط العريضة الموجودة ضمن كل حالة إلكترونية في الشكل رقم (١٠,٣). توضح مستويات الطاقة الاهتزازية للجزيء. إن الذرات التي تكون الجزيء في حركة دائمة وتهتز في اتجاهات كثيرة. ولكن في كل حالة فإن الطاقة المرتبطة بهذه الحركة الاهتزازية تكون في شكل مضاعفات لكمٍّ معين quantized. وأيضاً فإن الفروقات بين مستويات الطاقة الاهتزازية المجاورة أصغر بكثير من الفروقات بين مستويات الطاقة الإلكترونية المجاورة. لذلك فمن المعتقد اعتبار أن عدة مستويات طاقة اهتزازية تكون متراكبة على أحد مستويات الطاقة الإلكترونية. وفروقات الطاقة بين مستويات الطاقة الاهتزازية المسموح بها هي في نفس مقدار طاقة الفوتونات المرتبطة بنطاق الأشعة تحت الحمراء (IR). إن الطاقة الكامنة للجزيء تكون أيضاً في

شكل مضاعفات الكم quantized فيما يختص بدوران الجزيء حول مركز الثقل فيه centre of gravity ولكن مستويات الطاقة الدورانية تصغر المسافات البينية بينها أكثر من مسافات مستويات الطاقة الاهتزازية بكثير كما توضحه الخطوط الضيقة التي تكون ضمن مستويات الطاقة الإلكترونية كما في الشكل رقم (١٠,٣). لذلك من العادة اعتبار أن عدة مستويات طاقة دورانية تكون متراكبة على أحد مستويات الطاقة الاهتزازية. وفروقات الطاقة بين مستويات الطاقة الدورانية المسموح بها هي في نفس مدى طاقة الفوتونات المرتبطة بنطاق الأشعة الدقيقة microwave. إن التحليل الطيفي لأشعة الميكروويف لا يستخدم كثيراً في مجال الأغذية، كما أن مستويات الطاقة الدورانية ليست ذات أهمية في التحليل الطيفي الذري.

وإجمالاً، فإن الطاقة الداخلية للذرة يمكن التعبير عنها بواسطة مستويات الطاقة الإلكترونية بينما يعبر عن الطاقة الداخلية للجزيء باعتمادها على طاقتها الإلكترونية والاهتزازية والدورانية ويمكن إيضاح ذلك جبرياً كالآتي:

$$E_{atom} = E_{electronic} \quad (٣)$$

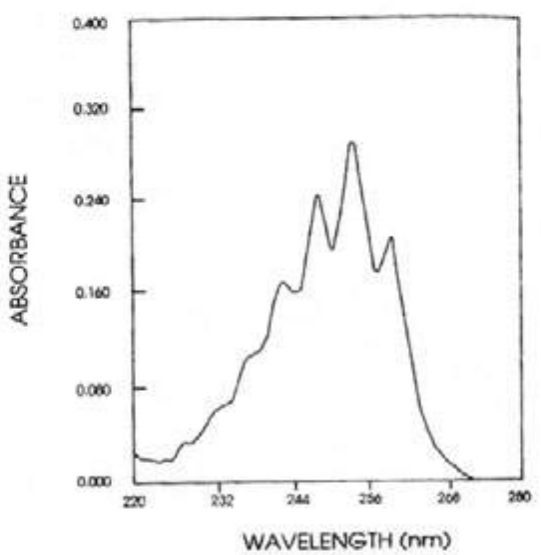
$$E_{molecule} = E_{electronic} + E_{vibrational} + E_{rotational} \quad (٤)$$

(١٠,٥) انتقالات مستويات الطاقة في التحليل الطيفي Energy Level Transitions

(١٠,٥,١) امتصاص الأشعة Absorption of Radiation

إن عملية امتصاص الأشعة بواسطة الذرة أو الجزيء هي العملية التي تنتقل فيها الطاقة من الفوتون إلى الذرة أو الجزيء الماص. وعندما تمتص الذرة أو الجزيء فوتوناً من الأشعة الكهرومغناطيسية فإن طاقتها الداخلية تزداد بكمية تعدل كمية الطاقة لذلك الفوتون الممتص. لذلك فإن في عملية الامتصاص انتقال للذرة أو الجزيء من حالة طاقة منخفضة إلى حالة إثارة أعلى excited state. وفي أغلب الحالات

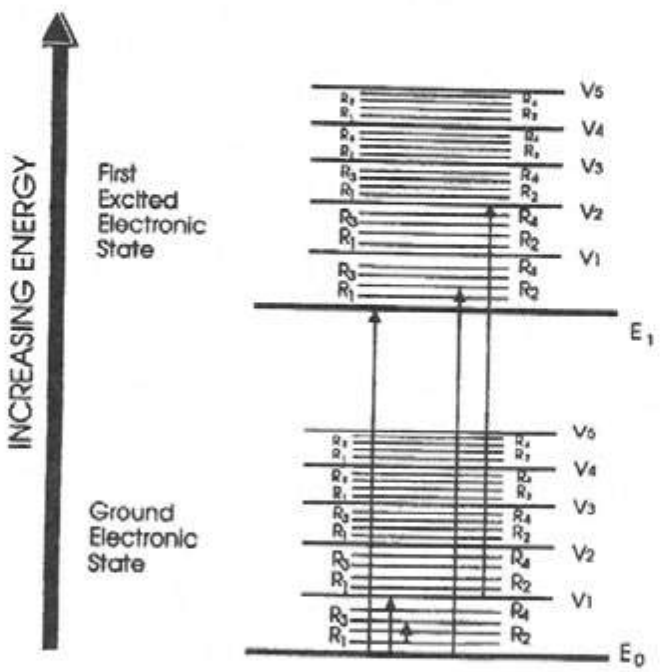
فإن الذرة أو الجزيء يكون في حالة الاستقرار أو الحالة الأصلية ground state قبل عملية الامتصاص. وبما أن عملية الامتصاص تعتبر عملية كمية quantitative، بمعنى أن كل طاقة الفوتون تنتقل إلى الجزء الماص، فإن الفوتون الممتص يجب أن تكون طاقته مساوية تماماً لفرق الطاقة بين مستويات الطاقة التي حصل بينها الانتقال. ويرجع هذا لطبيعة الكميات المحددة quantized لمستويات الطاقة في المادة المعينة. وبالتالي إذا عملنا رسمنا بيانياً بوضع طاقة الفوتون على أحد المحاور ضد الامتصاصية النسبية للإشعاع فسنحصل على طيف امتصاص مميز يتحدد شكله بواسطة قوة الامتصاصية النسبية Absorptivity للفوتونات ذات الطاقة المختلفة. إن قوة الامتصاصية لأي مركب هي ثابت تناسب يعتمد على الطول الموجي والذي يربط بين تركيز الذرة أو الجزيء الممتص وبين الامتصاصية المقاسة لتلك الذرة أو الجزيء ونجد في الشكل رقم (١٠,٤) طيف امتصاص نموذجي يغطي جزء من مدى الأشعة فوق البنفسجية.



الشكل رقم (١٠,٤). طيف الامتصاص للبنزين (٠,٠٠٥ مولر) في محلول مائي.

إن المتغير المستقل لطيف الامتصاص يمكن التعبير عنه في أغلب الأحوال عن طريق خصائص الموجة (الطول الموجي أو التردد أو الرقم الموجي) للإشعاع المعني أكثر من التعبير عنه بواسطة طاقة الفوتونات المعنية والشكل رقم (١٠,٥) يوضح هذا المعنى.

الانتقالات الجزيئية المختلفة والتي تنتج عن الامتصاص بواسطة الفوتونات ذات الطاقة المختلفة يوضحها الشكل التخطيطي التالي:



الشكل رقم (١٠,٥). مستوى الطاقة الجزيئية التي تتكون من الانتقالات الإلكترونية والاهتزازية والدورانية.

هذه الانتقالات الموضحة في الشكل رقم (١٠,٥) تمثل تلك الانتقالات التي قد تستحثها الأشعة فوق البنفسجية UV أو الأشعة المرئية Vis أو تحت الحمراء IR أو أشعة

الميكروويف. والشكل أيضاً يشمل الانتقالات التي تكون فيها الجزيئات في حالة إثارة من الحالة المستقرة إلى حالة إثارة إلكترونية مع تغير مصاحب في مستويات الطاقة الاهتزازية أو الدورانية. إن مقدرة الجزيئات على اكتساب انتقالات متزامنة بين المستويات المختلفة للطاقة قد يؤدي إلى تضخيم الذروة peaks في طيف الامتصاص للأشعة فوق البنفسجية والمرئية UV/Vis للجزيئات مقارنة بتلك الذروات في طيف امتصاص الذرات، وهذا متوقع بسبب غياب مستويات الطاقة الاهتزازية والدورانية في الذرات. أما الانتقالات بين مستويات الطاقة الاهتزازية غير المرتبطة بالانتقالات الإلكترونية فتستحثها الأشعة في نطاق IR الأشعة تحت الحمراء، بينما تستحث أشعة الميكروويف الانتقالات بين مستويات الطاقة الدورانية. ويبين الجدول رقم (١٠,٢) التالي تلخيصاً لطيف الامتصاص الناتج من الانتقالات الجزيئية والذرية.

جدول رقم (١٠,٢): نطاقات الطول الموجي، طرق التحليل الطيفي والانتقالات المصاحبة

نطاق الطول الموجي	حدود الطول الموجي	نوع التحليل الطيفي	مدى الطول الموجي	أنواع الانتقالات
أشعة جاما	٠,٠١-١ Å	انبعاث	<٠,١ Å	انتقالات نووية
الأشعة السينية	٠,١-١٠ نانومتر	امتصاص، انبعاث، تألق، وحيود	٠,١-١٠٠ Å	انتقال الإلكترونات الداخلية لذرة المادة
الأشعة فوق البنفسجية	١٠-٣٨٠ نانومتر	امتصاص، انبعاث، وتألق	١٨٠-٣٨٠ نانومتر	انتقال الإلكترونات الخارجية للذرة وانتقال الإلكترونات الرابطة للجزيء
الأشعة المرئية	٣٨٠-٧٥٠ نانومتر	امتصاص، انبعاث، وتألق	٣٨٠-٧٥٠ نانومتر	تماماً مثل الأشعة فوق البنفسجية

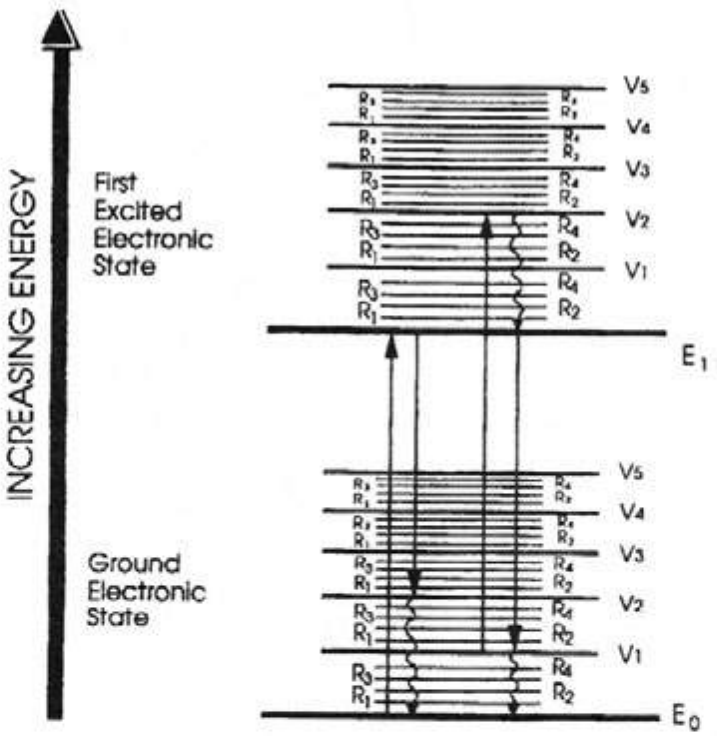
تابع جدول رقم (١٠,٢).

نطاق الطول الموجي	حدود الطول الموجي	نوع التحليل الطيفي	مدى الطول الموجي	أنواع الانتقالات
الأشعة تحت الحمراء	٠,٧٥٠- ١٠٠٠ ميكرومتر	امتصاص	٣٠٠-٠,٧٨ ميكرومتر	اهتزازات الذرات في جزيء المادة
أشعة الميكروويف	٠,١- ١٠٠سم	امتصاص، دوران مغزلي للإلكترونات	٠,٧٥- ٣,٧٥مم ٣سم	دوران الجزيئات تغير في الدوران المغزلي للإلكترونات في المجال المغناطيسي
أشعة الراديو	١-١٠٠٠متر	الرنين المغناطيسي النووي	١٠-٠,٦متر	تغيرات في الدوران المغزلي لنواة الذرة

(١٠,٥,٢) انبعاث الأشعة Emission of Radiation

عملية الانبعاث هي أساساً عملية عكسية لعملية الامتصاص وتنتج عندما تتحرر الطاقة من الذرة أو الجزيء في شكل فوتونات. عندما يُصَعَّد إلكترون إلى حالة إثارة يبقى في هذه الحالة لفترة قصيرة جداً قبل أن يعود إلى حالة الاستقرار. وهناك عدة طرق تراعى يستطيع بها الجزيء العائد إلى حالة الاستقرار أن يفقد الطاقة المكتسبة. أكثر الطرق الشائعة هي أن يفقد الجزيء المثار طاقته عن طريق سلسلة من الخطوات القصيرة الناتجة عن التصادم مع الجزيئات الأخرى، وهكذا تتحول الطاقة إلى طاقة حركية والنتيجة الإجمالية هي تبديد الطاقة في شكل حرارة. وفي الظروف العادية فإن الحرارة المبددة لا تكون بالقدر الذي يؤثر على مجمل النظام. وفي بعض الحالات فإن الجزيئات التي أثيرت بعد امتصاصها للأشعة فوق البنفسجية أو المرئية

تفقد جزءاً من طاقتها الزائدة عن طريق انبعاث فوتون. وعملية الانبعاث هذه تسمى فلورة (تألق) Fluorescence أو وميض فسفوري phosphorescence اعتماداً على طبيعة حالة الإثارة. وفي طريقة التألق الجزيئي للطيف Molecular fluorescence spectroscopy فإن الفوتونات التي تنبعث من الجزيئات المثارة تكون عادة ذات طاقة أقل وطول موجي أطول من الفوتونات المماثلة التي أُمتصت في عملية الإثارة، والسبب في ذلك أنه في أغلب الحالات يفقد جزء فقط من الفرق في الطاقة بين حالة الإثارة وحالة الاستقرار في عملية الانبعاث. والجزء الآخر من الطاقة الزائدة يبدد كحرارة أثناء تراخي الاهتزاز. والشكل رقم (١٠,٦) يوضح هذه العملية والذي يشير أيضاً إلى أن الجزيء المثار يخضع إلى تراخي اهتزاز حتى أدنى مستوى طاقة اهتزازية في حالة الإثارة الإلكترونية ثم يخضع لعملية انتقال إلى حالة الاستقرار الإلكترونية عن طريق انبعاثه للفوتون. هذه الفوتون المنبعثة تكون لها طاقة تساوي الفرق في الطاقة بين أدنى مستوى لطاقة الاهتزاز لحالة الإثارة الإلكترونية ومستوى حالة الاستقرار الإلكترونية التي تصل إليها. وقد ينحدر الجزيء المتفلور (المتألق) إلى أي مستوى من مستويات الاهتزاز الموجودة ضمن حالة الاستقرار الإلكترونية. إذا كان الانتقال التألقي إلى مستوى إثارة اهتزازية ضمن حالة الاستقرار الإلكترونية فحينها ستعود بسرعة إلى حالة الاستقرار (أدنى مستوى للطاقة) عن طريق تراخي الاهتزاز. وفي بعض الأحوال الأخرى قد يكون الجزيء المثار له طاقة طافية ليبدأ بعض التفاعلات الكيموضوئية والتي تقود في النهاية إلى نقص الطاقة الكامنة في النظام. وفي كل الحالات فإن عملية التراخي Relaxation تكون مدفوعة بواسطة نزعة للجزيء نحو ليبقى في أدنى مستوى طاقة داخلية له. وعملية التراخي التي تحكم النظام هي التي تقلل عمر حالة الإثارة إلى أدنى مستوى. وفي الحالة العادية فإن عملية التراخي تكون سريعة إلى حد بحيث تظل مكونات الجزيء في حالة الاستقرار بدون تغيير.



الشكل رقم (١٠،٦). مستوى الطاقة الجزيئية والتي تشمل الامتصاص وتراخي الاهتزاز وتراخي التألق.

الفصل الحادي عشر

طرق التحليل الطيفي في المجال فوق البنفسجي والمرئي

Ultraviolet and Visible Spectroscopy

(١١,١) مقدمة

يعد التحليل الطيفي في المجال فوق البنفسجي والمجال المرئي (UV-Vis) من أكثر تقنيات تحاليل الأغذية التي يعتادها الطلاب في المختبرات والمعامل. ويمتد نطاق الأشعة الكهرومغناطيسية في طيف الـ (UV-Vis) من ٢٠٠ إلى ٧٨٠ نانومتر (nm)، حيث يمتد نطاق الأشعة فوق البنفسجية من ٢٠٠ إلى ٣٥٠ نانومتر (nm) بينما يمتد نطاق الأشعة المرئية من ٣٥٠ إلى ٧٨٠ نانومتر (nm) (انظر الجدول رقم ١١,١) يبدو نطاق الأشعة فوق البنفسجية عديم اللون بالنسبة لعين الإنسان بينما تظهر الأطوال الموجية المختلفة في نطاق المجال المرئي ألواناً مختلفة تمتد من البنفسجي في الطرف القصير من طيف الطول الموجي إلى الأحمر في الطرف البعيد من الطيف. وتنقسم طرق التحليل الطيفي التي تستخدم الأشعة في المجال فوق البنفسجي والمجال المرئي (UV-Vis)، تنقسم إلى فئتين عامتين:

الجدول رقم (١١,١). طيف الأشعة المرئية.

طول الموجة (nm)	اللون الممتص	اللون المتمم (النافذ)
أقل من ٣٨٠	فوق البنفسجي	--
٤٢٠-٣٨٠	بنفسجي	أخضر مصفر
٤٤٠-٤٢٠	أزرق بنفسجي	أصفر
٤٧٠-٤٤٠	أزرق	برتقالي
٥٠٠-٤٧٠	أخضر مزرق	أحمر
٥٢٠-٥٠٠	أخضر	أرجواني
٥٥٠-٥٢٠	أخضر مصفر	بنفسجي
٥٨٠-٥٥٠	أصفر	أزرق بنفسجي
٦٢٠-٥٨٠	برتقالي	أزرق
٦٨٠-٦٢٠	أحمر	أخضر مزرق
٧٨٠-٦٨٠	أرجواني	أخضر
أكثر من ٧٨٠	تحت الحمراء القريبة	--

التحليل الطيفي للامتصاص والتحليل الطيفي للتالق وذلك اعتماداً على نوع التفاعل بين الإشعاع والمادة المراد اختبارها. ويمكن تقسيم أي من هذين النوعين إلى تحليل كمي أو نوعي، ويعتبر التحليل الكمي هو الأكثر أهمية في طرق التحليل الطيفي في مجالي فوق البنفسجي والمرئي (UV-Vis).

(١١,٢) طرق الامتصاص الطيفي في الـ (UV-Vis)

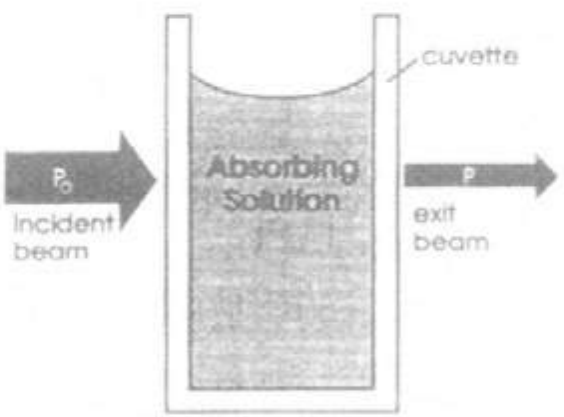
(١١,٢,١) أساسيات طرق الامتصاص الطيفي

إن الهدف من طرق الامتصاص الطيفي الكمي Quantitative هو تقدير تركيز المادة المذابة في محلول عينة ما. ويعتمد هذا التقدير على قياس كمية الضوء الممتص من

شعاع مرجعي حين يمر خلال محلول العينة. وفي بعض الحالات قد تمتص المادة الإشعاع في مجال الـ UV-Vis بحيث لا تتغير الصفات الكيميائية للمادة المراد تحليلها في أثناء التحليل. ولكن في حالات أخرى مثلاً في حالة عدم امتصاص المادة للإشعاع في مجال الـ UV-Vis تُغيَّر صفات المادة الكيميائية أثناء التحليل وتحول إلى مادة تمتص الإشعاع في هذا المجال، وفي كلا الحالين فإن وجود المادة المراد تحليلها في المحلول تؤثر في كمية الإشعاع النافذ خلال المحلول لذلك تستخدم نسبة النفاذية أو الامتصاصية للمحلول كمؤشر على تركيز المادة المراد تحليلها.

في المعمل توضع عينة المحلول المراد تحليله في خلية امتصاص (وعاء العينة) وتوضع الأخيرة في مسار الأشعة المنتخبة. ومن ثم يتم قياس كمية الإشعاع المار خلال العينة مقارناً بكمية الإشعاع المارة خلال عينة مرجعية، ويستخدم هذا القياس في تقدير تركيز المادة المراد تحليلها.

والشكل رقم (١١,١) يوضح عملية الامتصاص هذه.



الشكل رقم (١١,١). توهين (attenuation) الإشعاع المار خلال خلية تحوي محلول امتصاص.

يحمل الإشعاع الساقط على الخلية (Po) طاقة إشعاعية أكبر بكثير من طاقة الإشعاع النافذ (الخارج) من الطرف الآخر من الخلية (P). وهذا التناقص في الطاقة الإشعاعية عند مرور حزمة الأشعة خلال المحلول نتج بسبب أسر Capture الفوتونات بواسطة المادة الماصة. والفرق فى الطاقة بين الإشعاع الساقط والإشعاع الخارج من الخلية يجسدها على نحو نموذجي مصطلح نفاذية transmittance أو امتصاصية absorbance المحلول. وتعرف النفاذية (T) للمحلول بأنها نسبة (P) إلى (Po) كما توضح في المعادلة [١]. كما يمكن التعبير عن النفاذية أيضاً كنسبة مئوية كما توضحها المعادلة رقم [٢].

$$T = P/Po \qquad [١]$$

$$\%T = (P/Po) \times 100 \qquad [٢]$$

حيث:

T = النفاذية

Po = طاقة الإشعاع الساقطة على الخلية.

P = طاقة الإشعاع الخارجة من الخلية.

%T = النسبة المئوية للنفاذية

وبالرغم من أن المصطلحين (T) و (T%) يعبران عن الجزء الممتص من الضوء الساقط (الممتص بواسطة المحلول) ولكن هذين المصطلحين لا يتناسبان طردياً مع تركيز المادة المذابة في المحلول. وهذه العلاقة اللاخطية بين النفاذية والتركيز تقف عقبة أمام المحللين لأن اهتمامهم الرئيسي هو تراكيز المادة المراد تحليلها. وهناك مصطلح آخر يستخدم لوصف العلاقة بين (P) و (Po) هو "الامتصاصية 'A' absorbance" ويعرف هذا المصطلح منسوباً إلى "T" كما هو موضح في المعادلة رقم [٣]

$$A = \log (P/Po) = -\log T = 2-\log \%T \quad [٣]$$

حيث إن:

A = الامتصاصية

T, %T = كما هي موضحة في المعادلتين [١] و [٢]

وهذا المصطلح "A absorbsnce" ملائم للمحللين لأنه يتناسب طردياً مع تركيز المادة الممتصة. أرجو ملاحظة أنه تأسيساً على تعريف "A" و "T" فإن امتصاصية المحلول ليست تساوي ببساطة واحد ناقص النفاذية ففي التحليل الطيفي الكمي فإن الجزء من الشعاع الساقط والذي لا ينفذ لا يساوي امتصاصية المحلول (A). وتعرف العلاقة بين امتصاصية المحلول وتركيز المادة الممتصة بقانون بيير "Beer's Law" كما هو موضح في المعادلة التالية:

$$A = abc \quad [٤]$$

حيث:

A = الامتصاصية

b = طول مسار الأشعة داخل المحلول (بالسم)

c = تركيز المادة الممتصة (مول/ لتر)

a = معامل الامتصاص absorptivity (لتر/ مول-سم)

ليست هناك وحدة معينة خاصة بالامتصاصية "A"، كما تلاحظ في شرح عناصر المعادلة، لأن "A" عبارة عن لوغاريثم لنسبة قوى الإشعاع. أما حد التركيز "C" فيعبر عنه بالمول (M) لكل لتر أو أي وحدات أخرى مناسبة (مليمول أو ملجم/ مل أو نسبة مئوية). أما طول مسار الأشعة داخل المحلول أو بمعنى آخر سماكة العينة فتقاس بالسنتمتر الطولي. أما معامل الامتصاص absorptivity فهي عبارة

عن ثابت تناسب يعتمد على الخصائص الجزيئية للمادة. ومعامل الامتصاص تعتمد على الطول الموجي أيضاً وقد تتغير اعتماداً على تغير الظروف الكيميائية (ألـ pH أو الشدة الأيونية ionic strength، المذيب ..الخ) للمادة الممتصة. أما عن وحدات معامل الامتصاص فهي (سم)$^{-1}$ (تركيز $^{-1}$) أو بطريقة أخرى (لتر.مول – سم) أو $(cm)^{-1}$ $(M)^{-1}$ وتحت هذه الظروف التي يكون التركيز فيها بالمول فإن معامل الامتصاص يعطي الرمز (ε) وتعرف بالامتصاصية الجزيئية أو معامل الامتصاص الجزيئي "molar absorptivity" وعندما يعبر عن قانون بير بمصطلح الامتصاصية الجزيئية تصبح المعادلة كالتالي:

$$A = \varepsilon bc \qquad [٥]$$

حيث:

A و b = كما في المعادلة رقم [٤]

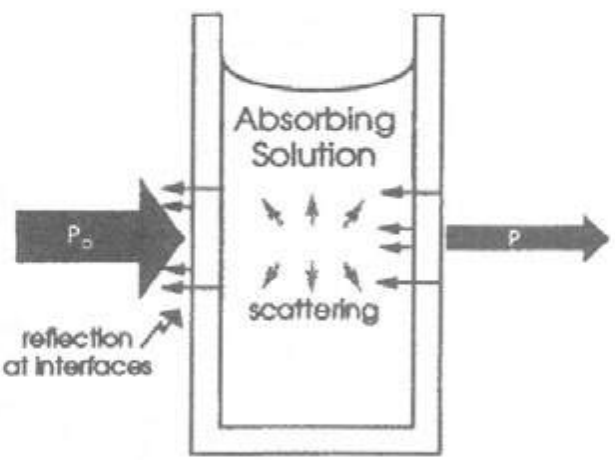
δ = الامتصاصية الجزيئية أو معامل الامتصاص الجزيئي

c = التركيز بالمولارية

يعتمد التحليل الطيفي الكمي على القياس المضبوط لجزء الإشعاع الممتص بواسطة المادة الممتصة والذائبة في محلول معين، ولكن بالرغم من أن هذه المهمة تبدو بسيطة وسهلة لكن في الواقع هناك تعقيدات كثيرة لهذا العمل بسبب عمليات أخرى غير الامتصاص والتي تنتج في إنقاص شديد لطاقة الإشعاع الساقط. والشكل رقم (١١,٢) يوضح تلك العمليات والتي تتلخص في تشتت جزء من الضوء الساقط وكذلك انعكاس بعض الأشعة. لذلك يجب أن يحسب حساب تلك العمليات إذا أردنا أن نحصل على تقدير مضبوط للمادة الممتصة. وفي الواقع العملي يستخدم وعاء عينة (خلية) مرجعي reference لتصحيح الخطأ الناتج عن تلك العمليات. وهذه

الخلية المرجعية، نظرياً، تطابق بالكامل الخلية المستخدمة للعينة في كل شيء ما عدا أنها لا تحتوي على المادة الممتصة. وفي العادة تكون الخلية المرجعية هي نفس خلية العينة لكنها تحتوي، بدلاً عن العينة، على ماء مقطر فقط. ثم توضع هذه الخلية المرجعية في مسار حزمة الأشعة وتقاس طاقة الإشعاع الخارج من الناحية الأخرى من الخلية ويعتبر هذا هو مقدار الطاقة "Po" بالنسبة لخلية العينة. وتفترض هذه الطريقة أن كل العمليات ما عدا الامتصاص الانتقائي للإشعاع بواسطة المادة الممتصة، كل باقي العمليات متماثلة بالنسبة للخلية المرجعية وخلية العينة. والمعادلة التالية تصف الامتصاص الحقيقي المقاس:

$$A = \log (P_{\text{solvent}} / P_{\text{analyte solution}}) \equiv \log (P_o/P) \qquad [٦]$$



الشكل رقم (١١,٢). عمليات تشتت وانعكاس الضوء الساقط

بحيث :

P_{solvent} = طاقة الإشعاع الخارج (النافذ) من الخلية التي تحتوي على المذيب (البلانك)

P anlyte solution = طاقة الإشعاع الخارج من الخلية التي تحتوي على محلول المادة الممتصة

Po و P = كما في المعادلة رقم [١]

A = كما في المعادلة رقم [٣]

أمثلة:

مثال (١) احسب امتصاص محلول إذا عرفت أن النسبة المئوية لنفاذية ذلك المحلول (%T) = ٨٩ عند ٥٠٠ نانومتر؟

الحل:

$$T = 0.89$$
$$A = 2 - \log \%T = - \log 0.89 = 0.05$$

مثال (٢) محلول ذو تركيز ٤.٥ ملجم/ ل (٤.٥ جزء من المليون) لمادة ملونة يعطي امتصاص يساوي ٠.٣ عند ٥٢٠ نانومتر وباستخدام وعاء ذو مسار داخلي = ٢.٠سم. احسب معامل الامتصاص (a)؟

الحل:

$$A = \varepsilon bc$$

$$A = \frac{A}{\varepsilon c} = \frac{0.3}{2.0 \times 4.5}$$

$$= 3.3 \times 10^{-2} \ cm^{-1} \ l - mg^{-1}$$

مثال (٣) محلول مائي لمادة ملونة الامتصاص الجزيئية ε لها تساوي ٣٢٠٠ عند طول موجي مقداره ٥٢٥ نانومتر. احسب الامتصاص والنفاذية عندما يكون التركيز ٣.٤×١٠$^{-٥}$ مول/ لتر علماً بأن b = ١ سم.

$$A = \varepsilon bc$$
$$= 3200\ L/M\text{-}cm \times 1.0cm \times 3.4\times10^{-4}\ M/L$$
$$= 3200 \times 1\frac{3.4}{10000}$$
$$= 1.088$$
$$A = 2 - \log \%T$$
$$\therefore \%T = 8.1\%$$

مثال (٤): باستخدام مطياف الأشعة في منطقة الـ UV لاختبار عينة من محلول الكافئيين caffeine (الوزن الجزيئي للكافئيين = ٢١٢.١) علماً بأن تركيز العينة = ١ ملجم/ ١٠٠ مل وأعطى امتصاصية (A) = ٠.٠١ عند طول موجي ٢٧٢ نانومتر. احسب ε مع العلم أن b = ١ سم.

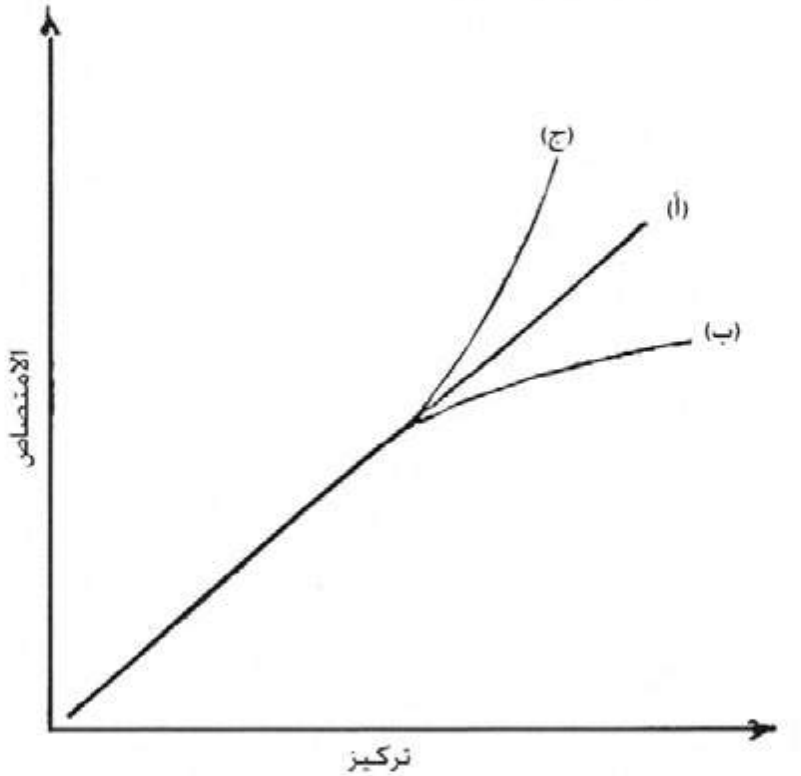
$$A = \varepsilon bc$$
$$C = \frac{0.01}{212.1} = \frac{1}{21210}$$
$$\varepsilon = \frac{0.510 \times 21210}{1 \times 1} = 10817\ L/mole - cm$$

(١١,٣) الحيود عن قانون بيير Deviation from Beer's Law

يجب ألا نفترض أن قانون بيير يمتثل دائماً، فهناك بعض العوامل التي تجعل العلاقة بين التركيز والامتصاص تحيد deviates إلى أعلى (حيود إيجابي) أو إلى أسفل (حيود سلبي) [انظر الشكل رقم ١١,٣]. وعلى العموم فإن قانون بيير يمكن تطبيقه عند التراكيز المخففة فقط، حتى تركيز ١٠ مليمول لأغلب المواد الذائبة.

ولكن التركيز الفعلي الذي يكون فيه القانون حدياً (قاصراً) يعتمد على الصفات الكيميائية للمادة المراد تحليلها، فكلما زاد تركيز المادة في المحلول تقل المسافات البينية بين الجزيئات حتى تصل إلى نقطة تؤثر عندها الجزيئات المتجاورة على بعضها البعض في توزيع الشحنات. وهذا الاضطراب الناتج في حركة الجزيئات يؤثر

على المادة المراد تحليلها في التقاف الفوتونات للطول الموجي المحدد وبمعنى آخر يغير هذا من معامل الامتصاص (a) لتلك المادة. وهذا بدوره يؤدي إلى انهيار العلاقة الخطية بين التركيز والامتصاصية نظراً لأن مصطلح معامل الامتصاص هو ثابت النسبة في قانون بيير. ومن أسباب حيود قانون بيير الكيميائية الأخرى تفكك اتحاد جزيئات المادة الذائبة وتأينها في المحلول.



الشكل رقم (١١,٣). الحيود عن قانون بيير: أ) لا يوجد حيود، ب) حيود سلبي، ج) حيود إيجابي.

وقد يرجع سبب هذا الحيود إلى الجهاز المستخدم وهذا ما يدعى بالحيود الآلي. إن قانون بيير يكون صحيحاً إذا كانت الأشعة الساقطة (Po) أحادية طول الموجة

(monochromatic) نظراً لأن معامل الامتصاص الجزيئي (ε) يعتمد على طول الموجة. وإذا ما كان الضوء المار عبر المحلول متعدد الألوان (polychromatic) وهناك اختلاف في ثوابت الامتصاصية للأطوال الموجية المختلفة فلن يكون هناك تطبيق لقانوني بيير. وكمثال لهذه الظاهرة عندما يمر الإشعاع المطلوب يصاحبه ضوء متفرق Stray radiation لا تمتصه المادة المراد تحليلها، يمر هذان الشعاعان معاً خلال المحلول وإلى الكاشف detector. في هذه الحالة يمكن التعبير عن النفاذية الناتجة بالمعادلة التالية:

$$A = \log (Po+Ps) / (P+Ps) \qquad [٧]$$

حيث:

Ps = طاقة الإشعاع المتفرق

A = كما في المعادلة رقم [٣]

Po, P = كما في المعادلة رقم [١]

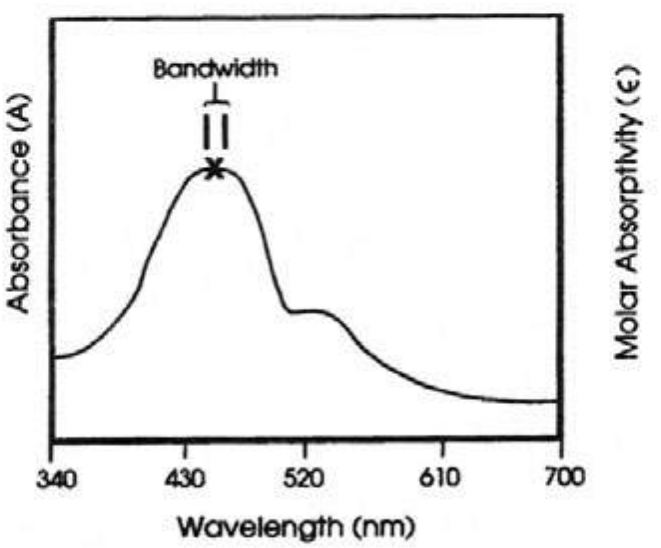
لاحظ أن الامتصاص الحدّي يمكن الوصول إليه عندما تقترب قيمة Po من P (Po>P) وهذا ما يحصل عندما يكون تركيز المادة المراد تحليلها عالياً.

وفي هذه الحالات تحضر المحاليل المرجعية بمعامل المذيب بنفس الكيفية التي عوملت بها مذيب العينة.

يجب اختيار وعاء العينة أو الخلية Cuvette بعد تحديد النطاق الطيفي العام الذي سوف يستخدم في التحليل. وتختلف أوعية العينة في المادة المصنوعة منها (تركيبها) وفي أبعادها. فيجب أن تكون المادة الخام المصنوعة منها أوعية العينات لا تمتص الأشعة في النطاق الطيفي المستخدم في التحليل. والخلايا التي تفي بهذه المتطلبات للقياسات في نطاق الأشعة فوق البنفسجية (UV) تكون مصنوعة من الكوارتز quartz أو السيليكا المصهورة Fused Silica. ولنطاق الأشعة المرئية Vis يمكن

استخدام خلايا مصنوعة من زجاج السليكات Silicate، كما يمكن استخدام الخلايا البلاستيكية رخيصة الثمن أيضاً في بعض التطبيقات. يمكن اختيار أبعاد الخلية حسب كمية العينة المتوفرة. أبعاد الخلية النموذجية للامتصاص هي ١×١سم وبطول ٤.٥سم، وطول المسار لهذه الخلية هو ١سم وأقل حجم للمحلول هو ١.٥مل. وتوجد خلايا ضيقة narrow عرضها حوالي ٤ملم مع مسار طوله ١سم تناسب الأحجام الصغيرة جداً من المحاليل (أقل من ١مل).

عندما نريد قياس الامتصاصية يجب أولاً أن نختار الطول الموجي المناسب، ومن الأفضل اختيار الطول الموجي الذي تظهر فيه المادة المراد تحليلها أعلى درجة امتصاص، وحيث لا يتغير الامتصاص تغيراً سريعاً مع تغير الطول الموجي (انظر الشكل رقم ١١,٤).



الشكل رقم (١١,٤). طيف امتصاص افتراضي بين ٣٤٠-٧٠٠ نانومتر
[عرض النطاق الترددي يساوي تقريباً ٢٠ نانومتر]

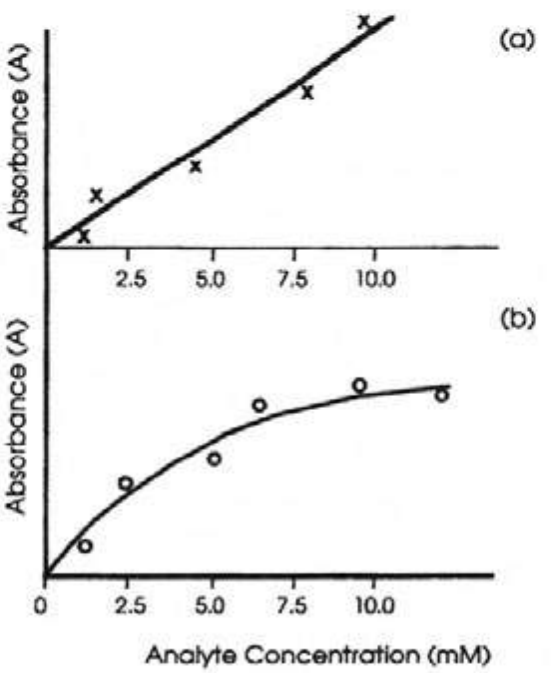
وهناك ميزتان لأخذ القراءة في هذه النقطة (أعلى درجة امتصاص):

(١) الحصول على أعلى حساسية و (٢) تقيد كبير بقانون بيير لأن الأطوال الموجية المكونة لنطاق الأشعة بينها فروقات صغيرة جداً في معامل الامتصاص الجزيئي.

عندما نريد القيام بقياس الامتصاصية نبدأ أولاً بمعايرة الجهاز بقراءة صفر نفاذية (0%) ثم نفاذية ١٠٠٪ (100%). ونقوم بضبط الصفر نفاذية (صفر٪) بحجب الكاشف الضوئي photodetector عن الإشعاع الساقط وذلك بواسطة غطاء حاجب محاكاة للامتصاص اللامتناه. هذه العملية تضبط المستوى الأدنى من التيار (تيار الإظلام dark current) إلى المستوى المناسب ليقرأ المؤشر قراءة الصفر. ثم تضبط قراءة الـ ١٠٠٪ نفاذية بفتح الغطاء الحاجب مع وضع خلية تحتوي على المحلول المرجعي في مسار الضوء. تملأ الخلية المرجعية عادة بالمذيب والذي يتكون من الماء المقطر أو منزوع الأيونات distilled/deionized في المحاليل المائية. ضبط النفاذية الكاملة (100%T) يعني ضبط T = 1 بالنسبة للخلية المرجعية وهذا يماثل تعريف (Po) في المعادلة رقم [١] كطاقة إشعاع للضوء الخارج من الخلية المرجعية. يجب التأكيد على ضبط نفاذية الصفر (0%) والنفاذية الكاملة (100%) عدة مرات أثناء عملية التحليل. ومن ثم نقوم بقياس الامتصاصية على الخلية التي تحوي المادة المراد قياسها بدون أن نعدل في عمليات الضبط السابقة. وعمليات ضبط الخلية المرجعية هذه ستؤدي إلى أن يقرأ الجهاز خلية المادة المراد قياسها تماماً كما في المعادلة رقم [٦]. يمكن أن تكون قراءة الأجهزة الحديثة بمقياس النفاذية أو مقياس الامتصاصية، ولكن من الأنسب أن تعمل القراءة بمقياس الامتصاصية لأن الامتصاص يتناسب طردياً مع التركيز.

(١١,٤) منحنى المعايرة القياسية Standard Calibration Curve

في أغلب الأحيان ينصح باستخدام المنحنيات القياسية عند القيام بالقياسات الكمية. وفي مجال تحليل الأغذية هناك تقديرات تجريبية كثيرة تتطلب استخدام المنحنيات القياسية ويستخدم المنحنى المعياري من أجل تأسيس العلاقة بين تركيز المادة المراد تحليلها وقراءة الامتصاصية. وتؤسس هذه العلاقة عملياً عن طريق تقدير امتصاصية سلسلة من عينات من المادة معلومة التركيز. هذه المحاليل القياسية تحضر بنفس المذيبات وفي نفس وقت تحضير المادة المجهولة. ويجب أن يشمل مدى تركيزات المحاليل القياسية ذلك التركيز المتوقع للمادة المجهولة. والشكل رقم (١١,٥) يوضح منحنيات معيارية نموذجية.



الشكل رقم (١١,٥). المنحنى القياسي الخطي (أ) واللاخطي (ب)

نحصل على المنحنيات القياسية الخطية من المحاليل التي تتوافق مع قانون بيير. أما المنحنيات القياسية غير الخطية فتستخدم في بعض التقديرات ولكن في العموم يفضل استخدام المنحنيات القياسية الخطية لتسهيل عملية الحسابات. المنحنيات اللاخطية قد تكون نتيجة تغيرات في الصفات الكيميائية للمادة تؤثر في التركيزات والامتصاصية الناتجة، أو لقصور متأصل في الأجهزة المستخدمة. والمنحنى القياسي اللاخطي في الشكل (ب) يوضح أن حساسية المعايرة، والتي تعرف بأنها التغير في الامتصاصية لكل تغير وحدة في تركيز المادة، غير ثابتة، وهذا ما يجعل هذا المنحنى غير مقيد في التركيزات أكثر من ١٠ مليمول.

في كثير من الأحيان تعوق المركبات المتداخلة عمل منحنيات قياسية ممثلة. وتشمل هذه المركبات تلك التي تمتص الأشعة في نفس النطاق الذي تمتص فيه المادة المراد تحليلها تلك الأشعة، وتلك التي تؤثر في امتصاص المادة للأشعة وتلك المركبات التي تتفاعل مع المواد المضافة لتعديل خصائص المادة المراد تحليلها. وهذا يعني أن هذه المنحنيات القياسية قابلة للخطأ إذا كانت المادة المجهولة تختلف مع المحاليل القياسية في الـ pH أو الشدة الأيونية أو اللزوجة أو أنواع الشوائب الموجودة وفي هذه الأحوال ينصح بعمل معايرة باستخدام طريقة الإضافة القياسية Standard Addition Method ويمكن توضيح هذه الطريقة كالآتي:

أضف إلى مجموعة من الدوارق حجم ثابت من المادة المجهولة (V_u) والتي تريد معرفة تركيز مادة التحليل بها (C_u). ثم قم بإضافة حجم معلوم من (Vs) من مادة تحليلية قياسية تركيزها (C_s) بحيث يستقبل كل دورق حجم محدد من القياسي. وبهذا يكون كل دورق قد احتوى على حجم متساوي من المادة المجهولة وأحجام مختلفة من المحلول القياسي. ثم قم بتخفيف حجم كل الدوارق إلى نفس الحجم الكلي (V_c). ثم

قم بتحليل كل دورق على حدة مع معاملة كل الدوارق بالتساوي. إذا تمثل قانون بيير (Beer's) فسوف تتناسب الامتصاصية الناتجة لكل دورق مع التركيز الكلي لمادة التحليل كما يظهر في المعادلة رقم (٨):

$$A = k\,[(V_s C_s + V_u C_u) / (V_t)] \qquad (٨)$$

بحيث:

V_s = حجم القياس

V_u = حجم المادة المجهولة

V_t = الحجم الكلي

C_s = تركيز القياس

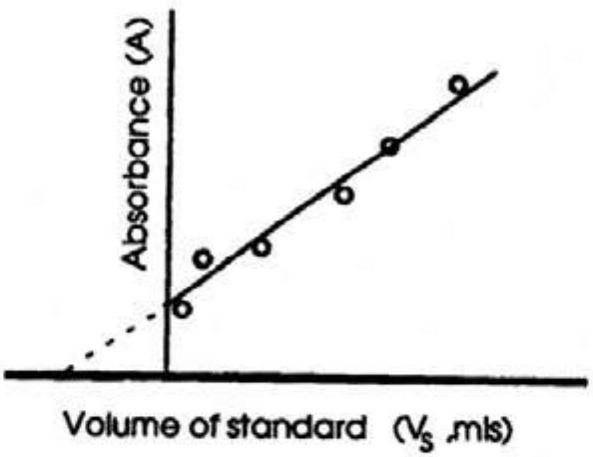
C_u = تركيز المادة المجهولة

K = ثابت التناسب (طول مسار الأشعة × معامل الامتصاص)

ثم ترسم النتائج مع (Vs) في المحور السيني والامتصاصية (A) في المحور الصادي (الشكل رقم ١١,٦). ويمكن حساب تركيز المادة المجهولة من المعادلة (٩) بعد قياس محصور المستقيم (intercept) والميل (slope) :-

$$C_u = (\text{measured intercept} / \text{measured slope})\,(C_s/V_u) \qquad (٩)$$

كما يمكن عمل عدة إضافات على محلول العينة ويقاس الامتصاص بعد كل إضافة ثم ترسم العلاقة بين الامتصاص والكميات المضافة حيث نحصل على خط مستقيم وبتمديده حتى يتقاطع مع محور التركيز نحصل على التركيز المجهول (انظر الشكل رقم ١١,٦):



الشكل رقم (١١,٦). التمثيل البياني لطريقة الإضافة القياسية

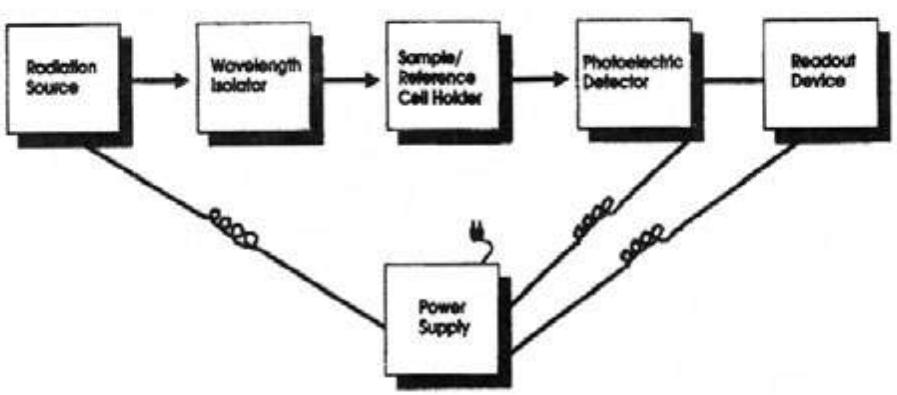
(١١,٥) تأثير الخطأ غير المميز للأجهزة على قراءات الامتصاصية

كل التقديرات التي تعمل بواسطة أجهزة التحليل الطيفي تكون بها نسبة من الأخطاء غير المميزة في قراءة الامتصاصية/ النفاذية، وهذا النوع من الأخطاء يشار إليه بضوضاء الجهاز (instrumental noise)، ولهذا فمن الضروري عند تصميم التجربة محاولة تقليل تلك الأخطاء إلى الحد الأدنى والهدف من ذلك هو جعل مصدر تلك الأخطاء منخفضاً نسبياً عن الاختلافات التي تتعلق بالنواحي الأخرى من التجربة مثل تحضير العينات، مناولة الكواشف ..الخ. وهذه الأخطاء ليست ثابتة في جميع مدى النفاذية (صفر – ١٠٠٪) بل هي تقل في المدى الأوسط للنفاذية. إن الخطأ النسبي في التركيز يكون ثابتاً تقريباً عند قيمته الصغرى في المدى 20-65%T (أي في المدى A 0.2-0.7) ويمكن تجاوزاً القول أن النفاذية المقاسة لابد أن تكون في المدى 10-80%T (أي أن الامتصاص "A" في المدى 0.1-1.0) لكي نتلافى حدوث خطأ كبير في التركيز ناتج عن خطأ القراءة. ولذلك إذا كان محلول العينة يعطي امتصاصاً أو

نفاذية خارجة عن هذا المدى فلابد من تخفيفه أو تركيزه حسب الوضع أو استخدام وعاء عينة ذو مسار ضوئي مناسب أو استخدام طول موجي مناسب.

(١١,٦) أجهزة الطيف الضوئي Instrumentation

هناك عدة أنواع من أجهزة التحليل الطيفي (Spectrophotometers) متوفرة للقياس في نطاقي الأشعة فوق البنفسجية والمرئية (UV-Vis). بعض الأجهزة صممت للعمل في نطاق الأشعة المرئية فقط. والآخر يشمل فوق البنفسجية والمرئية معاً. تختلف هذه الأجهزة فيما يتعلق بنوع التصميمات أو جودة القطع المكونة أو ميزة تعدد الاستعمالات. والجهاز، في الأساس، يتكون من خمسة مكونات أساسية: مصدر الأشعة (Light source)، موحد طول الموجات (monochromator)، وعاء العينة (الخلية Cell)، نوع الكاشف detector وقارئ النتيجة النهائية (readout device). كما أن وجود مصدر للطاقة شئ أساسي أيضاً لعمل هذه الأجهزة. والشكل رقم (١١,٧) هو رسم تخطيطي لعلاقة الأجزاء بعضها ببعض في جهاز التحليل الطيفي Spectrophotometer.



الشكل رقم (١١,٧). علاقة الأجهزة المختلفة لجهاز الاسبكتروفوتومتر ذو النظام أحادي الحزمة لنطاقي (UV-Vis).

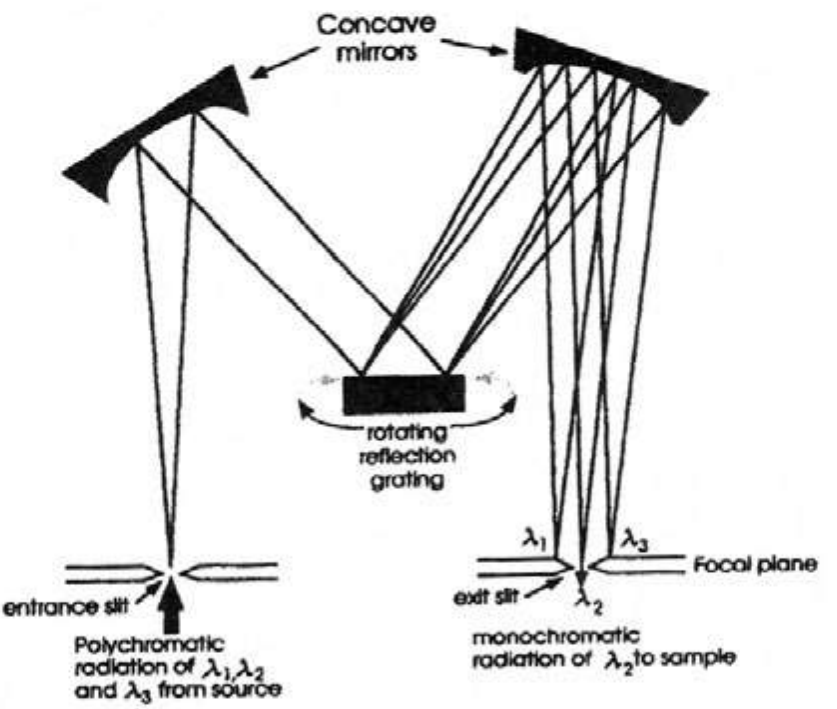
ومصادر الضوء المستخدمة في أجهزة الاسبكتروفوتوميتر يجب أن تثبت باستمرار حزم الأشعة في النطاق المعين المصمم له الجهاز، كما يجب أن تكون طاقة الأشعة المبثوثة كافية لإثارة الكاشف كما يجب أن لا تتغير هذه الطاقة مع تغير الطول الموجي أو مع وقت التجربة.

أكثر مصادر الضوء شيوعاً للأجهزة التي تعمل في نطاق الأشعة المرئية (Vis) هو لمبة فتيلة التنجستن (tungsten filament lamp). وهذه اللمبات تبث أشعة تغطي نطاق طول موجي من ٣٥٠ إلى ٢٥٠٠ نانومتر، وبالتالي فإن لمبات فتيلة التنجستن تستخدم أيضاً للأجهزة التي تعمل في نطاق الأشعة تحت الحمراء. أما أكثر مصادر الضوء المستخدمة لنطاق الأشعة فوق البنفسجية (UV) فهي لمبات الديوتيريوم (Deuterium lamps) وهذه اللمبات توفر أشعة مستمرة في نطاق طول موجي من ١٦٠ إلى ٣٧٥ نانومتر. وتستخدم هذه اللمبات نوافذ من الكوارتز (quartz windows) ويجب أن تستخدم مع حوامل أوعية عينات من الكوارتز أيضاً لأن الزجاج يمتص الأشعة أقل من ٣٥٠ نانومتر.

الجزء من الجهاز الذي يعمل على عزل الطول الموجي فيعرف بموحد طول الموجات (monochromator). نظرياً فإن أشعة متعددة الألوان (polychromatic) من المصدر تدخل إلى جهاز موحد طول الموجات ثم تتشتت حسب الطول الموجي ومن ثم ينفذ شعاع أحادي الموجات لطول موجي محدد من الجهاز. وفي الواقع فإن الضوء النافذ ليس أحادي الموجات ولكن يتكون من حزمة مستمرة من الأطوال الموجية والشكل رقم (١١,٨) يوضح جهاز موحد طول الموجات.

وكما هو موضح بالشكل رقم (١١,٨) فإن موحد الطول الموجي يتكون من فتحة لدخول الأشعة وفتحة لخروجها entrance and exit slits، مرآة مقعرة concave mirror، وأداة تشتيت (محزوز) dispersing element. يدخل الإشعاع متعدد الألوان إلى

الجهاز عن طريق فتحة الدخول ومن ثم يوجه بواسطة المرآة المقعرة ثم يشتت الإشعاع إلى الأطوال الموجبة المختلفة. ثم ينعكس هذا الإشعاع ذو الأطوال الموجبة المختلفة من مرآة مقعرة والتي تركز الأطوال الموجبة المختلفة من الضوء تتابعياً على سطح (مستوى) بؤري. والإشعاع الذي يقع على فتحة الخروج التي توجد في السطح البؤري هي التي تنبعث من موحد الطول الموجي. وهذا الإشعاع المنبعث من موحد الطول الموجي يتكون من مدى ضيق من الأطوال الموجبة التي يفترض أن تتركز حول الطول الموجب المحدد مسبقاً بواسطة مفتاح ضبط الأطوال الموجبة بالجهاز.

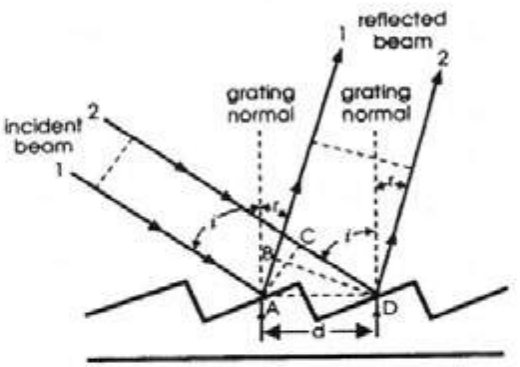


الشكل رقم (١١,٨). رسم تخطيطي لجهاز موحد طول الموجات يستخدم محزوز عاكس كمشتت للأشعة ومرآة مقعرة لتوجيه الإشعاع كحزم متوازية.

يسمى حجم مدى الطول الموجي الذي يمر عبر فتحة الخروج في موحد الأطوال الموجية، يسمى عرض النطاق الترددي أو عرض الممر الطيفي bandwidth للإشعاع المنبعث. في أجهزة قياس الطيف الضوئية الحديثة spectrophotometers يمكن لمشغل الجهاز أن يتحكم في فتحة الخروج الخاصة بموحد الطول الموجي monochromator وبالتالي يمكنه التحكم في عرض النطاق التردد bandwidth للإشعاع المنبعث. ونلاحظ أنه كلما قل عرض فتحة الخروج exit slit كلما قل عرض النطاق الترددي وبالتالي قلت طاقة الإشعاع المنبعث. وبالعكس فكلما زاد عرض عرض فتحة الخروج كلما زادت طاقة حزمة الإشعاع وزاد عرض النطاق الترددي وتداخلت النطاقات. في بعض الحالات وعندما يكون فصل النطاقات حاسماً، كما هو الحال في بعض حالات التحليل النوعي، ينصح باستخدام فتحة خروج ضيقة. ولكن في معظم حالات التحليل الكمي تستخدم فتحة خروج عريضة. أيضاً فإن نسبة الإشارة إلى الضوضاء signal-to-noise rates المرتبطة بقياسات النفاذية تتحسن عندما تزيد طاقة حزمة الإشعاع بزيادة عرض فتحة الخروج.

إن عرض النطاق الترددي المؤشر لأي موحد طول موجي لا يحدده فقط عرض فتحة الخروج ولكن أيضاً بنوعية أداة التشتيت dispersing element الخاصة بجهاز موحد طول الموجات، إن وظيفة هذه الأداة هي نشر وفصل الإشعاع حسب الطول الموجي. محزوزات الانعكاس reflection gratings، كما هي موضحة في الشكل رقم (١١,٩) هي أكثر أدوات التشتيت استخداماً في الاسبكتروفوتومترات الحديثة. بعض الأحيان يطلق على المحزوزات مصطلح محزوزات الحيود diffraction gratings وذلك لأن فصل الأطوال الموجية يعتمد على حيود الأطوال الموجية المختلفة مقارناً بالمحزوزات العمودية. يشتمل محزوز الانعكاس على سطح عاكس حضرت عليه

مجموعة كبيرة من الحزوز، بين ١٢٠٠ إلى ١٤٠٠ في المليمتر الواحد. وتساعد هذه الحزوز على كسر السطح العاكس بحيث تعمل كل نقطة على السطح العاكس كمصدر مستقل للإشعاع (انظر الشكل رقم ١١,٩):

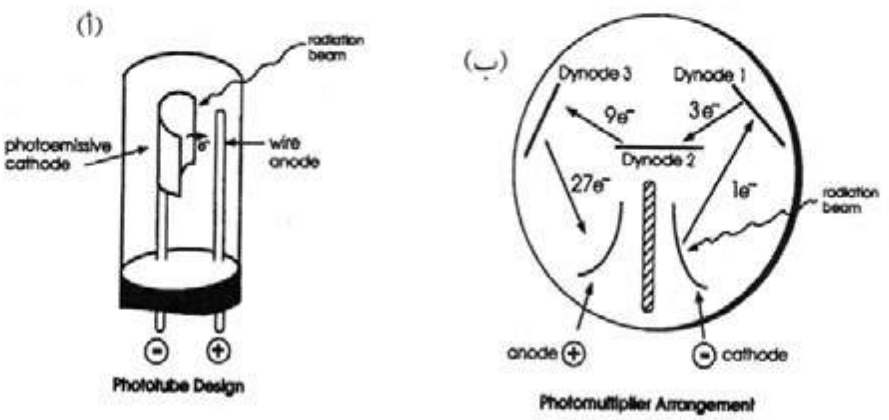


الشكل رقم (١١,٩) . رسم تخطيطي يوضح خاصية الحيود عن سطح محزز عاكس.

في هذا الشكل يمثل الخطان ١ و ٢ حزمة من الإشعاع الخارج من موحد الطول الموجي واللذان يقعان على سطح المحزوز بزاوية مقدارها (i) على المحزوز العمودي. التداخل البناء الأقصى لهذا الإشعاع يقع بزاوية مقدارها (r) على المحزوز العمودي. على كل الزوايا (غير i و r) فإن الحزمتان من الإشعاع يبطل بعضهما البعض، جزئياً أو كلياً.

في قياسات التحليل الطيفي فإن كمية الإشعاع النافذ عبر المحلول المرجعي أو محلول العينة تقدر بواسطة كاشف detector. يتم تصميم الكاشف لينتج إشارة كهربائية عندما تصطدم به الفوتونات. والكاشف المثالي يعطي إشارة تتناسب طردياً مع طاقة الإشعاع الواقع عليه كما يجب أن يتضمن مقدار عالي من نسبة (الإشارة إلى الضوضاء) وأيضاً يجب أن تكون له استجابة ثابتة إلى الأشعة المختلفة الطول الموجي

حتى يمكن الاستفادة منه في مدى واسع من طيف الأشعة. تتوفر حالياً عدة أنواع وتصاميم من كاشفات الأشعة. ومن أكثر الأنواع شيوعاً واستخداماً في الاسبكتروفوتومترات الحديثة هما كاشف الصمام الضوئي phototube وكاشف الصمام الضوئي المضاعف photomultipher tube وهذان النوعان يعملان على تحويل الطاقة المرتبطة بالفوتونات إلى تيار كهربائي. ويتكون الصمام الضوئي من قطب سالب (cathode) وقطب موجب anode في أنبوب شفاف (انظر الشكل رقم ١١,١٠ - أ). عندما تقع الفوتونات على سطح الانبعاث على الكاثود ينتج انبعاث للإلكترونات ومن ثم يتم تجميع الإلكترونات الحرة على الأنود. والنتيجة النهائية هي تكوين تيار كهربائي يمكن قياسه. إن عدد الإلكترونات المنبعثة من الكاثود وقوة التيار الكهربائي الناتج عن ذلك يتناسب طردياً مع عدد الفوتونات أو طاقة الإشعاع الخارج من موحد الأطوال الموجية. ويشبه تصميم كاشف الصمام المضاعف الضوئي نفس تصميم كاشف الصمام الضوئي.



الشكل رقم (١١,١٠). رسم تخطيطي لتصميم الصمام الضوئي (أ) والصمام الضوئي المضاعف (ب).

ولكن في تصميم الصمام المضاعف الضوئي هناك تضخيم لعدد الإلكترونات التي يتم تجميعها على الأنود لكل فوتون يصطدم بسطح الانبعاث للكاثود. إن الإلكترونات التي تنبعث أصلاً من سطح الكاثود تنجذب إلى أنود ثنائي dynode له شحنة موجبة نسبياً. وترتطم الإلكترونات بسطح الأنود الثنائي مسببة انبعاثاً لمزيد من الإلكترونات والنتيجة هي مضاعفة للإشارة. وهكذا يستمر تضخيم الإشارة مع مضاعفة عدد الإلكترونات لكل أنود ثنائي (يحتوي أنبوب المضاعف الضوئي عادة على سلسلة من الأنودات الثنائية) ويستمر هذا التتابع حتى تتجمع الإلكترونات المنبعثة من آخر أنود ثنائي على أنود أنبوب الصمام المضاعف الضوئي. والمحصلة النهائية قد تكون في حدود ١٠٦ إلى ١٠٧ إلكترونات مجمعة لكل فوتون واحد.

الإشارة الخارجة من الكاشف، عادة، تتضخم ثم تعرض في الشكل الذي يريده المحلل. وهذا الشكل يعتمد على درجة تعقيد النظام. وفي أبسط صورة تعرض الإشارة على مقياس التمثيل analog meter عن طريق إبرة تتحرك على سطح معاير على نسبة مئوية نفاذية أو امتصاصية. إن مقياس التمثيل قد يكون كافياً لكثير من التحاليل الروتينية ولكن لها عيوب مثل صعوبة القراءة مقارنة بالمقاييس الرقمية ولهذا فهي أقل دقة من القراءة على الأجهزة الرقمية. وتعرض القياسات الرقمية كأرقام أو أعداد على سطح المقياس. كثير من الأجهزة الحديثة تحتوي على معالج دقيق microprocessor يستطيع معالجة الإشارة وتحويلها إلى أرقام في وحدات النفاذية أو الامتصاصية أو التركيز بعد أن تتم معايرة الجهاز مع محاليل مرجعية مناسبة.

(١١,٦,١) تصميم الجهاز Instrument Design

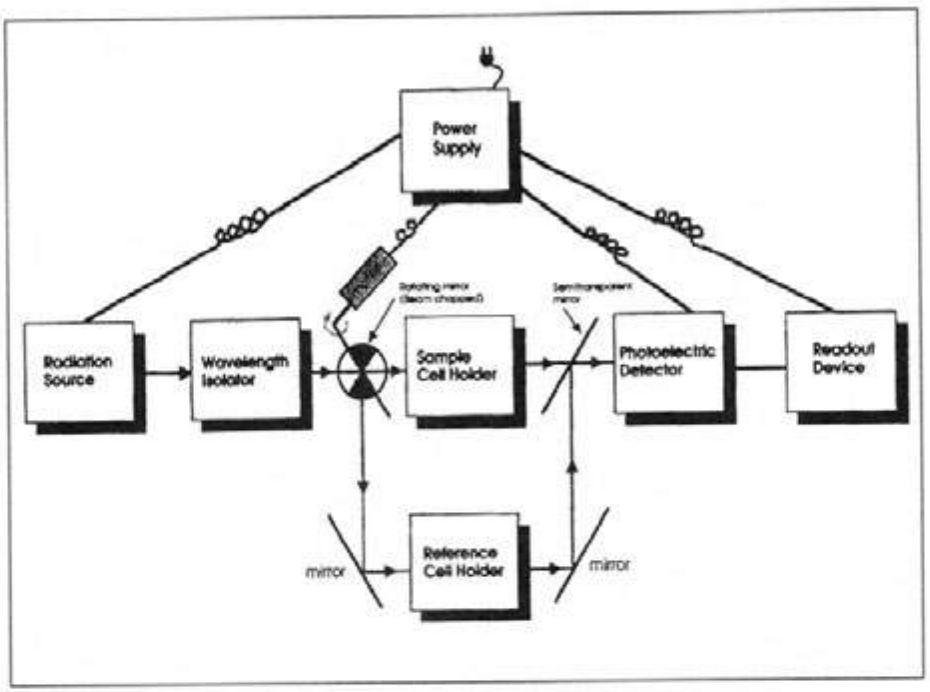
هناك نظامين رئيسيين يمكن بواسطتها ترتيب أجزاء جهاز الطيف Spectrophotometer. فهي إما أن تكون نظام آحادي الحزمة single-beam system أو تكون نظام ثنائي الحزمة double-beam system.

(١١,٦,٢) النظام آحادي الحزمة

في هذا النظام يتم ترتيب أجزاء جهاز الطيف كما هو موضح في الشكل رقم (١١,١٠) حيث تسير الأشعة من المصدر إلى الكاشف عبر مسار واحد. عند استخدام هذا النظام يقيس المحلل، عادة، النفاذية للعينة بعد أن يثبت نسبة الـ 100%T أو الـ Po بواسطة عينة مرجعية أو البلانك. ثم تقرأ العينة تعاقبياً مع البلانك نسبة لوجود مسار ضوء واحد يمر عبر خلية ضوئية واحدة. يمكن استعمال هذا النظام مع طرق الانبعاث الطيفي ولكنه لا يصلح لطرق الامتصاص الطيفي لعدة أسباب منها أن هذا النظام يقيس مجموع الأشعة المفقودة وليس فقط الجزء الممتص بواسطة المادة حيث إن الأشعة قد تفقد عن طريق السطوح العاكسة أو تمتص بواسطة المذيب أو المواد الأخرى الموجودة مع المادة المراد تحليلها.

(١١,٦,٣) النظام ثنائي الحزمة

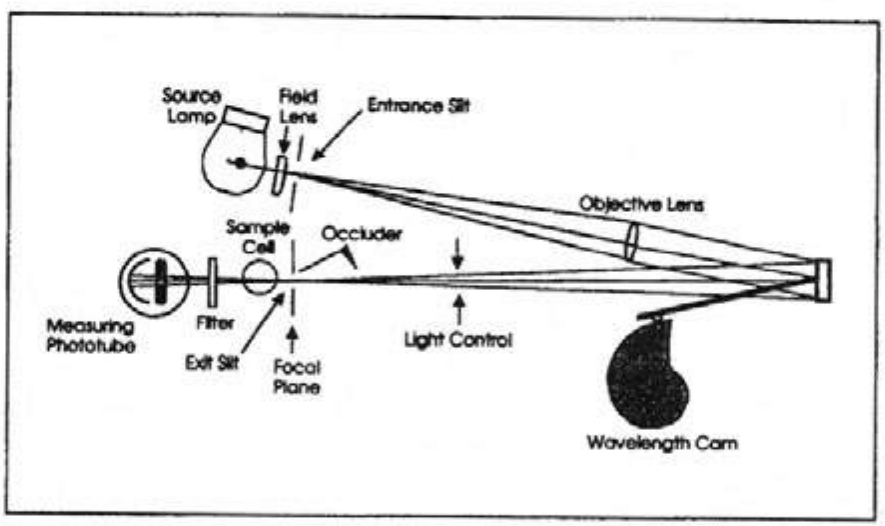
في هذا النظام تنقسم الحزمة حيث يذهب نصف الحزمة ليمر عبر وعاء العينة ويذهب الجزء الآخر ليمر عبر وعاء البلانك. وفي هذا التصميم تمر الحزمة بالتناوب بين وعاء العينة ووعاء البلانك زمنياً بواسطة مرآة دوارة. ويمكن تصميم النظام ثنائي الحزمة المحلل من قياس ومقارنة امتصاصية العينة والبلانك في نفس الوقت. وميزة هذا النظام أيضاً هي أنه يعادل بين الانحرافات في مصدر الأشعة أما عيوبه فهي أن طاقة الضوء الساقط تنقص نسبة لذلك الانقسام. هذا النقص في الطاقة يرتبط بتدني نسبة الإشارة إلى الضوضاء (الشكل رقم ١١,١١).



الشكل رقم (١١,١١). علاقة الأجزاء المختلفة لجهاز الاسبكتروفوتومتر ذو النظام ثنائي الحزمة.

يمثل جهاز اسبكترونيك ٢٠ (Spectronic ®20) الاسبكتروفوتومتر البسيط الذي يعمل بالنظام آحادي الحزمة. يمر الضوء المنبعث من مصدر الأشعة خلال موحد الطول الموجي ومن فتحة الخروج بهذا الجهاز تشتت الأشعة إلى طيف بواسطة محزوز الحيود. والإشعاع الخارج من موحد الطول الموجي يمر خلال وعاء العينة ويقع على الصمام الضوئي منتجاً تياراً ضوئياً يتناسب طردياً مع قوة الإشعاع على الصمام الضوئي. وتعمل العدسات (الموضحة في الشكل رقم ١١,١٢) على نظام متتالي لتركيز الضوء على المستوى البؤري الذي يحتوي على فتحة الخروج. ولتغيير

الجزء الخارج من الطيف الذي يخرج من موحد الطول الموجي يجب تدوير محزوز الانعكاس بواسطة كامة تحويل الطول الموجي wavelength cam، ويعمل قفل متحرك على حجز الضوء من المرور عبر موحد الطول الموجي عندما لا يكون هناك وعاء للعينة أو البلانك مما يمكن من ضبط نسبة النفاذية على صفر. ويقوم حاجب ضبط الضوء light control occluder على ضبط طاقة الإشعاع الخارجة من موحد الطول الموجي. ويتكون حاجب ضبط الضوء على شريط معتم مع فتحة في شكل حرف الـ V يمكن تحريكها لحجب الضوء أو مروره. ومهمة هذا الحاجب هو ضبط نسبة النفاذية إلى ١٠٠٪ عندما يكون وعاء المحلول المرجعي (بلانك) في الجهاز (انظر الشكل رقم ١١,١٢).



الشكل رقم (١١,١٢). جهاز الاسبكترونيك ٢٠ (Spectronic 20).

الفصل الثاني عشر

الاستيطاف الامتصاصي الذري والانبعاثي الذري

Atomic Absorption and Emission Spectroscopy

(١٢,١) مقدمة

تستخدم الطرق التقليدية أحياناً في تقدير المعادن الرئيسة (Major elements) في الأغذية كالصوديوم والكالسيوم والبوتاسيوم والفوسفور والماغنسيوم والكبريت. ويشمل هذه الطرق عمليات الهضم والترميد للعينة المراد تحليلها ثم تليها خطوات ترسيبية أو تسحيحية أو لونية، ولكن مثل هذه الطرق تصبح عديمة الفائدة عندما نرغب في تقدير المعادن النادرة (Trace elements) كالحديد والمنغنيز والزنك والنحاس والكوبلت والفلوريد واليود والموليبدنيوم والسلينيوم الضرورية للإنسان أو لتقدير المعادن السامة كالرصاص والزئبق والنيكل. وبما أن هذه المعادن توجد بكميات ضئيلة جداً لذا فإنه يجب استعمال طرق أخرى أكثر حساسية من الطرق السابقة كالتحليل باللهب والامتصاص الذري وانبعاث الوميض وأشعة إكس وطريقة التنشيط النيوتروني.

(١٢,٢) الأساس العلمي

تقيس أجهزة الامتصاص الذري كمية الأشعة الكهرومغناطيسية الممتصة بواسطة ذرات المادة في الحالة الغازية بينما تقيس أجهزة الانبعاث الذري كمية انبعاث

الأشعة من الذرات التي تتم إثارتها بواسطة الحرارة أو أي طرق أخرى. ويتفوق الإستيطاف الذري على بقية الطرق الأخرى في القياسات التحليلية لأن الطيف الذري يحتوي على خطوط متميزة وكل عنصر له طيف مميز خاص به، كذلك يمكن بسهولة تشخيص وتقدير العناصر المختلفة بدقة بالغة حتى في وجود ذرات من عناصر أخرى.

(١٢,٣) منشأ الطيف الذري

ينتج طيف الامتصاص الذري عندما تمتص الذرات (أو الأيونات) التي تكون في حالة الاستقرار (Ground state)، الطاقة من مصدر إشعاع. أما طيف الانبعاث الذري فينشأ عندما تبعث الذرات المتهيجة (Excited atoms) الطاقة عند رجوعها إلى حالة الاستقرار. يؤدي امتصاص فوتون (Photon) من الإشعاع إلى أن يقفز واحد من الإلكترونات الموجودة في المدار الخارجي للذرة إلى مستوى طاقة أعلى ناقلاً الذرة إلى حالة التهيج (Excited state)، والذرة المتهيجة تبقى على هذه الحالة لفترة زمنية تقدر بـ ١٠^-٨ من الثانية ثم تعود بعدها إلى حالة الاستقرار وعند رجوعها تبعث فوتونات من الأشعة ثم تستقر. وتمتص الذرات الأشعة أو تبعثها بأطوال موجية مميزة لأن مستويات الطاقة المسموح للإلكترونات الانتقال إليها في المدارات حول الذرات ثابتة ومحددة (ليست عشوائية). إن التغير في الطاقة والمرتبط بالانتقال بين اثنين من مستويات الطاقة هو مرتبط ارتباطاً مباشراً بتردد (Frequency) الإشعاع الممتص وتوضح ذلك العلاقة التالية:

$$E_e - E_g = h\nu \qquad (١)$$

= حيث:

E_e = الطاقة في حالة التهيج

E_g = الطاقة في حالة الاستقرار

h = ثابت بلانك (Plank's constant)

ν = مقدار التردد (frequency)

وبإعادة ترتيب المعادلة رقم (١) نتحصل على:

$$\nu = (E_e - E_g) / h \qquad (٢)$$

وبما أن $\nu = c/\lambda$

فيمكن كتابة المعادلة كالتالي:

$$\lambda = hc/(E_e - E_g) \qquad (٣)$$

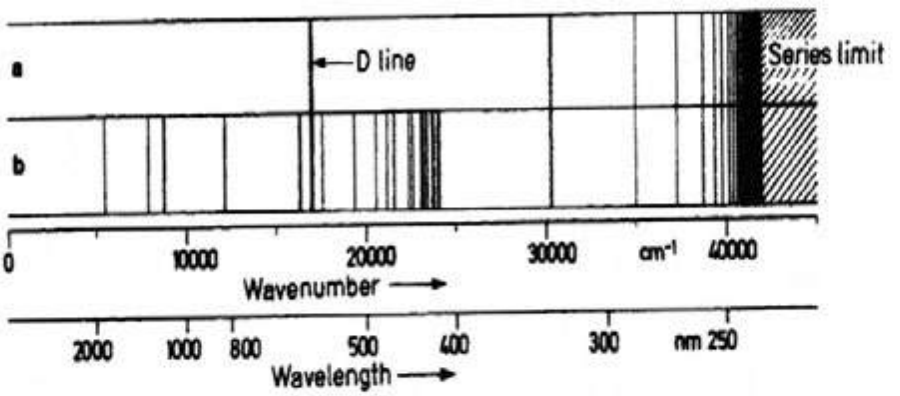
حيث :

c = سرعة الضوء

λ = طول الموجة الصوتية للأشعة الممتصة أو المنبعثة

المعادلات السابقة تبين بوضوح أنه لكل انتقال إلكتروني معين يكون هناك امتصاص أو ابنعاث للأشعة بطول موجي مميز. ولكل عنصر مجموعة فريدة (unique) من الانتقالات الإلكترونية المسموح بها ومن ثم لكل عنصر طيف فريد. ويوضح الشكل رقم (١٢,١) طيفي الامتصاص والانبعاث لعنصر الصوديوم.

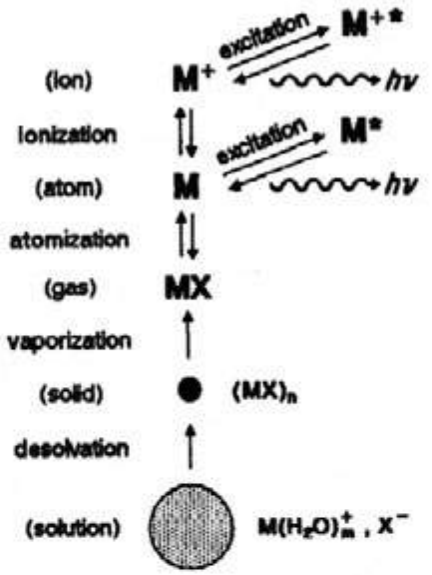
بالنسبة للامتصاص فإن الانتقالات تتضمن أولاً تهيج الإلكترونات في حالة الاستقرار لذلك نجد أن عدد الانتقالات محدوداً وبالمقابل فإن الانبعاث يحدث عندما ترجع الإلكترونات المهيجة إلى مستويات الطاقة الأدنى حيث تشمل، ولكن لا تقتصر على، حالة الاستقرار. ولذلك نجد أن عدد الخطوط في طيف الانبعاث أكبر من عددها في طيف الامتصاص..



الشكل رقم (١٢,١). طيف عنصر الصوديوم، والشكل (a) هو طيف الامتصاص والشكل (b) هو طيف الإنبعاث.

(١٢,٤) التذرية (فصل العنصر إلى ذراته) Atomization

يتطلب الاستيطاف الذري أن تكون ذرات العنصر، المراد تحليله، في الحالة الذرية (وليست مرتبطة بعناصر أخرى في صورة مركب) وأن تكون الذرات نفسها مفصولة عن بعضها البعض. وفي الأغذية فإن جميع العناصر تقريباً موجودة في شكل مركبات أو معقدات لذلك يجب فصلها إلى ذرات قبل عمل قياسات الطيف الامتصاصي أو الانبعاثي. وتتضمن عملية التذرية (atomization) فصل الجسيمات (particles) إلى جزيئات فردية (بالتبخير) ومن ثم تكسير تلك الجزيئات إلى ذرات، ويحدث ذلك عادة بتعريض المادة المراد تحليلها لدرجة حرارة عالية بواسطة اللهب أو البلازما أو أي طرق تسخين أخرى. ويتم تعريض محلول يحتوي على المادة المراد تحليلها للهب أو البلازما على صورة رذاذ حيث يتبخر المذيب بسرعة ويترك جسيمات المادة المراد تحليلها والتي يتم تحويلها إلى بخار ثم تتحلل إلى ذرات تمتص الأشعة (الامتصاص الذري) أو تتهيج ثم تبعث أشعة هي الأخرى (الانبعاث الذري)، والشكل رقم (١٢,٢) يوضح هذه العملية.



الشكل رقم (١٢,٢). رسم تخطيطي لعملية تذرية لعنصر M في لهب أو بلازما وتمثل الدائرة العريضة في أسفل الرسم نقطة صغيرة من محلول يحتوي على العنصر (M) والذي يكون جزءاً من مركب ما.

وهناك ثلاثة طرق لتذرية العينات توضح في الجدول التالي:

جدول (١٢,٢). طرق تذرية العينات.

مصدر الطاقة الذرية	درجة حرارة التذرية (م*)	طريقة التحليل
اللهب flame	٣١٥٠-١٧٠٠	استيطاف الامتصاص الذري (AAS) استيطاف الانبعاث الذري (AES)
حراري كهربائي Electrothermal	٣٠٠٠-١٢٠٠	فرن الاحتراق الجرافيتي AAS
بلازما الارجون الحثية Indictively coupled argon plasma	٨٠٠٠-٦٠٠٠	بلازما الارجون مع استيطاف الانبعاث الذري AES–ICP

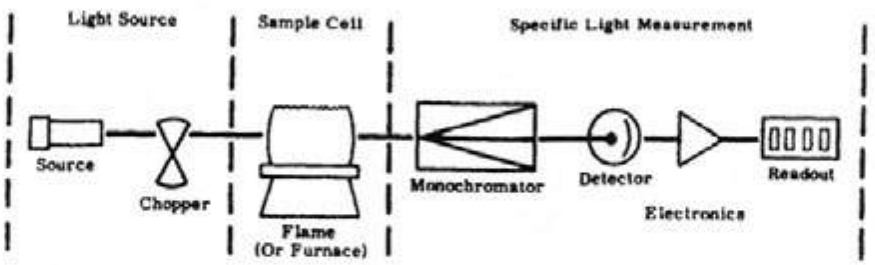
(١٢,٥) استيطاف الامتصاص الذري (AAS)

قياس طنين الامتصاص الذري (AAS) هو أحد طرق التحليل التي تعتمد على امتصاص الإشعاع فوق البنفسجي (Ultraviolet) أو المرئي (Visible) بواسطة ذرات غير مرتبطة في الحالة الغازية. وهذه الطريقة سهلة نسبياً ويمكن إجراؤها على أجهزة نسبياً غير مكلفة (يتراوح سعرها من ١٥ ألف إلى ٥٠ ألف دولار) وينتشر استخدامها بصورة واسعة في تحليل الأغذية. وهناك طريقتان للتذرية يشيع استخدامها في الاستيطاف الامتصاصي الذري: التذرية باللهب (Flame atomization) والتذرية بالتسخين الحراري الكهربائي (فرن الاحتراق الجرافيتي) (Electrothermal atomization).

(١٢,٦) مبادئ الاستيطاف الامتصاصي الذري بواسطة اللهب

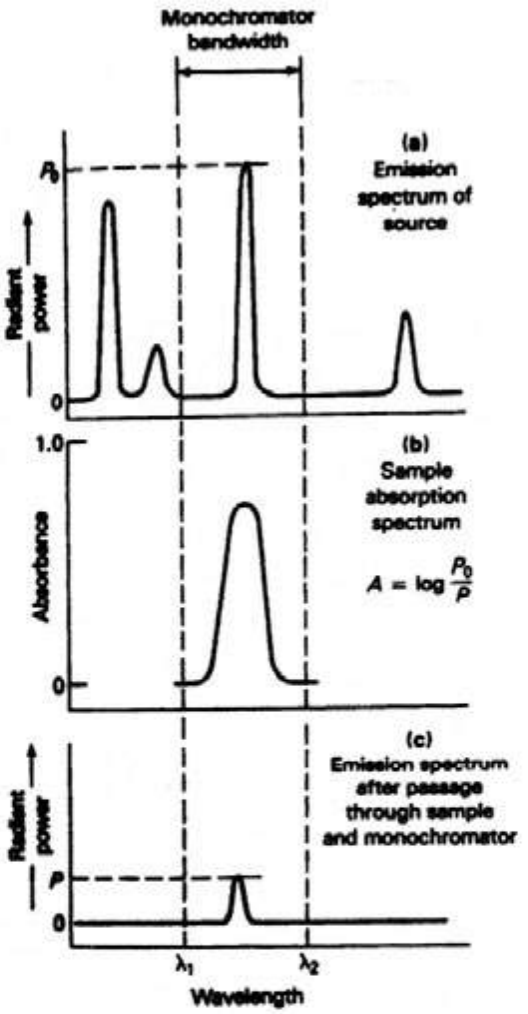
يوضح الشكل رقم (١٢,٣) مخططاً مبسطاً لجهاز الاستيطاف الامتصاصي الذري بواسطة اللهب. في هذا الجهاز يستخدم نظام المذرية – المشعل (Nebulizer – burner system) لتحويل محلول العينة إلى بخار من الذرات. يجب ملاحظة أن تكون العينة في شكل محلول مائي، قبل تحليلها بمطياف الامتصاص الذري باللهب. أولاً تتم تذرية محلول العينة (إلى قطيرات متناهية الصغر) ثم تخلط مع الوقود والمؤكسد ثم تحرق في اللهب الناتج عن أكسدة الوقود. وتتكون ذرات وأيونات في أكثر الأجزاء حرارة من اللهب نتيجة تفكك المركبات المراد تحليلها بواسطة درجات الحرارة العالية. ويقوم اللهب نفسه بدور وعاء العينة، وتكون لدرجة حرارته أهمية بالغة في كفاءة تحويل المركبات إلى ذرات وأيونات وفي توزيع هذه الذرات والأيونات في اللهب. إن ذرات وأيونات نفس العنصر تنتج أطياف مختلفة والمطلوب هو اختيار درجة حرارة اللهب بحيث تزيد من عدد الذرات إلى أقصى حد ممكن أو تقلل، في

نفس الوقت، من عدد الأيونات إلى أدنى حد ممكن. وبما أن إنتاج الذرات والأيونات كليهما يزيد بارتفاع درجة حرارة اللهب لذلك يصبح اختيار اللهب المناسب من الصعوبة بمكان. يمكن معالجة خصائص اللهب بالاختيار الصحيح للمؤكسد والوقود وبضبط نسبة المؤكسد للوقود، وأكثر التركيبات شيوعاً في الاستعمال هي الهواء – الاستيلين وأكسيد النيتروز – الاستيلين.



الشكل رقم (١٢,٣). مخطط مبسط لمطياف الامتصاص الذري آحادي الحزمة.

وبمجرد تذرية العينة في اللهب يمكن قياس كميتها بواسطة مقدار توهين (Attenuation) حزمة الأشعة المارة خلال اللهب. ولتكون القياسات محددة لعنصر معين يتم اختيار مصدر الأشعة بحيث تحتوي الأشعة المنبعثة على خط انبعاث يتوافق مع أحد خطوط الطيف لذلك العنصر. ويتم هذا بتصنيع لمبات يعمل العنصر المراد تقديره فيها ككثود. وهكذا تكون الأشعة المنبعثة من اللمبة هي بمثابة طيف الانبعاث لذلك العنصر. ويتم عزل خط الانبعاث المعين بواسطة إمرار حزمة الإشعاع خلال مفرد الضوء (Monochromator) بحيث لا يصل إلى الكاشف إلا إشعاع ذو نطاق ضيق من الأطوال الموجبة. وعادة ما يتم اختيار أحد أقوى خطوط الطيف. فمثلاً في حالة الصوديوم يضبط مفرد الضوء لتمرير إشعاع ذو طول موجي قدره ٥٨٩ نانوميتر، ويوضح الشكل رقم (١٢,٤) قاعدة هذه العملية:



الشكل رقم (١٢,٤). مخطط توضيحي لامتصاص الأشعة بواسطة عينة أثناء عمل قياسات بواسطة جهاز الامتصاص الذري: يظهر طيف مصدر الإشعاع في (a)، وأثناء مرور الإشعاع عبر العينة (b) يتم امتصاصه جزئياً بواسطة العينة، ويكون الامتصاص متناسباً مع تركيز العينة في اللهب، وتقل قوة الإشعاع لأنه يمتص بواسطة العينة (c).

لاحظ أن شدة الإشعاع الخارج من اللهب أقل من شدة الإشعاع القادم من المصدر، وذلك لأن ذرات العينة في اللهب قد امتصت جزء من الإشعاع. كما أن عرض حزمة الإشعاع القادم من المصدر أضيق من حزمة الإشعاع في طيف الامتصاص وذلك لأن درجة الحرارة العالية للهب تسبب اتساعاً في قطر خط الحزمة.

تحسب كمية الإشعاع الذي تمتصه العينة بواسطة قانون بير (Beer's Law):

$$A = \log (I_o/I) = abc \qquad (٤)$$

حيث إن:

A = الامتصاصية

I_o = شدة الإشعاع الساقط على اللهب

I = شدة الإشعاع الخارج من اللهب

a = معامل الامتصاص الجزيئي

b = طول المسار الضوئي خلال اللهب

c = تركيز الذرات في اللهب

ويظهر بوضوح، من هذه المعادلة، أن الامتصاصية تتناسب طردياً مع تركيز الذرات في اللهب.

(١٢,٧) التركيب العام لأجهزة استيطاف الامتصاص الذري

تتكون أجهزة قياس طيف الامتصاص الذري من المكونات التالية:

١- مصدر الإشعاع: ويتكون عادة من لمبة كاثود مفرغة (Hollow cathode lamp).

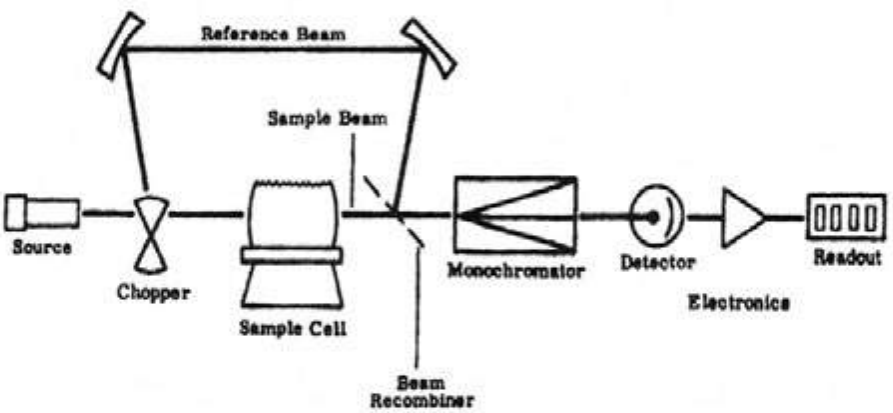
٢- المذرة (atomizer): وعادة ما يستخدم نظام المذرة/ المشعل أو فرن الاحتراق الجرافيتي.

٣- مفردة الضوء (monochromator): وعادة ما تكون النظام فوق البنفسجي/ المرئي (UV-Vis).

٤- الكاشف: وعادة ما تكون أنبوب المضاعف الضوئي (photo-multiplier).

٥- وحدة القراءة: رقمية أو متماثلة.

الشكل العام لجهاز قياس طيف الامتصاص الذري (مزدوج الحزمة) موضح في الشكل رقم (١٢,٥) التالي:



الشكل رقم (١٢,٥). رسم تخطيطي لجهاز مطياف الامتصاص الذري (ذو الحزمة المزدوجة).

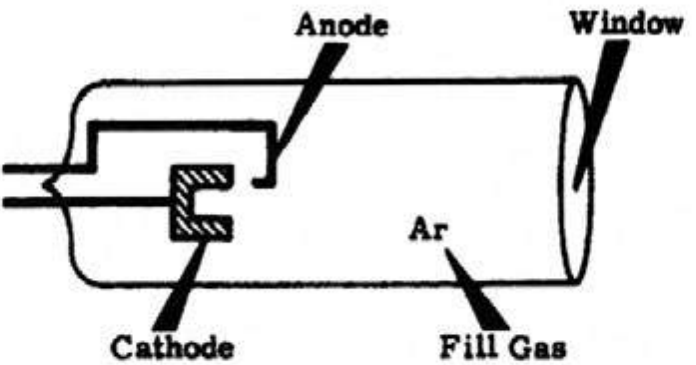
في هذه الأجهزة ذات الحزمة المزدوجة تقوم قاطعة مقاومة ذات حرارة متجزئة حزمة الضوء الخارجة من لمبة الكاثود المفرغة (مصدر الإشعاع) إلى حزمة مرجعية وحزمة العينة. وتنحرف الحزمة المرجعية حول وعاء العينة ثم تتحد مع حزمة العينة قبل أن تمر من مفردة الضوء. وتصمم الإلكترونيات الموضوعة أمام الكاشف بحيث تنتج نسبة معينة للحزمة المرجعية وحزمة العينة، وبهذا تنتج إشارة ثابتة ومستقرة.

١- مصدر الإشعاع

مصدر الإشعاع في أجهزة الامتصاص الذري هو مصباح أو لمبة الكاثود المفرغة (hollow cathode lamp) . وتحتوي هذه اللمبات على أنبوب مفرغ يملأ بغاز الآرجون (argon) أو النيون (neon) مع قطب الأنود المصنوع من التنجستون (tungsten) وقطب الكاثود المصنوع من نفس جنس المعدن المراد تقديره.

وعند إمرار الفولتية عبر القطبين يطلق المصباح إشعاعاً له نفس خواص مصدر الكاثود. فإذا كان الكاثود مصنوعاً من الحديد يتم انبعاث طيف الحديد. وعندما يمر هذا الإشعاع خلال لهب يحتوي على ذرات العينة تمتص ذرات الحديد في اللهب بعضاً منه لأنه يحتوي على حزمة لها الطاقة المناسبة لتهيج ذرات الحديد. وهكذا فإن لكل عنصر مصباحاً (لمبة) خاصة به، بينما توجد بعض اللمبات التي تحوي كاثودات مصنوعة من عدة عناصر لهذا يمكن تقدير أكثر من عنصر بنفس اللمبة.

إن الإشعاع الذي يصل إلى مفردة الضوء (monochromator) يأتي من مصدرين: حزمة الإشعاع الموهنة (attenuated) القادمة من كمية الكاثود المفرغة ومن الذرات المتهيجة في اللهب. وتصمم الأجهزة لتميز بين هذين المصدرين إما بواسطة تعديل أو تضمين اللمبة بحيث يتردد الناتج بتردد ثابت أو بوضع قاطع متعامد مع مسار الضوء بين المصدر واللهب (انظر الشكل رقم ١٢,٦) والقاطع(Chopper)عبارة عن قرص منزوعة عنه بعض الفصوص (segments)، ويدار هذا القرص على سرعة ثابتة ولهذا فإن حزمة الضوء التي تصل إلى اللهب تكون على نحو متقطع في فترات منتظمة. أما الإشعاع الواصل من اللهب فيكون مستمراً، لذلك فإن الإشعاع الواصل إلى الكاشف يتكون من مجموعة من إشارات متعاقبة وأخرى مباشرة. وتقوم إلكترونيات الجهاز بطرح الإشارة المباشرة وإرسال الإشارة المتعاقبة فقط إلى القارئة (Readout) وبهذا تحذف مساهمة ابتعاث العناصر الموجودة في اللهب في الإشارة النهائية.



الشكل رقم (١٢,٦). رسم تخطيطي لمصباح الكاثود المفرغ.

٢ – المذرة Atomizer

هناك أنواع من المذرات تستخدم في أجهزة الامتصاص الذري منها مذرة اللهب والمذرة الحرارية الكهربائية.

تتكون مذرة اللهب من مرشة ومشعل (Nebulizer and burner) ويتم تصميم المرشة أو المذرة بحيث تحول محلول العينة إلى رذاذ أو ضباب رقيق. ويتم هذا بشفط محلول العينة خلال أنبوب شعري إلى غرفة يتدفق إليها المؤكسد (Oxidant) والوقود (Fuel). وتحتوي هذه الغرفة على عوارض (Buffles) تقوم بإمداد القطرات الأكبر حجماً تاركة رذاذاً ناعماً جداً والذي يتم حمله إلى اللهب بواسطة مزيج المؤكسد والوقود. وتطرد القطرات الأكبر حجماً إلى قاع غرفة الغازات ثم تصرف إلى خارج الجهاز. يحتوي رأس المشعل على شق ضيق يسمح بخروج لهب طوله في حدود ٥–١٠ سم.

بالإمكان تغيير خواص اللهب وذلك بضبط نسبة المؤكسد إلى الوقود وباختيار المؤكسد والوقود المناسبين. أكثر مخاليط المؤكسد/ الوقود استخداماً هي

الهواء/ استيلين وأكسيد النيتروز/ استيلين مع وجود مخاليط أخرى تستخدم في إنتاج اللهب.

وهناك ثلاثة أجزاء من اللهب:

١- الاحتراق الكلي بحيث يتم احتراق كامل للوقود واستهلاك كامل للمؤكسد ويتميز هذا النوع من اللهب بظهور أهداب صفراء.

٢- المؤكسد ويحتوي على خليط نسبة الوقود به قليلة ويعتبر من أشد اللهب حرارة ويتميز باللون الأزرق.

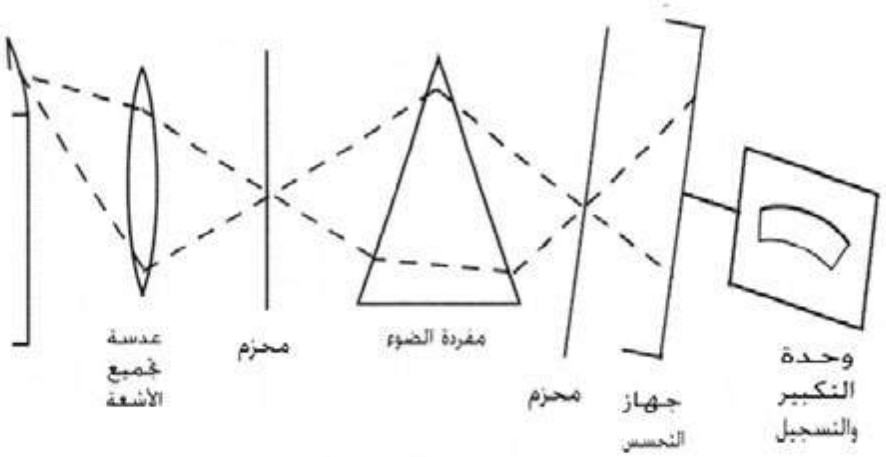
٣- المختزل: ويحتوي على خليط نسبة الوقود به عالية وهو أقل حرارة ولونه أصفر. وتتميز مذرات اللهب بأنها ثابتة ومستقرة وسهلة الاستعمال لكنها أقل حساسية من باقي الأنواع.

٣- مفردة الضوء Monochromator

توضع مفردة الضوء في مسار الضوء بين اللهب والكاشف (انظر الشكل رقم ١٢,٧) ووظيفتها هي عزل خط الإشعاع الرنيني المطلوب من بين باقي الأشعة الواصلة من اللهب والمصباح حتى لا يصل الكاشف إلا الإشعاع ذو الطول الموجي المطلوبة. نموذجياً فإن مفردة الضوء الشبكية هي المستخدمة.

٤- الكاشف/ القارئة Detector/Readout

الكاشف هو عبارة عن أنبوب مضاعف ضوئي (photomultiplier) يقوم بتحويل الطاقة الإشعاعية التي تصل إليه إلى إشارة كهربائية. وهذه الإشارة الضوئية تعالج لتنتج قراءة تماثلية (analog) أو رقمية (digital). والأجهزة الحديثة يمكن ربطها مع أجهزة الكمبيوتر من أجل جمع البيانات وتخزينها.



الشكل رقم (١٢,٧). رسم تخطيطي لجهاز التحليل باللهب ويوضح موقع مفردة الضوء.

(١٢,٨) تطبيقات استيطاف الامتصاص الذري

١- الاستخدامات

تستخدم أجهزة استيطاف الامتصاص الذري من أجل القياسات الكمية للعناصر المعدنية في الأغذية. مبدئياً يجب حرق العينة الغذائية إلى رماد (ash) للتخلص من المواد العضوية ومن ثم تذويب الرماد في مذيب مناسب (عادة ما يكون ماءً أو حامض هيدروكلوريك مخفف) قبل التحليل. ولابد من إتمام عملية الترميد بدقة إذا رغب في الحصول على نتائج دقيقة. بعض العناصر تكون متطايرة (volatile) في درجات الترميد العالية لذلك فإن الترميد الرطب (wet ashing) يكون مناسباً لها. ولاحتمال تلوث كواشف الترميد الرطب بالعنصر المراد تقديره يجب عمل تجربة ضابطة (blank) مع تجربة تقدير العنصر. بعض المواد السائلة يمكن تقديرها بدون الترميد الجاف أو الرطب مثل الدهون والزيوت النباتية.

٢- اعتبارات عملية

١- الكواشف Reagents: بما أن بعض العناصر المعدنية توجد في الأغذية بكميات ضئيلة جداً (trace level) فمن الضروري استخدام كواشف ذات نقاوة عالية جداً ويجب أن يكون الماء مقطر تقطيراً زجاجياً مرتين على الأقل (double distilled) ومؤيناً (ionized) كما يجب عمل تجارب ضابطة لتلك الكواشف.

٣- المحاليل القياسية Standards

تعتمد قراءات الامتصاص الذري على مقارنة قياسات العينة مع محاليل قياسية مناسبة. ومن الأمثل أن تكون تلك المحاليل القياسية بتركيزات قريبة من تركيز العنصر المراد تحليله. ويجب إجراء قياسات لعدد من المحاليل القياسية مختلفة التراكيز لكي يتم عمل منحنى قياسي (standard curve). كما يجب عمل هذه القياسات في كل مرة يجري فيها تحليل للعنصر.

٤- الزجاجيات والبواتق

يجب غسل الدوارق المعيارية والبواتق غسلاً كافياً والتأكد من نظافتها نظافة تامة قبل بدء الترميد وتحضير محاليل العناصر المعدنية وذلك بغسلها بالماء والصابون ثم غسلها بمحلول حمض النتريك المخفف ثم غسلها بحمض الهيدروكلوريك المخفف ثم شطفها بالماء المقطر تقطيراً ثلاثياً (3D water).

(١٢,٩) طريقة التقدير

بينما نجد أن التصميم الأساسي لكل أجهزة الامتصاص الذري متشابهة لكن طريقة التشغيل تختلف من جهاز لآخر. ومعظم كتيبات التشغيل التي تأتي مصاحبة للجهاز عند شرائه تعطي تفاصيل عملية التشغيل مع جداول تسجل قوائم بالشروط المعيارية (الطول الموجي وقطر الفتحات العدسية والتداخلات والخطوات المهمة

لتجنب هذه التداخلات وخصائص اللهب .. الخ) لكل عنصر. أيضاً هناك تعليمات للسلامة خاصة أن الاستيلين غاز قابل للاشتعال.

وفيما يلي طريقة تشغيل عامة لجهاز استيطاف الامتصاص الذري:

١- أدِرْ مفتاح تيار المصباح إلى وضع الإطفاء (off-position).

٢- ركِّب مصباح الكاثود المفرغ في غرفة اللمبات.

٣- أدر مفتاح التيار الكهربائي إلى وضع التشغيل.

٤- إختر قطر فتحات العدسات المناسبة والطول الموجي المناسب.

٥- أشعل اللهب وأضبط معدل سريان المؤكسد والوقود.

٦- أشفط الماء المقطر ثم أشفط البلانك وصفِّر الجهاز.

٧- أشفط المحلول القياسي ثم محلول العينة.

٨- أشفط الماء المقطر.

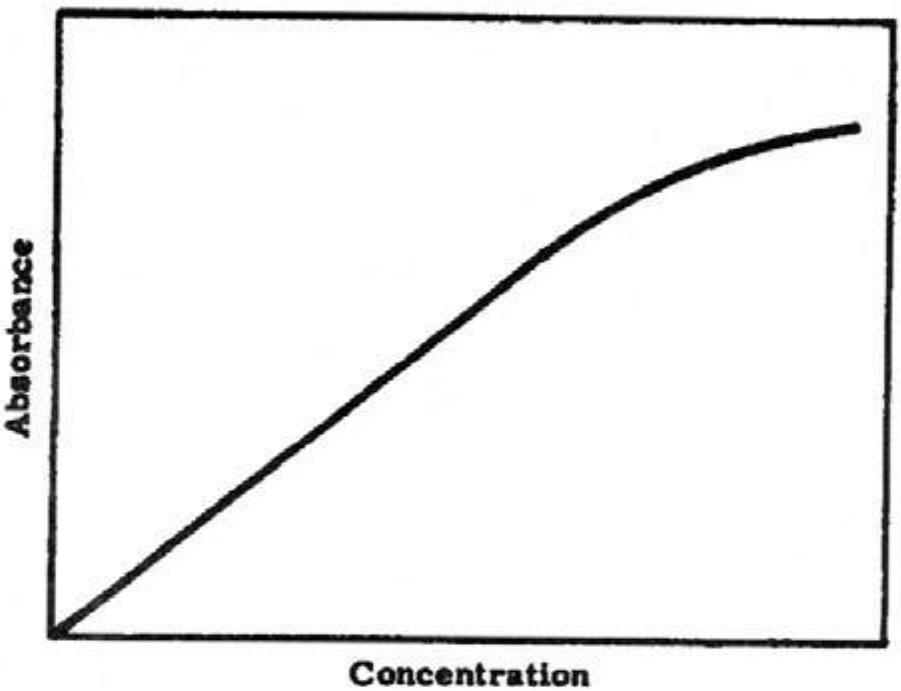
٩- أغلق الجهاز.

(١٢,١٠) المعايرة Calibration

وفقاً لقانون بيير فإن الامتصاصية تتناسب تناسباً طردياً مع التركيز. ولكن في رسم الخط المستقيم للامتصاصية مع التركيز فإن الخط ينحرف ولا يكون مستقيماً عندما يزيد التركيز عن مستوى معين، (انظر الشكل رقم ١٢.٨) لذلك فمن الضروري دائماً معايرة الجهاز باستخدام المحاليل القياسية المناسبة. ويمكن عمل هذا بتحضير عدد من المحاليل القياسية بتركيزات مناسبة ورسم الخط البياني للامتصاصية مع التركيز، أو في حالة الأجهزة الحديثة، برمجة الجهاز ليقرأ مباشرة بوحدات التركيز.

و١- اختيار المحاليل القياسية: إن أول خطوة في المعايرة هي اختيار عدد وتراكيز المحاليل القياسية المستخدمة. عند العمل في المدى الخطي (Linear range)

فيكفي استخدام محلول قياسي واحد. أما إذا زاد تركيز المحلول عن المدى الخطي فيجب استخدام أكثر من محلول قياسي. يجب دائماً أن يكون تركيز المحلول القياسي أكبر من تركيز العينة الأكبر تركيزاً بين العينات.



الشكل رقم (١٢,٨). تسجيل بياني للامتصاصية مع التركيز توضح العلاقة اللاخطية بعد مستوى معين من التركيز.

و٢- الحساسية: تختبر حساسية الجهاز باستخدام محلول قياسي معلوم التركيز. مثلاً كتيب التشغيل لشركة بيركن إلمر ينص على أن المحلول المائي للحديد بتركيز ٥ ملجم/ لتر يعطي قراءة ٠.٢ في مقياس الامتصاصية. فإذا انحرفت قراءة الامتصاصية المقاسة عن هذه القيمة فيجب ضبط الجهاز.

(١٢,١١) التداخلات Interferencers

١- تداخلات الطيف: قد يمتص عنصر آخر في العينة غير العنصر المراد تقديره – قد يمتص على نفس الطول الموجي. ومثال لهذا هو تداخل الحديد في تقديرات الخارصين.

٢- التداخلات غير الطيفية: بعض الجسيمات الناتجة عن عدم إتمام التذرية قد تشتت إشعاع المصدر وبهذا فهي تضعف قوة الإشعاع الواصلة للكاشف ويمكن تجنب هذه المشكلة برفع درجة حرارة اللهب لإتمام التذرية.

الفصل الثالث عشر

طرق الفصل الكروماتوجرافي

المبادئ الأساسية Basic Principles of Chromatography

(١٣,١) مقدمة

كان تأثير التحليل الكروماتوجرافي كبيراً جداً على كل مجالات تحليل الأغذية والأدوية وغيرها وعلى تقدم العلوم بصفة عامة. ويختلف الفصل الكروماتوجرافي عن طرق الفصل الأخرى (مثل طرق التقطير التجزيئي مثلاً) في إمكانية استخدام أنواع عديدة من الأجهزة والمواد وطرق التحليل. وقبل أن ندخل في تفاصيل التحليل الكروماتوجرافي سوف نبدأ بوصف عام لمبادئ طرق الاستخلاص والتي سوف تساعدنا في فهم الفصل الكروماتوجرافي.

(١٣,٢) مصطلحات وتعاريف Definitions

١- المذيب Solvent: سائل يستخدم في الفصل الكروماتوجرافي – قد يستعمل مذيب واحد وقد يكون خليطاً من عدة مذيبات.

٢- نظام المذيب Solvent System: توضيح للصورة الثابتة والصورة المتحركة من المذيبات.

٣- الطور الثابت Stationary Phase: قد تكون ورقة الترشيح أو المادة المالئة لعمود الكروماتوجرافي أو المادة مغلفة بالمذيب غير المتحرك.

٤- الطور المتحرك Mobile Phase: هو المكون المتحرك من نظام المذيب وذلك على الوجه الثابت.

٥- الإظهار Developing: هو عملية الفصل الكروماتوجرافي.

٦- إناء الفصل Developing Vessel: هو الإناء المستخدم في عملية الفصل.

٧- أنبوبة أو عمود الكروماتوجرافي Chromatographic Tube or Column: هو الأنبوب أو العمود الذي يجري به الفصل في حالة التحليل الكروماتوجرافي.

٨- المناطق أو الحزم الكروماتوجرافية Chromatographic Zones or Bands: هي المناطق التي تتجمع أو تنفصل عنها مكونات المخلوط على العمود أو الطبقة أو الورق.

(١٣,٣) الاستخلاص Extraction

ويعني في أبسط صورة انتقال المادة المذابة من طور سائل إلى طور سائل آخر. ويعد الاستخلاص عملية مكملة لتحليل الأغذية في كل مراحله (من تحضير العينة إلى عملية التحليل نفسها). وتتم عملية الاستخلاص بواسطة طرقة الدفعات Batches أو الاستخلاص المستمر Continuous أو طريقة التيار المعاكس Counter Current.

(١٣,٣,١) الاستخلاص بطريقة الدفعات

وهنا تستخلص المادة المذابة من مذيب بخلطه بمذيب آخر ومن ثم رجه على أن يكون هذا المذيب الثاني لا يمتزج مع المذيب الأول Immiscible. تقوم المادة المذابة Solute بتوزيع نفسها بين هذين الطورين وعند الوصول إلى نقطة التوازن Equilibrium يمكن حساب معامل التوزيع Partition Coefficient "K" من المعادلة:

$$K = \frac{\text{تركيز المادة المذابة في الطور الأول}}{\text{تركيز المادة المذابة في الطور الثاني}}$$

تترك الطبقات (الأطوار) لتنفصل في دورق انفصال ومن ثم تسحب الطبقة التي تحتوي على المكوَّن المطلوب. ومن مساوئ هذه الطريقة عدم الفصل الواضح بين الطبقتين لتكون المستحلبات.

(١٣,٣,٢) طريقة الاستخلاص المستمر

وهذه الطريقة تتطلب أجهزة خاصة لكنها أكثر فاعلية من طريقة الدفعات. ويمكن التمثيل لها بجهاز سوكسلت Soxhlet الذي يستخدم في استخلاص المواد السائلة من المواد الصلبة.

(١٣,٣,٣) الاستخلاص بطريقة التيار المعاكس

وتشير هذه الطريقة إلى سلسلة من عمليات الاستخلاص. وتستخدم هذه الطريقة لفصل اثنين أو أكثر من المواد المذابة التي يكون لها معامل فصل مختلفة ويمثل لها بكروماتوجرافيا الوجه السائل.

(١٣,٤) مصطلحات عامة General Terminology

١ - كروماتوجرافيا Chromatography: مصطلح عام يطلق على عدة أنواع من تقنيات الفصل التي تعتمد على تجزئة أو توزيع المادة المذابة بين طورين.

٢ - Solute: المادة المذابة.

٣- الطور المتحرك Mobile Phase: وهو المكون المتحرك في نظام المذيب وذلك على الوجه الثابت. قد يكون غازاً أو سائلاً.

٤ - الطور الثابت Stationary Phase: قد تكون ورقة الترشيح أو المادة المالئة لعمود الكروماتوجراف.

٥ - معامل التجزئة أو الفصل Partition Coefficient (K): نسبة تركيز المادة المذابة في الطور الثابت إلى تركيزها في الطور المتحرك.

٦- الإظهار Development: هو عملية الفصل الكروماتوجرافي.

٧- الحزم الكروماتوجرافية Chromatographic Bands: هي المناطق التي يتجمع أو تنفصل فيها مكونات المخلوط على العمود الكروماتوجرافي.

(١٣,٥) طرق التحليل الكروماتوجرافي

(١٣,٥,١) التحليل الكروماتوجرافي في الطور السائل Liquid Chromatography

وهو عبارة عن تقنية للفصل يتم خلالها فصل المكونات بين طورين هما: الطور الثابت ذو مساحة السطح الكبيرة، والطور المتحرك السائل والذي عادة ما ينساب flows فوق الطور الثابت. والطور الثابت إما أن يكون مادة صلبة نشطة أو سائلاً غير متحرك immobile liquid. وعلى حسب عملية اختيار الطور المتحرك ونوع جزيئات الطور الثابت وكذا ظروف التشغيل تتحرك المكونات المراد فصلها بمعدلات مختلفة مما ينتج عنه عملية فصلها.

هذا ويمكن تقسيم التحليل الكروماتوجرافي في الطور السائل إلى أربعة أنواع رئيسية هي:

(١٣,٥,٢) كروماتوجرافيا الإدمصاص Adsorption Chromatography

في هذا النوع يتكون الطور الثابت من مواد صلبة مسامية أما الطور المتحرك فقد يكون غازاً أو سائلاً. يتم اختيار الطور الثابت (المادة المدمصة) بحيث يسمح بتفاعل تفاضلي مع مكونات العينة تحت التحليل. والقوى المسئولة عن الإدمصاص هي: ١) قوى فاندرفالز Van der Waals forces، و ٢) قوى الكتروستاتية، و٣) روابط هيدروجينية، و ٤) تفاعلات لا تألف الماء.

يعتمد الإدمصاص على درجة التركيز ومعامل الإدمصاص، بعكس معامل التوزيع، لا يكون ثابتاً. والطور الثابت يتكون من السليكا أو الألومينا أو الفحم.

وترتيب الإخراج Elution order للمركبات من هذا الطور يعتمد على القطبية النسبية Relative Polarity لهذه المركبات. فالمركبات التي تحتوي على المجموعات القطبية تحبس على الطور الثابت القطبي Polar لذلك فهي تخرج مؤخراً، بينما تخرج المجموعات غير القطبية أولاً.

(١٣,٥,٢,١) خطوات التحليل

١- انتخاب المادة الحاملة الملائمة

يجب أن تكون متوسطة الخشونة أو النعومة، وعادة ما يستخدم خليط من المواد الحاملة. أكثر المواد استخداماً هي أكسيد الألمونيوم، الفحم، السيليكا، الطين، النشا، التربة الدياتومية، كبريتات الكالسيوم .. الخ.

٢- تجهيز عمود الفصل

تختار الأنبوبة المناسبة في الطول والقطر تبعاً للمواد المراد فصلها والمادة الحاملة، تجهز الأنبوبة بتثبيت قرص مسامي ذي ثقوب وتوضع عليه قطعة من الليف الزجاجي ثم يتم إدخال المادة الحاملة ويضغط عليها بلطف بحيث تسمح بمرور المذيب من خلالها بمعدل سرعة من ٠.٠١ إلى ٠.١ سم/ ثانية.

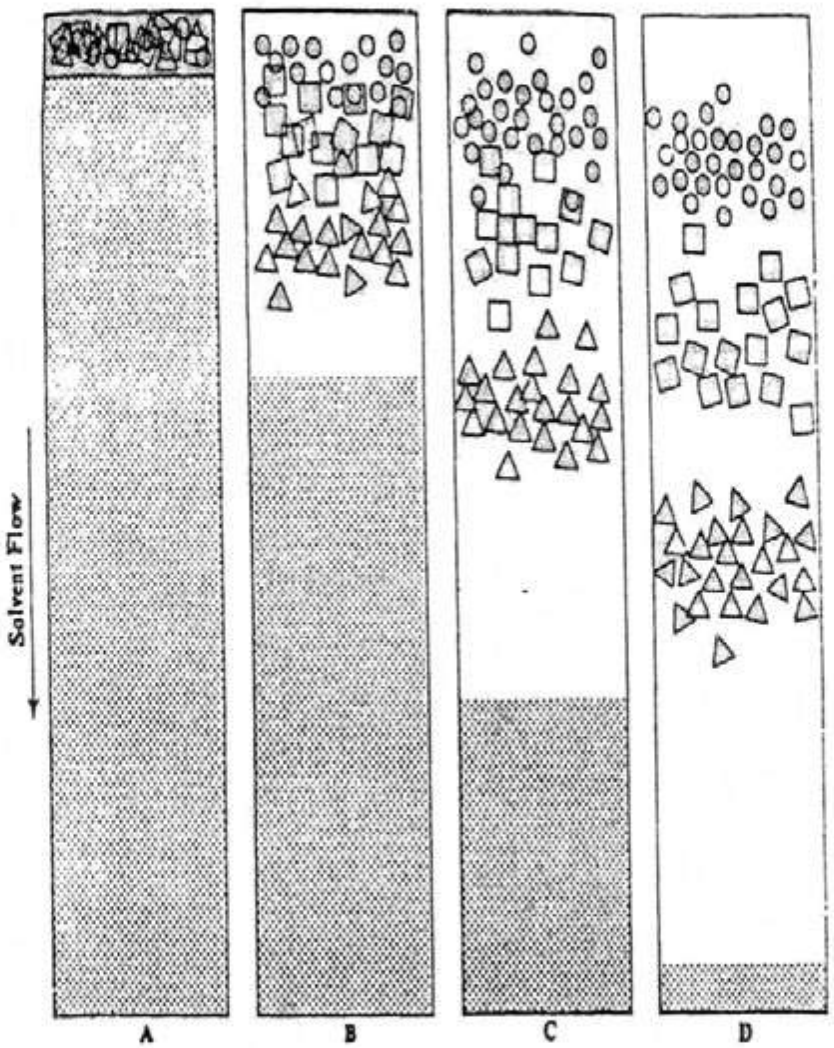
٣- المذيب

وهو السائل الذي يسكب داخل الأنبوبة لكي يظهر الكروماتوجرام في صورة طبقات أو حزم. ويجب أن يكون المذيب نقياً وخالياً من الماء. ومن أهم المذيبات: إيثر البترول، البنزين، الكلوروفورم، حمض الخليك، الأسيتون، الكحول، الماء والبيريدين.

٤- الفصل

يجب ألا يعرض سطح المادة الحاملة إلى الاهتزاز أثناء صب المحلول حتى يمكن الحصول على مناطق فصل محددة لمكونات المخلوط المراد فصله. يجب مراعاة

ألا يترك سطح المادة الحاملة يجف قبل إضافة الجزء الآخر من المحلول أو المذيب حتى لا تتكون فراغات هوائية تعيق مرور المحلول أو المذيب لأسفل.



الشكل رقم (١٣,١). عمود الكروماتوجرافيا.

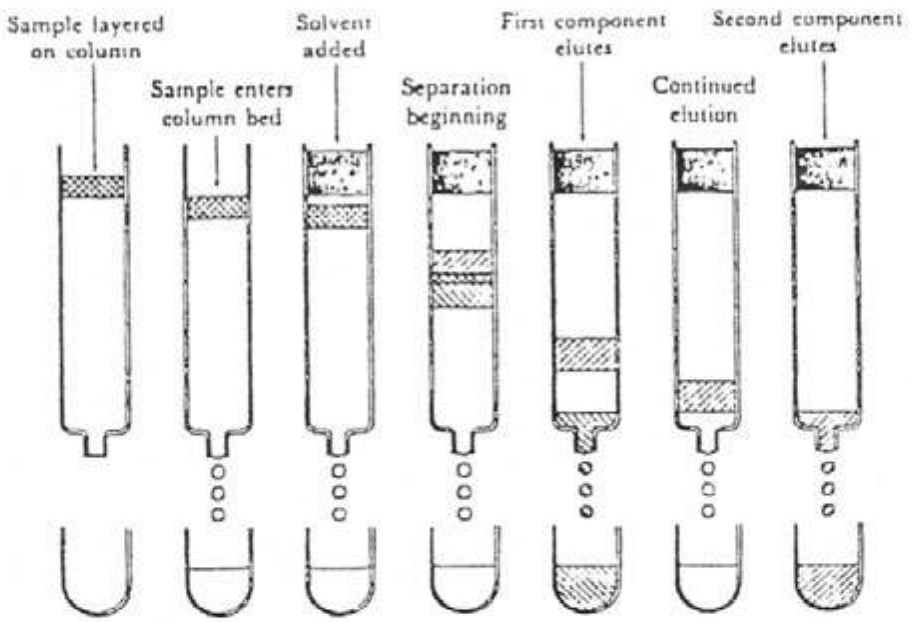
٥- الإظهار

يقصد به الحصول على مناطق واضحة ومحددة ومتباعدة عن بعضها بقدر كاف وذلك بأن تغسل المادة الحاملة بنفس المذيب المستعمل في إذابة المكونات الأصلية ويمكن استخدام مذيب آخر أو خليط من عدة مذيبات.

٦- التعرف على المواد

المواد الملونة مثل الأصباغ يمكن التعرف عليها عن طريق اللون المميز لكل مكون. أما المكونات غير الملونة والمنفصلة على عمود الكروماتوجرافيا فيمكن التعرف عليها بالآتي:

- بواسطة الأشعة فوق البنفسجية UV.
- تكوين مشتقات ملونة مع الجواهر الكشافة المناسبة.
- عن طريق تقدير النشاط الإشعاعي بواسطة الأجهزة المتخصصة.
- يمكن إزاحتها خارج العمود ثم التعرف عليها بواسطة الـ UV أو الجواهر المناسبة.
- استخدام جهاز جامع الطبقات Fraction Collector.
- تقدير خاصة كيماوية مثل الحموضة والقلوية.
- الاستعانة بالطرق الكروماتوجرافية الأخرى.
- تقدير بعض الخواص الكهربائية للمواد المنفصلة أو الاختبارات البيولوجية (الأحياء الدقيقة).



الشكل رقم (١٣,٢). انفصال المخلوط إلى طبقات على عمود الكروماتوجرافيا.

(١٣,٥,٣) كروماتوجرافيا التبادل الأيوني Ion Exchange Chromatography

يمكن بهذه الطريقة فصل: (١) المركبات الأيونية من غير الأيونية (٢) المركبات الكاتونية من المركبات غير الأيونية (٣) المخاليط ذات الشحنات المشتبهة.

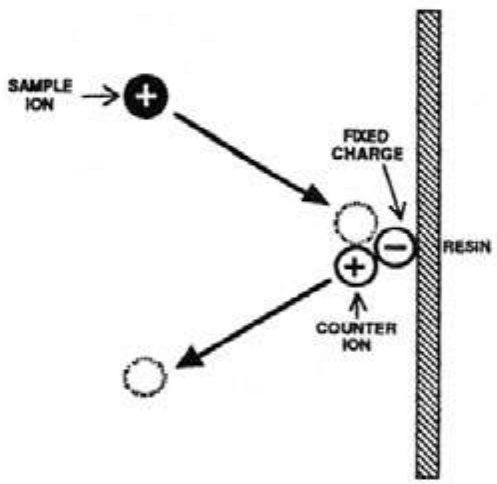
يمكن اعتبار كروماتوجرافيا التبادل الأيوني كنوع من كروماتوجرافيا الادمصاص يكون فيه التفاعل بين المادة المذابة في الطور الثابت ذو طبيعة الكتروستاتية. يحتوي الطور الثابت (المبادل الأيوني) على مجموعات وظيفية ثابتة إما سالبة الشحنة أو موجبة، وهناك أيونات مقابلة (مضادة) تحافظ على جو متبادل من الشحنات. ويقوم الأيون في عينة التحليل بالتبادل مع الأيون المضاد ليكون هو شريك الشحنة الثابتة (انظر الشكل رقم ١٣,٣) ومن ثم يؤسس توازن أيوني في النظام.

وتحدد المجموعات الوظيفية للطور الثابت الشحنات المتبادلة سواء كانت أيونات سالبة أم موجبة. أما مبادلات الأيونات الموجبة فتحتوي على مجموعات وظيفية سالبة الشحنة وذات روابط تساهمية بينما تحتوي مبادلات الأيونات السالبة على مجموعات موجبة الشحنة.

ويمكن تقسيم مواد التبادل الأيوني إلى ما يلي:

١- **مواد تبادل كاتيونية قوية (شديدة الحموضة)**

هذه المجموعة من المواد تحتوي على:



$$M^+ + (Na^+ \ ^-O_3S-\text{Resin}) \rightleftharpoons (M^+ \ ^-O_3S-\text{Resin}) + Na^+$$

M^+ = Cation

$$X^- + (Cl^- \ ^+R_4N-\text{Resin}) \rightleftharpoons (X^- \ ^+R_4N-\text{Resin}) + Cl^-$$

X^- = Anion

الشكل رقم (١٣،٣). رسم تخطيطي يبين طريقة التبادل الأيوني.

٢- مجموعة السلفونيك Sulphonic group (SO^-_3)

هذه المجموعة من مواد التبادل الكاتيوني ثابتة ضد الأحماض والقواعد والمذيبات والمواد المؤكسدة والمختزلة. وهي عادة تستخدم في تحليل الأملاح حيث يتحد الكاتيون مع مادة التبادل ويزال الأنيون في صورة حامض مع ماء الغسيل لمادة التبادل.

٣- مواد تبادل أنيونية قوية (شديدة القلوية)

هذه المواد تحتوي على مجموعة أمونيوم (مجموعة الأمونيا الرباعية) وهذه المجموعة ثابتة ضد الأحماض والقلويات والمذيبات والمواد المؤكسدة والمختزلة – تقوم هذه المجموعة بتحليل الأملاح حيث تتحد الأنيونات مع مادة التبادل الأيوني بينما يمكن التخلص من الكاتيون في عملية الغسيل لمادة التبادل.

$$R^- H^+ + M^+ \rightleftharpoons R^- M^+ + H^+ \text{ (Cation)}$$

$$R^+ OH^- + Cl^- \rightleftharpoons R^+ Cl^- + OH^- \text{ (Anion)}$$

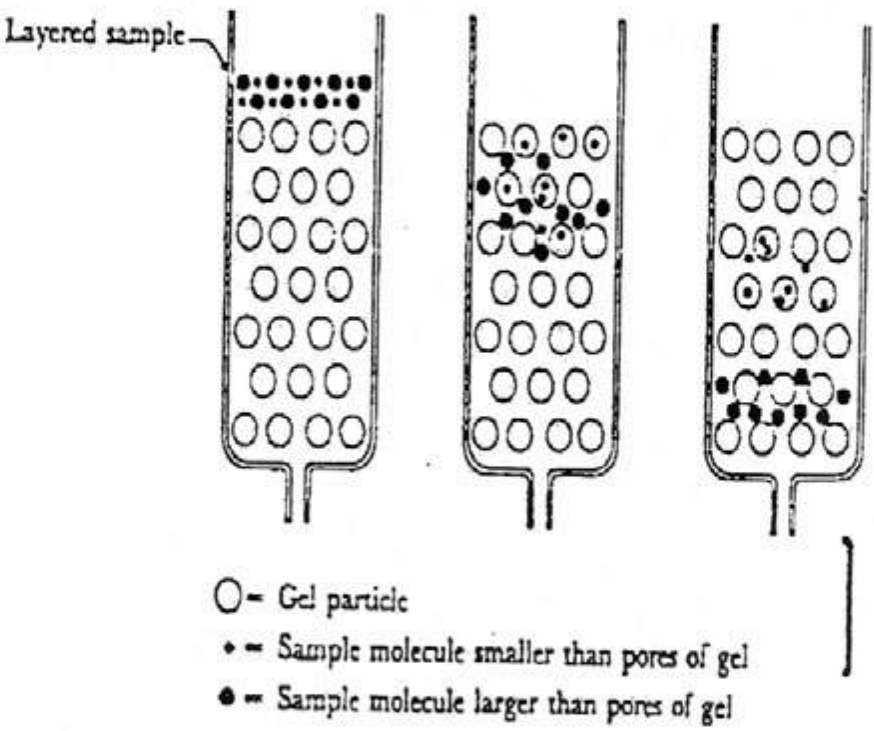
٤- مواد تبادل أنيونية متوسطة (قلوية)

هذه المواد تحتوي على مجموعات أمينية. ولقد أمكن بواسطة التحليل الكروماتوجرافي عن طريق تبادل الأيونات في فصل الببتيدات الحامضية أيضاً الجلوتاثيون، الأحماض الأمينية – وكذلك عزل الكاتيونات والأنيونات من الماء للحصول على الماء النقي الخال من الأملاح.

(١٣,٥,٤) الكروماتوجرافيا الجيلية Gel Chromatography

الكروماتوجرافيا الجيلية هي أسهل أنواع الكروماتوجرافيا أهمية وأداءً. وتستخدم بكثرة في العلوم البيولوجية لفصل الجزئيات الكبيرة نسبياً مثل البروتينات والكربوهديرات وفصل البوليمرات الصناعية أيضاً. ويتم الفصل عن طريق إمرار

مخاليط المواد من خلال عمود يحتوي على مواد ذات جزئيات صغيرة خاملة تحتوي على ثقوب صغيرة جداً – فالجزئيات الكبيرة الحجم في تلك المخاليط تمر بسرعة أكبر من الفتحات المسامية للمادة الجيلية وبالتالي تمر من المسافات ما بين جزئيات المادة الجيلية فقط أما الجزئيات الصغيرة الحجم في المخلوط المراد فصله فإنها تمر ببطء لأنها تمر من داخل وخارج مسامات المادة الجيلية كما هو موضح في الشكل رقم (١٣,٤):



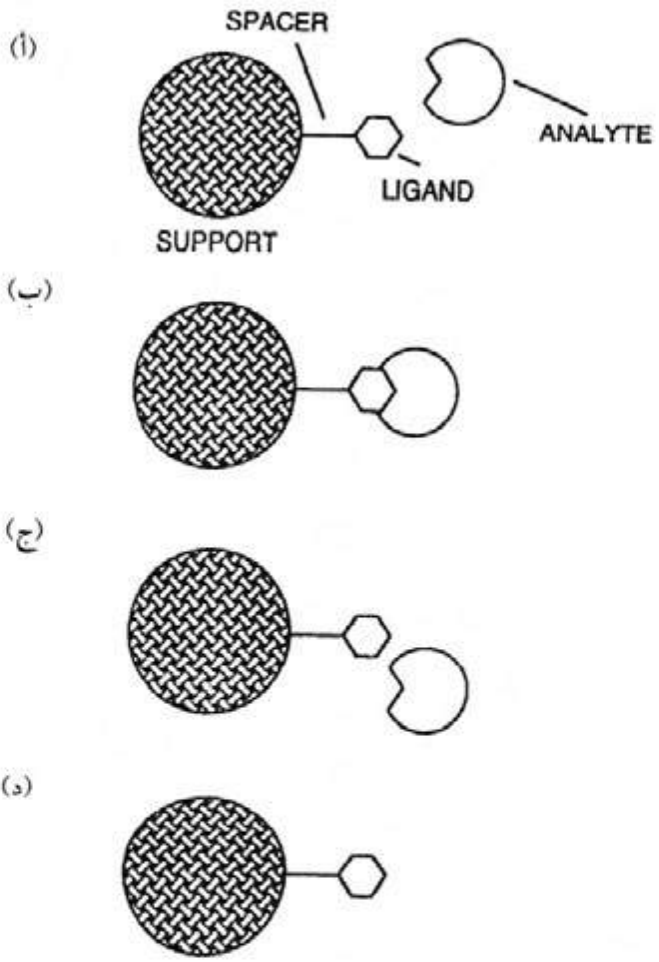
الشكل رقم (١٣,٤). فصل نوعين من الجزئيات بمرورها خلال عمود يحتوي على مواد جيلية مسامية.

ويتكون الجيل من دكستروز وأجاروز وبولي أكريلامايد.

(١٣,٥,٥) كروماتوجرافيا الألفة Affinity Chromatography

تتميز كروماتوجرافيا الألفة (التجاذب) بأن الفصل فيها يعتمد على التفاعل العكسي والمحدد بين جزئيات المادة المذابة ورابطة (ligand) مثبتة على الطور الثابت. وتعتبر هذه الطريقة جزء من كروماتوجرافيا الادمصاص "adsorption chromatography". وعادة ما يكون الطور الثابت في هذه الطريقة هو المواد الحيوية المثبتة، وهذه الروابط قد تكون أجسام مضادة (antibodies)، مثبطات الإنزيم (enzyme inhibition) أو جزئيات أخرى تكون مرتبطة بطريقة انتقائية وعكسية مع جزئيات المادة المراد تحليلها في العينة. وتستخدم هذه الطريقة نظام "القفل والمفتاح Lock and Key binding" في الأنظمة البيولوجية.

الأساس العلمي لكروماتوجرافيا الألفة موضح في الشكل رقم (١٣,٥) تُختار الرابطة حسب قوة التفاعل الخاص بينها وبين جزئيات المادة المراد تقديرها، وتثبيت هذه الرابطة على مادة حاملة مناسبة (support). عند إمرار العينة خلال هذا العمود، فإن الجزئيات المتممة (complementary) للرابطة المثبتة تدمص بينما تخرج باقي مكونات العينة. وعند تغيير مكونات الطور المتحرك (تغيير في الـ pH) تخرج جزئيات المادة التي كانت قد ادمصت على الرابطة. إن المواد الحاملة كما في الشكل رقم (١٣,٥):



الشكل رقم (١٣,٥). مبادئ كروماتوجرافيا الألفة:

(مبادئ كروماتوجرافيا الألفة الانتقائية: (أ) المادة الحاملة مع الرابطة جاهزة لاستقبال المادة المراد تحليلها. (ب) تلتصق المادة الرابطة. (ج) تسترجع المادة بواسطة الطور المتحركة. (د) المادة الحاملة تجدد مرة أخرى لتكون جاهزة لاستقبال مادة أخرى.

(١٣,٥,٦) كروماتجرافيا الفصل التجزيئي Partition Crhomatography

الأساس العلمي

يعزى فصل مكونات مخلوط ما بواسطة هذه الطريقة إلى اختلاف ميل هذه المكونات للذوبان في مذيبين غير قابلين نسبياً للامتزاج مع بعضهما – في هذه الحالة يبقى أحد المذيبين ساكناً أو ملاصقاً لمادة خاملة مسامية (المادة الحاملة) ويسمى المذيب الساكن أو غير المتحرك. ويتسبب عن اختلاف توزيع المواد بين المذيب المتحرك والمذيب الساكن أن يحدث تركيزه أو حجز أو تراكم المواد التي لها القدرة أو الميل الأكبر نحو المذيب الساكن بينما المواد التي لها ميل أكبر نحو المذيب المتحرك نجدها تتحرك معه وعلى ذلك تختلف سرعة كل مادة من مواد المخلوط أثناء سريان المذيب المتحرك وتنفصل في طبقات أو حزم متباعدة أو بقع في اتجاه سريان هذا المذيب.

وينقسم التحليل الكروماتوجرافي بالفصل التجزيئي إلى:

١- التحليل الكروماتوجرافي التجزيئي بالورق Paper Chromatography

٢- التحليل الكروماتوجرافي التجزيئي بالطبقة الرقيقة Thin Layer Chrmatography (TLC)

٣- التحليل الكروماتوجرافي التجزيئي عن طريق الأعمدة Column Partition Chromatography

(١٣,٥,٧) التحليل الكروماتوجرافي بالورق Paper Chromatography

تمثل ورقة الترشيح هنا المادة الحاملة المسامية ويطلق عليها (مع الماء القليل المضاف للمذيب) الصورة الساكنة (غير المتحركة) بينما يطلق على الجزء الآخر من المذيب والمحتوي على المواد المراد فصلها في وضع قطرة صغيرة من مخلوط المواد المراد فصلها على شريط من ورقة الترشيح بواسطة ماصة دقيقة. ثم تترك القطرة لتجف. ثم تعلق الورقة في صندوق زجاجي محكم القفل بعد أن يضاف المذيب المناسب في قعر

هذا الصندوق. يسري المذيب (الطور المتحرك) من الجانب الأسفل من الورقة صاعداً إلى أعلى أو إلى أسفل (حسب الخاصية الشعرية) ويقوم أثناء سريانه بحمل المادة وفصلها إلى مكوناتها المختلفة ويستمر المذيب في انتشاره تدريجياً لتتوزع أثناء ذلك مكونات المخلوط بين الصورتين المتحركة والساكنة كل على حسب معامل توزيعه. ترفع ورقة الترشيح بعد وصول المذيب إلى ارتفاع معين ثم تجفف وإذا كانت المواد ملونة فسوف تظهر كل في مكانها أما إذا كانت غير ملونة وجب رشها بجوهر كشاف لتكوين لون معها.

$$R_f = \frac{\text{المسافة التي وصل إليها المكون}}{\text{المسافة التي قطعها المذيب}}$$

هناك عدة طرق للتحليل الكروماتوجرافي على الورق منها:

- التحليل المبني على الخاصية الشعرية.
- التحليل الكروماتوجرافي الورقي بالطريقة الصاعدة.
- التحليل الكروماتوجرافي الورقي بالطريقة النازلة.
- التحليل الكروماتوجرافي بالطريقة الصاعدة النازلة.
- التحليل الكروماتوجرافي ذو الاتجاهين.
- التحليل الكروماتوجرافي الدائري.
- التحليل الكروماتوجرافي بالطريقة المعكوسة (المقلوبة).

١ - الأدوات والأجهزة التي تستخدم في التحليل الكروماتوجرافي على الورقة:

١- الورق: منها واطمان، شيل.

٢- ألواح زجاجية لوضع الورقة عليها، مواسك، ماصات دقيقة.

٣- المذيبات: مذيبات عضوية قابلة للمزج.

٤- رشاشات جواهر كشافة.

٥- جهاز UV أو جهاز التحليل البولاروجرافي أو الألواح الفوتوغرافية أو أجهزة تحميض.

٢- التقدير الكمي للمواد المنفصلة على الكروماتوجرام:

هناك عدة طرق منها:

١- التقدير اللوني في المنطقة المرئية (المنظورة) من الضوء (380-780 nm).

٢- التقدير بالتنقيط المرتبط بخاصية كهربائية مثل فرق الجهد لمحلول البقعة بعد إزاحتها.

٣- التقدير بقياس المساحة التي تشغلها بقع المواد المنفصلة على الورق.

٤- التقدير بواسطة أجهزة قياس الكثافة لكل بقعة على الورق (Densittometer).

٥- التقدير بواسطة وزن البقعة (طريقة كمية).

٦- التقدير بواسطة قياس مساحة البقعة وكثافة لونها واستخدام العلاقة التالية:

$$K = \frac{\text{Con. Mg}}{\text{Spot area x color intensity}}$$

حيث K = رقم ثابت يمكن الحصول عليه عن طريق تركيز معلوم من المادة النقية القياسية.

(١٣,٥,٨) التحليل الكروماتوجرافي بالطبقة الرقيقة

Thin Layer Chromatography (TLC)

لقد حل نظام الـ TLC محل التحليل الكروماتوجرافي بالورق على نطاق واسع منذ تأسيسه عام ١٩٣٨م، لأنه أسرع وأكثر حساسية ودقة من كروماتوجرافيا الورق لأن الحبيبات (Particles) التي على اللوح الزجاجي أو المعدني أقل حجماً وأكثر انتظاماً من الألياف الورقية. الميزات الأخرى لكروماتوجرافي TLC هي أن العدد المنجز من العينات أكبر وتكلفته منخفضة؛ إمكانية فصل عدة عينات ومحاليل قياسية في نفس الوقت وتحضير العينات في زمن قياسي. هذا مع إمكانية حفظ اللوح لعمل التعريف والحسابات في وقت لاحق.

تستخدم كروماتوجرافيا الـ TLC في تحليل الدهون. إن تحليل الدهون بواسطة الكرماتوجرافيا السائلة ذات الأداء العالي (HPLC) يكون معقداً بسبب قلة حاملات اللون (Chromophere) التي تكشف بواسطة كاشفات UV/Vis ومعظم تحليلات كروماتوجرافيا الغاز (GC) تتطلب عمليات الاشتقاق (derivatization) المسبقة وبتوفر معظم كواشف الدهون في الـ TLC صار تحليل الدهون بهذه الطريقة سهلاً وممكناً. وتتم تطبيقات الـ TLC في مجالات أخرى كثيرة مثل مجال البيئة (environment)، المجال الطبي (clinical)، الطب الشرعي (Forensic)، الصيدلة (Pharmaceutical)، الأغذية (Food)، النكهات (Flavors) ومواد التجميل (Cosmetics).

وفي مجال الأغذية يمكن أن يستخدم الـ TLC في نظام ضبط الجودة (Quality Control) في الكشف على الذرة والفول السوداني مثلاً لاختبار سميات الأفلاتوكسين قبل تصنيعها إلى دقيق ذرة أو زبدة الفول السوداني. المجالات الأخرى التي يستخدم فيها الـ TLC تشمل المبيدات، السميات، الكربوهيدرات، الفيتامينات، الأحماض الأمينية والبروتينات.

أ) طريقة العمل

١- إعداد الألواح Plate preparation

توضع طبقة رقيقة (سمكها حوالي ٢٥٠ ميكروميتر) من المادة المدمصة (sorbent) أو الطور الثابت على لوح زجاجي أو صفيحة المونيوم. والآن توجد في الأسواق ألواح وصفائح جاهزة. المواد المدمصة غالباً ما تكون سيليكا جل أو الومنيا أو التربة الدايأتومية (Dioatomacious earth) أو السليلوز.

٢- إضافة العينة

كما هو في كروماتوجرافيا الورق مع ملاحظة وضع عينة من المادة القياسية النقية لكي تكون مرشداً أو دليلاً للمواد المجهولة التركيز في الخليط المراد فصل مكوناته.

٣- الإظهار Development

ويقصد به توضيح مكان البقعة وذلك باستخدام الـ UV أو المواد المظهرة والتي من أهمها مشتقات الفلورسين، الأيودين، نترات الفضة أو برمنجنات البوتاسيوم.

٤- التقدير الوصفي والكمي

بعد التعرف على البقعة بواسطة الـ R_f أو إزاحتها خارج اللوح وقياس تركيزها بالتحليل الطبقي في مجال الـ UV أو الـ IR أو بواسطة الـ GLC أو مقارنة المساحة بمساحة بقعة مادة قياسية.

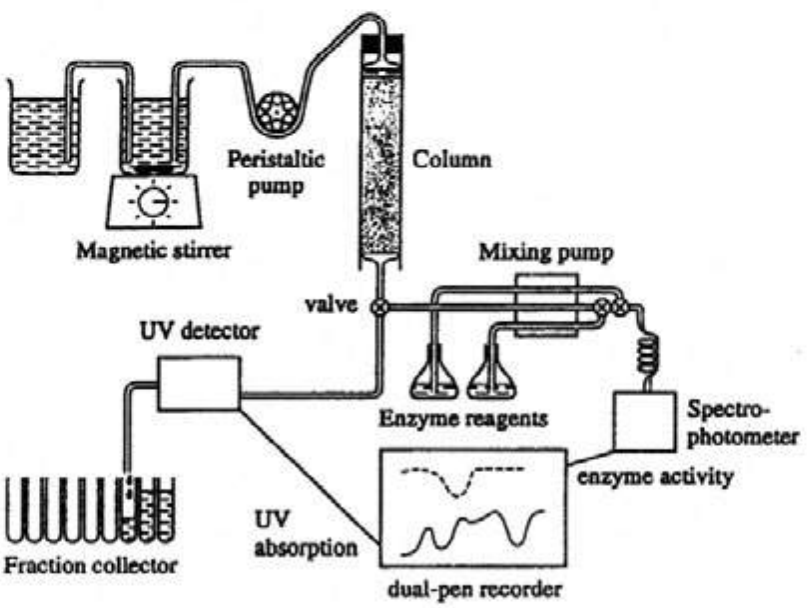
(١٣,٥,٩) التحليل الكروماتوجرافي التجزيئي عن طريق الأعمدة

Column Partition Chromatography

وهو أكثر الطرق استخداماً لفصل المركبات في المخاليط. ويتم التحليل من أعمدة كما هو الحال في حالة أعمدة الادمصاص وأعمدة التبادل الأيوني وذلك عن

طريق ملء الأعمدة بالمادة الصلبة المسامية وغير القابلة لادمصاص المكونات عليها. ويتم فصل المواد المذابة كنتيجة للتنقل التفاضلي (differential migration) خلال أنبوبة مقفولة تعمل كطور ثابت وتتم مراقبة المواد المراد تحليلها أثناء جريان الفصل.

الشكل رقم (١٣,٦) يوضح تخطيطاً لنظام كروماتوجرافيا العمود السائلة ذات الضغط المنخفض (تعمل على أو قرب الضغط الجوي) يتم أولاً تحضير الطور الثابت (الراتنجات الصناعية او المواد الجيلية أو الأمونيا أو السليكاجيل أو التربة الدياتومية) ويملأ بها العمود وبهذه الطريقة يسمح للطور المتحرك لأن يمر "Percolates" خلال العمود تحت تأثير الجاذبية الأرضية. والعمود الذي يملأ بالطور الثابت غالباً ما يكون مصنوعاً من الزجاج وغالباً ما تكون الحشوة "Packing" رطبة. أما في حالة أعمدة الادمصاص فقد تكون الحشوة رطبة أو جافة.



الشكل رقم (١٣,٦). رسم تخطيطي لكروماتوجرافيا العمود السائلة.

وأكثر الطرق الشائعة في الحشوة الرطبة تتضمن عمل ملاط "Slurry" من المادة المدمصة مع المذيب وصب هذا الخليط في العمود. وعند ترسب المادة الممتصة يتخلص من المذيب الزائد ويضاف ملاط جديد، وتكرر هذه العملية حتى يصل ارتفاع العمود للحد المطلوب.

تذاب المادة المراد فصلها في أقل كمية من الطور المتحرك ثم تصب في أعلى العمود يعمل نظام كروماتوجرافيا العمود السائل ذات الضغط المنخفض إما بالسريان بالجاذبية أو بمساعدة مضخة تمعجية "Peristaltic" ويتحكم في معدل السريان بالضغط الهيدروستاتي في الحالة الأولى وبواسطة سرعة المضخة في الحالة الثابتة.

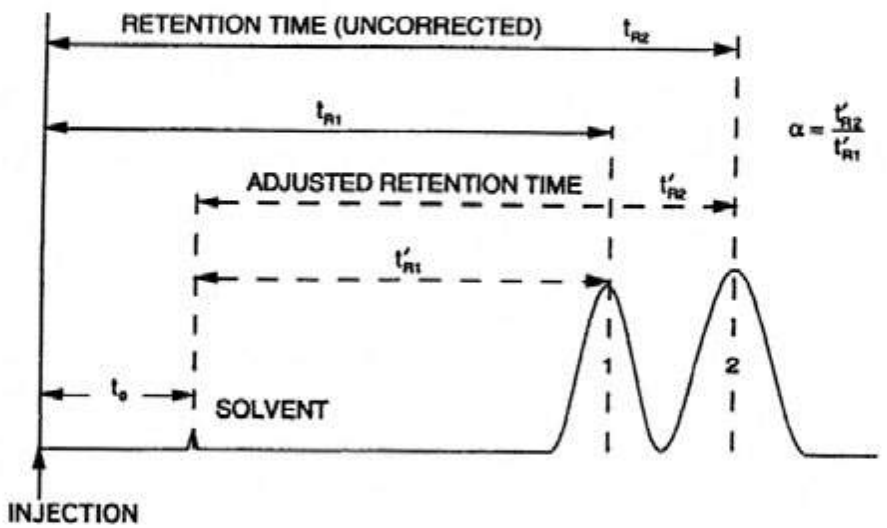
تسمى عملية إمرار الطور المتحرك خلال العمود بالفصل بالتصفي أو الإزاحة (Elution) والجزء الخارج من نهاية العمود بالصبيب أو المفصول بالترشيح (Eluate). وتستخدم في عملية الفصل بالتصفي إما مذيب واحد خلال عملية الفصل ويطلق على هذه الطريقة (Isocratic elution) أو يمزج أكثر من مذيب واحد أو تغير الـ pH ويطلق عليه الفصل التدرجي (Gradient elution). وتستخدم الطريقة الأخيرة في فصل الجزئيات الكبيرة مثل البروتينات. وأثناء تقدم عملية الفصل تتخلف مكونات العينة على الطور الثابت انتقائياً حسب ميل كل منها إلى الطور الثابت أو المتحرك ونوعية المادة المدمصة أو الماصة والـ pH .. الخ.

يوجه الجزء المفصول بالترشيح أو الصبيب إلى الكاشف (detector) ومن ثم إلى أنابيب تغير بعد كل فترة بواسطة مجمع الأجزاء (fraction collector) ثم يمكن تحليل هذه الأجزاء المفصولة كروماتوجرافياً بواسطة أي جهاز تحليل.

١ - التحليل النوعي Qualitative Analysis

يسمى حجم السائل المطلوب لإخراج مركب ما من عمود الكروماتوجراف يسمى هذا الحجم بـ "حجم الاحتجاز أو الاستبقاء" "Retention volume" ويرمز له بـ

"V_R" أما الوقت المرتبط به فيسمى "وقت الاحتجاز أو الاستبقاء Retention Time" ويرمز له بـ "t_R". وبمقارنة "V_R" أو "t_R" لمركب مجهول بمثيلاتها من محلول قياسي جرى تحليله الكروماتوجرافي تحت نفس الظروف يتيح لنا معرفة هوية المركب المجهول. وهناك طريقة أخرى وهي أن تحقن عينة المجهول مع عينة القياسي ومقارنة المخطط الكروماتوجرافي للعينة لوحدها والعينة مع القياسي لمعرفة أي زيادة في الذروات "Peaks" نتجت عن هذا الحقن وفي كلا الحالتين يكون من الضروري جمع الذروات المعينة وتعريفها بأي طرق تحليلية أخرى.



الشكل رقم (١٣,٧). قياس الاحتجاز.

٢ - كفاءة العمود الكروماتوجرافي

تتجسد كفاءة العمود الكروماتوجرافي بفصل مكونات العينة بشكل ذروات واضحة وغير متداخلة بعضها مع بعض وتقاس الكفاءة بعدد الصفائح النظرية

"Theoretical Plates" في العمود ويمكن تصوير ذلك بعدد النقود المعدنية المتراصة فوق بعض في داخل العمود ويرمز لها بـ (N) حيث كلما كان هذا العدد كبيراً كلما كانت كفاءة العمود في الفصل أفضل. ويمكن حساب قيمة (N) من المعادلة التالية:

$$N = 16 \left(\frac{tR}{w}\right)^2$$

حيث:

N = عدد الصفائح النظرية

tR = وقت الاحتجاز أو الاستبقاء بالدقائق

w = عرض الذروة عند خط الأساس بالدقائق

فلو كان وقت "tR" = ٤ دقائق ووقت "w" = ٠.٥ دقيقة

$$N = 16 \left(\frac{4}{0.5}\right)^2 = 10.24$$

فمن الناحية العملية يجرى التعبير عن عدد الصفائح النظرية بمقدار علاقتها مع طول العمود المستخدم وهذه العلاقة تسمى مكافئ الطول للصفائح النظرية Height Equivalent to a Theoretical Plate (HETP) فلو كان طول العمود = ١٨٠ سم فقيمة HETP تحسب كما يلي:

$$HETP = \frac{L}{N}$$

حيث:

L = طول العمود بالسم

N = عدد الصفائح النظرية

$$HETP = \frac{180}{1024} = 0.176 \text{ cm}$$

فمن هذا يتضح أن كفاءة العمود الجيد هو أن يملك عدداً كبيراً من الصفائح النظرية أي أن قيمة (N) تكون مرتفعة وقيمة (HETP) منخفضة كما يمكن التعبير عن كفاءة العمود بمقدار وضوح فصل الذروات (القمم) بعضها عن بعض ويتم ذلك بالمعادلة التالية (الرجوع إلى الشكل رقم ٥٠٢ "b"):

$$R = \frac{tR_2 - tR_1}{0.5\,(w_2 + w_1)}$$

حيث إن :

R = فصل القمم (الذروات) عن بعضها (Peak Resolution)

tR_1, tR_2 = وقت الاحتجاز لمسار المركبات بالعمود (بالدقائق)

$w_1\, w_2$ = الوقت بالدقائق لمسار المركبات عند خط الأساس (بالدقائق)

فإذا كانت قيمة R أكثر من واحد فمعنى هذا أن العمود جيد والقمم مفصولة أما إذا كانت القيمة أقل من واحد فمعنى ذلك تداخل القمم المفصولة وعليه يجب تغيير العمود.

٣- التحليل الكمي Quantitative Analysis

إذا افترضنا أنه كان هناك فصلاً تاماً بين القمم وتم التعرف على مكونات العينة فإن التحلل الكمي يتضمن قياس ارتفاع القمة (الذروة) أو مساحة القمة أو وزن كتلة القمة ثم مقارنة هذه البيانات بما يماثلها من المادة القياسية معروفة التركيز.

٤- ارتفاع القمة مقابل مساحة القمة

هناك جدل حول أيهما أكثر فائدة في قياس الكمية. وفي العموم فإن ارتفاع القمة أقل اعتماداً على معدل السريان بينما تكون مساحة القمة أقل تأثراً بالمتغيرات الأخرى في الجهاز. يُقاس ارتفاع القمة بالمسافة من خط الأساس (base-line) حتى

أقصى ارتفاع للقمة كما في الشكل رقم (١٣,٨). أما قياس مساحة القمة فيمكن حسابه بعدة طرق. إذا كانت القمم المفصولة عبارة عن مثلثات واضحة عندها يمكن حساب مساحة المثلث بالعلاقة التالية:

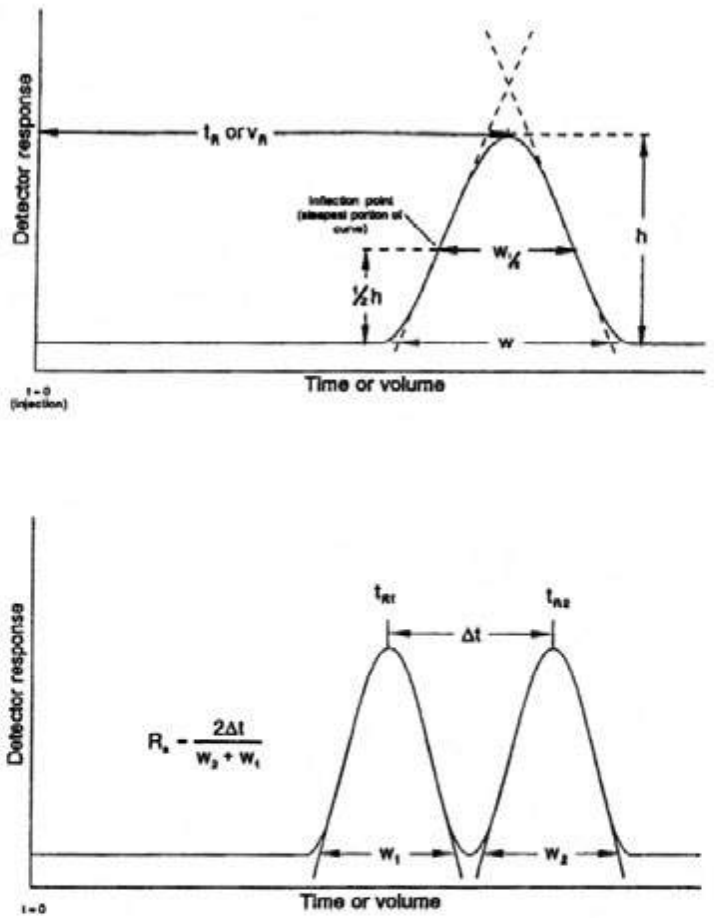
$$\text{مساحة المثلث} = \frac{\text{القاعدة} \times \text{الارتفاع}}{٢}$$

أما إذا كانت القمم المفصولة غير متجانسة أي أن مثلثاتها متداخلة أو أضلاع هذه المثلثات غير متناسقة عندئذ يجري رسم قاعدة بين منتصف ضلعي المثلث الجانبية موازية للقاعدة السفلى وبذلك تحسب مساحة المثلث كالآتي:

$$\text{مساحة المثلث} = \frac{\text{القاعدة السفلى} + \text{القاعدة العليا}}{٢} \times \text{الارتفاع}$$

وبعد حساب مساحة المثلث الواحد تقسم على مجموعة مساحات المثلثات ثم تضرب في ١٠٠ للحصول على النسبة المئوية للمركب الواحد وتعاد نفس العملية بالنسبة للمركبات الأخرى.

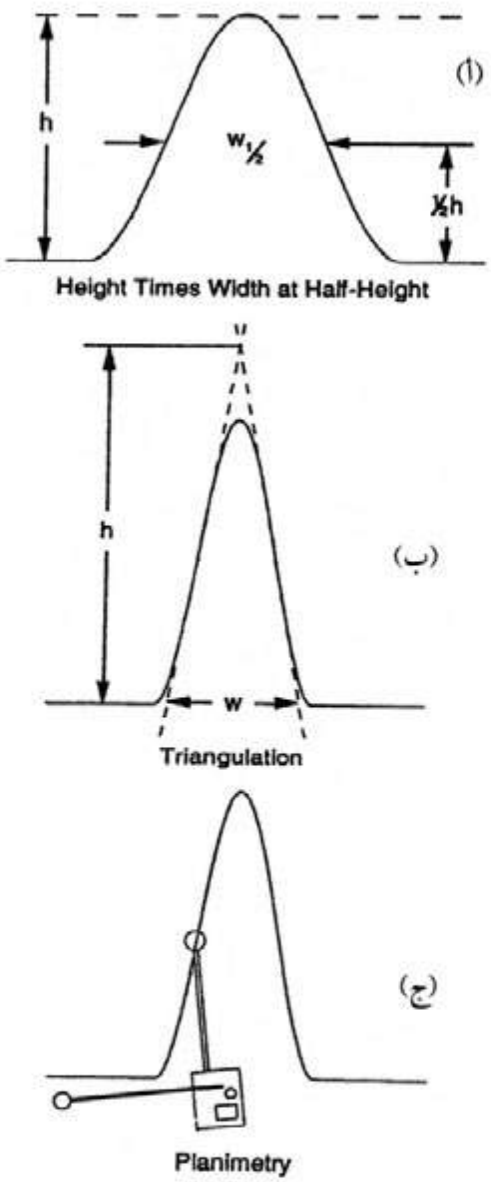
وقد يحسب محيط المثلث باستعمال البلانيميتر (Planimeter) وذلك بإمرار أحد ضلعي الجهاز على الحدود الخارجية للمثلث ليسجل المجموع الكلي لطول محيط هذا المثلث ويقارن مع باقي المثلثات الأخرى وتستخرج نسبته المئوية وهي عبارة عن النسبة المئوية للمركب بالعينة.



الشكل رقم (١٣,٨). قياس عرض الذروة (أ) كروماتوجرام جوسيان نموذجي يوضح قياس W و W ½ ، (ب) فصل الأطوال الموجية.

٥- القياس الخارجي مقابل الداخلي

يمكن مقارنة البيانات المتحصل عليها من قمم العينة مع تلك المتحصل عليها من قمم قياسية سواء كانت خارجية (قياس يحقن منفصلاً عن العينة) أو داخلي (يحقن ضمن العينة).



الشكل رقم (١٣,٩). الطرق المختلفة لتقدير مساحة الذروة (أ) ارتفاع الذروة × العرض في منتصف الارتفاع، (ب) تحديدها كمثلث، (ج) البلانيمتري.

١٣,٥,١٠ الكروماتوجرافيا الغازية Gas Chromatography:

كروماتوجرافيا الغاز عبارة عن عملية يتم خلالها فصل المخلوط إلى مكوناته عن طريق حركة الوجه الغازي Gas Phase فوق مادة ادمصاص صلبة ثابتة Fixed Solid Sorbent. وهذه الطريقة تحقق فصلاً للمكونات بالمخلوط عن طريق التوزيع Partitioning بين الوجه الغازي المتحرك Mobile Gas Phase والوجه السائل الثابت Stationary Liquid Phase الممسوك على المادة الصلبة الحاملة Solid Support.

تقسم كروماتوجرافيا الغاز إلى قسمين:

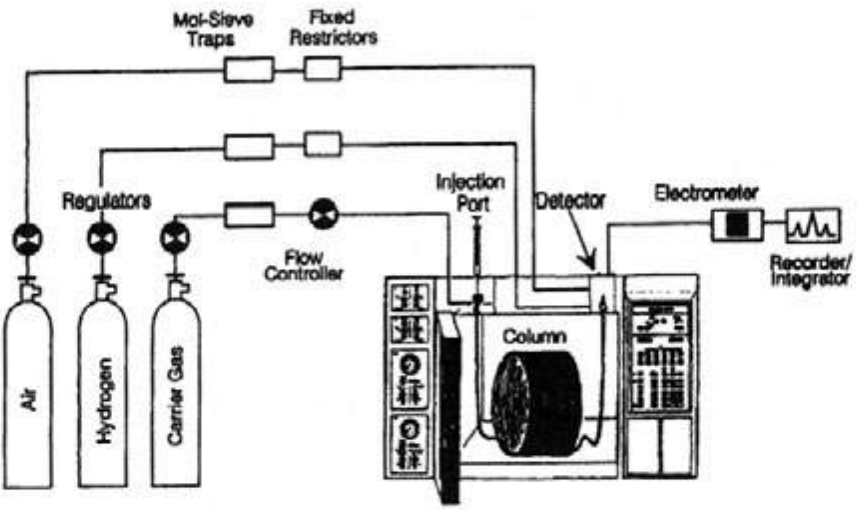
(١) كروماتوجرافيا الغاز السائلة Gas Liquid Chromatography

(٢) كروماتوجرافيا الغاز الصلبة Gas Solid Chromatography

في عام ١٩٤١م وجد العلماء أنه بالإمكان فصل بعض المركبات عن بعضها بتمرير الخليط في عمود فصل يمر عليه غاز بدلاً من السائل كطور متحرك وتبلورت هذه الفكرة حتى صمم أول جهاز GLC في عام ١٩٥٥م وبعدها شهدت صناعته تطوراً هائلاً وكثر استخداماته في مجالات عديدة.

تتكون أغلب أجهزة التحليل الكروماتوجرافي بالغاز السائلة من الأجزاء التالية:

- منظم الضغط ووحدة قياس معدل سريان الغاز الحامل.
- نظام حقن العينة.
- عمود الفصل.
- وحدة التسخين.
- نظام الاستجابة (الكاشف).
- وحدة تسجيل المنحنيات.



الشكل رقم (١٠,١٣). رسم تخطيط لكروماتوجرافيا الغاز.

١- نظام حقن العينة Sample Injection System

يتم حقن العينة السائلة أو الغازية في عمود الفصل من خلال فاصل مطاطي وحاقن العينة يتركب من عدة مكونات كما هو موضح بالرسم

٢- أعمدة الفصل Separation Columns

عادة تصنع الأعمدة بقطر ٤مم وطول يتراوح بين ١٢٠سم – ١٥٠م وذلك من الصلب غير القابل للصدأ أو النحاس أو سبيكة من النحاس والنيكل أو من الزجاج ويصنع من أشكال عديدة وهي الشكل المستقيم وأعلى شكل حرفU أو على شكل حرف W أو الشكل الحلزوني.

تقسم الأعمدة إلى قسمين:

- محشية Packed
- مفتوحة أو شعرية Open Tubular

الأعمدة الشعرية Capillary Columns: هذا النوع من الأعمدة لها قطر داخلي يتراوح بين ٠.٢٢-٠.٥٠مم ويتم إضافة الطور الثابت على شكل مادة سائلة في صورة طبقة رقيقة (film) على الجدران الداخلية للأنبوب وبنسبة ١٠٪ (وزن/ وزن)، أما الطول فيصل إلى عدة أمتار (٢٥م) أو أكثر بكثير.

أما المواد الصلبة التي يتم بها حشو العمود فهي من مشتقات التربة الدياتومية الكلسية بداخلها جيداً بمادة رابطة أيضاً تستخدم السيلكاجيل، الألمونيا، الفحم المنشط كوجه ثابت وعادة الوجه الثابت في الـ GLC يكون من مادة صلبة مغلفة بسائل غير متطاير تتراوح نسبته من ٢-٣٠٪ (وزن/ وزن). القطر الداخلي لها (الأعمدة المحشية) عادة ٢-٦مم والطول ١-٣متر وحجم الحبيبات داخل العمود تتراوح بين ٦٠/ ٨٠ - ٨٠/ ١٠٠ - ١٠٠/ ١٢٠ بحجم المش (Mesh size) فالحجم الأخير عادة يستعمل عندما تزيد الدقة المطلوبة وزيادة كفاءة عملية الفصل وفيما يلي أهم المواد المستخدمة كطور ثابت أو مادة حشو:

حجم العينة: يجب أن يكون حجم العينة صغيراً ٠.٠١ميكرولتر (0.01µl) ولما كان من الصعب التحكم في حجم كهذا وجب توفير جهاز لتجزيء العينة (device) إلى جزأين بنسبة ١:٩٩ بحيث يتم التخلص من ٩٩٪ من العينة ويحتفظ بالباقي (١٪) لذا فإذا بدأنا بـ ١ ميكرولتر فإننا في النهاية ننتهي بـ ٠.٠١ ميكرولتر.

ويجب أن نأخذ في الاعتبار أنه كلما قل حجم العينة كلما أمكن الحصول على نتائج أفضل فيما يختص بعمر العمود وقابليته للفصل، وعمر العمود يعتمد على عدد مرات التشغيل وعلى نوعية التشغيل وعلى العموم يستخدم حوالي ١-٢ ميكرولتر بالنسبة للأعمدة المحشية وحوالي ٠.٠١ ميكرولتر بالنسبة للأعمدة الشعرية.

٣- الغاز الحامل Carrier Gas

يجب أن يكون الغاز الحامل خامل خالٍ من الشوائب ومن الرطوبة حتى من الأكسجين إذ أنه يعمل على تقصير عمر العمود إذ يعمل على أكسدة الطور الثابت - وعادة يستخدم كل من الهليوم، النتروجين، الأرجون ويعتبر الهليوم أفضلها على الاختراق ولكن النتروجين أكثرها استعمالاً.

٤- وحدة التسخين

وهو عبارة عن فرن لتسخين العمود Column Oven نظراً لأن درجة الحرارة مهمة في عملية الفصل لذا فإنه من الضروري أن يكون هناك وسيلة لتسخين العمود بدقة متناهية أثناء العمل، سواء تحت درجة حرارة ثابتة Isothermal أو تحت درجة حرارة متدرجة Temperature gradient. معظم الأفران في الـ GLC يمكن ضبط حرارتها من درجة حرارة الغرفة إلى -٤°م وقد تحتاج أحياناً لدرجات حرارة دون أو أعلى ٤٥° - ٥٠°م يجب أن يكون للفرن القدرة على التسخين بسرعة أيضاً والتبريد بسرعة أو نحتاج إلى تسخين أو تبريد بمعدل ٣٠°م / دقيقة.

٥- الكاشف Detector

هناك عدة كواشف Detectors in GLC والكاشف يعتبر أحد المكونات الهامة حيث يمكن بواسطته التعرف على المكونات تحت الاختبار وتقدير كمياتها ويجب أن يتوفر في الكواشف ما يلي: البساطة والانتظام في التركيب والثبات أثناء التقدير، الأمان في الاستخدام خاصة تلك التي بها مصادر للمواد المشعة، الحساسية العالية للتركيزات المنخفضة والاستجابة السريعة في تسجيل التغيرات التي تحدث بأبخرة هذه المواد.

يتم اختيار الكاشف بحيث يكون ملائماً للمواد التي يتم تقديرها وأيضاً يختلف تبعاً للعمود المستخدم فهناك كشاف التوصيل الحراري، وكشاف كثافة الغاز للأعمدة المعبأة بالمادة الصلبة والسائل كوجه ثابت. أما بالنسبة للأعمدة الشعرية يستخدم كشافات التأين ولهب الاشتعال معاً، والكشاف القابض للإلكترونيات وإن كان من الممكن استخدام هذه المجمعة في حالة الأعمدة من النوع الأول.

يستخدم الكشف كدلالة لأي تغير يحدث نتيجة وجود مكونات العينة وذلك مع الغاز الحامل، هذه الاستجابة يمكن تحويلها إلى إشارة كهربية يتم تكبيرها وتستغل في تحريك الإبرة لترسم المنحنى الدال على المادة المنفصلة.

ومن أهم الكشافات التي تلحق بأجهزة الكروماتوجرافيا الغازية ما يلي:

١- كشاف كثافة الغاز Gas Density Detector

٢- كشاف التوصيل الحراري Thermal Conductivity Detector

٣- كشاف لهب الأيدروجين Hydrogen Flame Detector

٤- كشاف التأين اللهبي Flame Ionization Detector (FID)

٥- وهناك كشف بعد Bohr، لفلوك Levelock، القابض على الإلكترون Electron capture، الميكروكولومتري Microcoulometric.

٦- كاشف التأين اللهبي (FID)

Flame Ionization Detector هذا الكاشف FID من أكثر الكواشف استخداماً نظراً لحساسيته الشديدة (١٠^-١٣جم)، أيضاً لتحمله التركيزات المرتفعة نسبياً، كما أنه يستجيب لكل المواد العضوية تقريباً، وسهل التشغيل والصيانة.

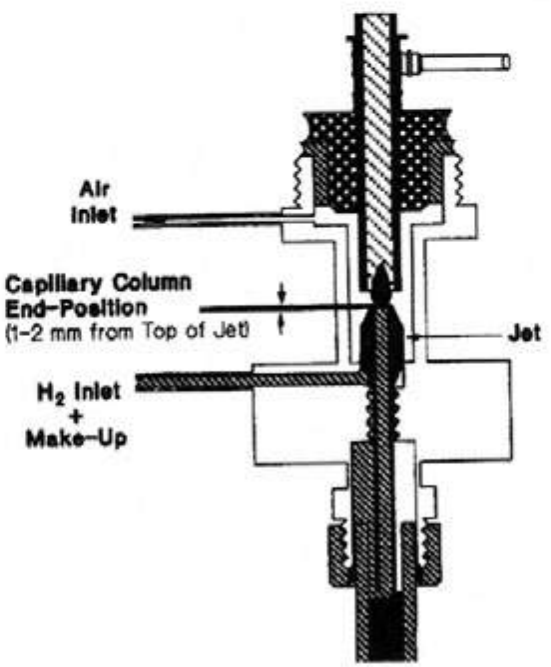
يعتمد على أساس أنه عندما تحرق مادة عضوية في وجود H_2 والهواء تنتج أيونات Ions وهناك عدة نظريات فرضية تفسر ما يحدث.

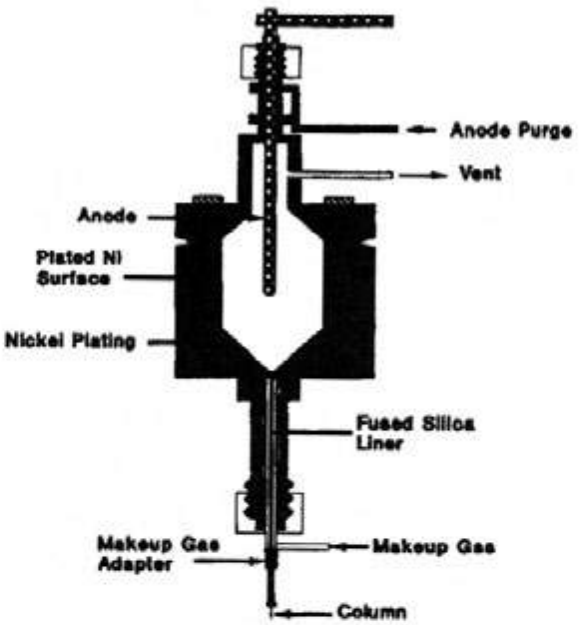
$$\text{Organic matter} + H_2O + O_2 \longrightarrow Co_2 + H_2O + (Ions)^+ + (Ions)$$
$$\Sigma\,(Ions^- + e^-) \longrightarrow \text{Current flow}$$

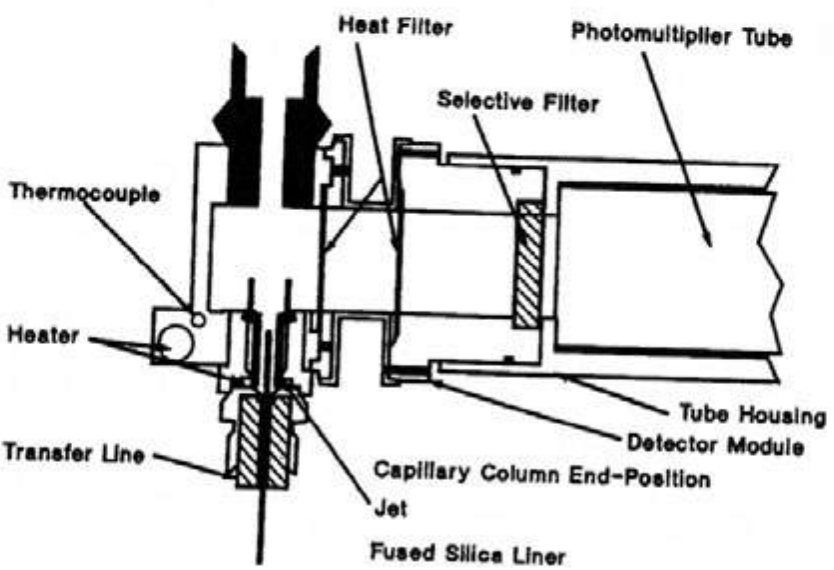
يتم تجميع الأيونات بواسطة زوج من الإلكترودات المستقطبة داخل الكاشف من التيار – الهواء المتكون يتم تكبيره .. يتم تحويله إلى المسجل.

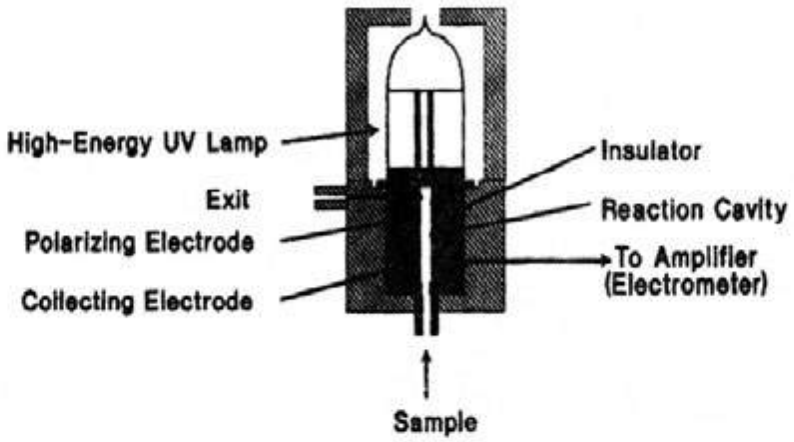
٧- كاشف التوصيل الحراري Thermal Conductivity Detector (TCD)

يتكون من أربعة خيوط معدنية (4 Filaments) مرتبة بشكل قنطرة ويتستون Weatstone Bridge وتعتمد فكرة TCD على أساس أنه في حالة خروج المادة تحت الدراسة مع الغاز الحامل Carrier تتحلل من التوصيل الحراري للغاز الحامل متسببة في فقد كفاءة التبريد مما يتسبب عنه زيادة في مقاومة الخيط المعدني ومن ثم ينعدم الاتزان الكهربي في قنطرة ويتستون مما ينشأ عنه فرق في الجهد يمكن قياسه.

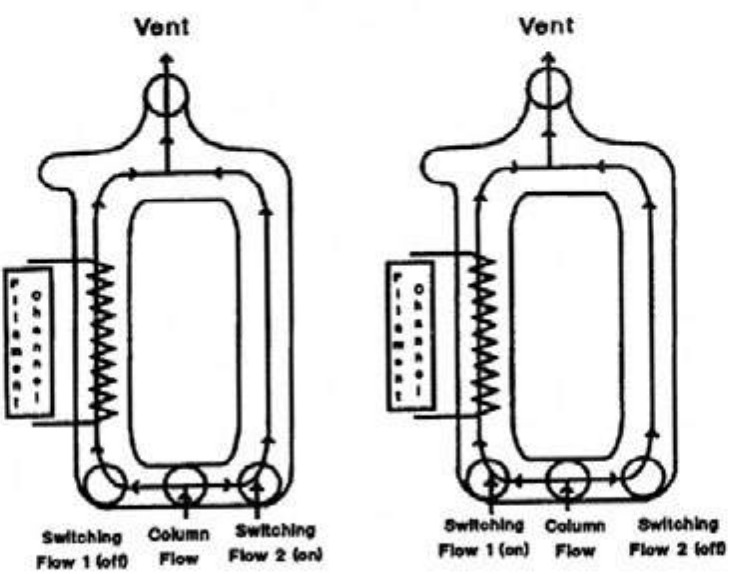



Anode Purge
Vent
Anode
Plated Ni Surface
Nickel Plating
Fused Silica Liner
Makeup Gas Adapter
Makeup Gas
Column


Heat Filter
Photomultiplier Tube
Selective Filter
Thermocouple
Heater
Tube Housing
Detector Module
Transfer Line
Capillary Column End-Position
Jet
Fused Silica Liner



$$\text{Compound} + \text{Photon} = \text{Compound}^{\oplus} + \text{Electron}^{\ominus}$$



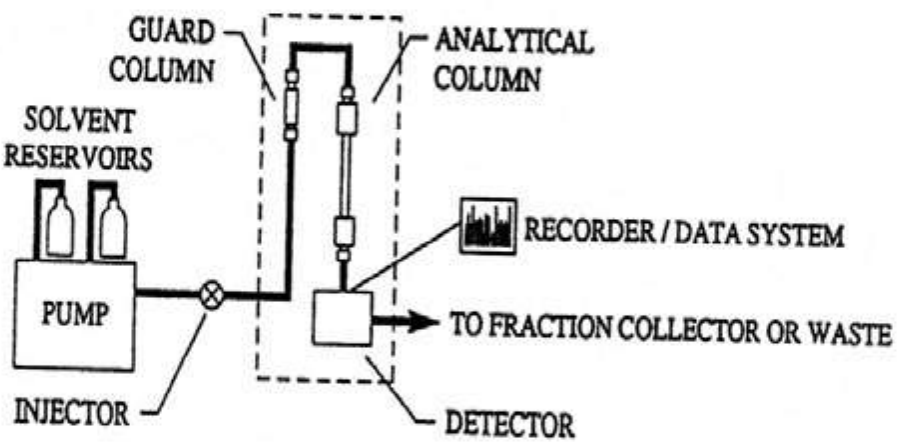
Pulse modulated single filament design

الشكل رقم (١٣,١١). يوضح أنواع الكاشفات.

(١٣,٥,١١) الكروماتوجرافيا السائلة ذات الأداء العالي (HPLC)
High Performance Liquid Chromatography

يعتمد أحياناً على الجاذبية أو التفريغ أو الضغط الموجب في سير أو حركة الطور المتحرك Mobile Phase في كروماتوجرافيا العمود التقليدية ولقد وجد أن زيادة الضغط تزيد من كفاءة الفصل وتقلل من الوقت اللازم لعملية الفصل هذه الفكرة أدت إلى تطور نوع آخر من كروماتوجرافيا العمود وهي ما تسمى بالـ HPLC.

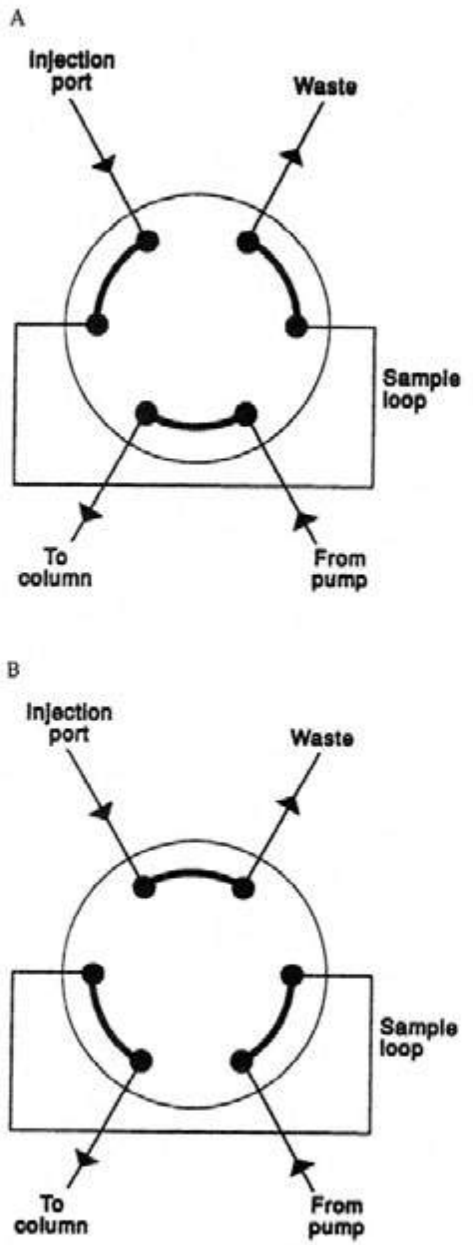
ويتكون جهاز الـ HPLC كما هو موضح في الشكل رقم (١٣,١٢):



الشكل رقم (١٣,١٢). رسم تخطيطي لجهاز الـ HPLC.

وأهم مكونات الـ HPLC كما يلي:

١- مكان حقن العينة: أحياناً يطلق عليه صمام الحقن، عادة تحقن العينة السائلة بواسطة حقنة (Syringe) قوية تتحمل الضغط العكسي من العمود وعادة صمام الحقن يمكننا من حقن العينة بمعزل عن الضغط ومن ثم يقوم الطور المتحرك الآتي من المضخة بدفع العينة إلى عمود الفصل.



الشكل رقم (١٣,١٣). صمام الحقن.

٢- العمود Column: غالباً ما يكون من الصلب غير القابل للصدأ Stainless Steel أو الزجاج وطوله قد يكون ١٠سم أو أكثر، وغالباً ما يكون الطول حوالي ٢٥سم، أما القطر فيتراوح ما بين ١-٦مم (الداخلي) والقطر الشائع حوالي ٢-٤مم، العمود يتم حشوه بمادة صلبة تستخدم كمادة مساندة Support للطور الثابت Stationary phase السائل، وقد يكون الطور الثابت نفسه مادة صلبة كما في حالة Solid Liquid Chromatography.

٣- الطور المتحرك Mobile phase: وهو عبارة عن المذيب أو السائل ويشترط فيه أن لا يختلط أو يذوب في الطور الثابت ولكن يلزم أن تذوب به العينة كما يجب أن يتناسب مع الكاشف المستخدم، فمثلاً إذا كنا نستخدم كاشف الأشعة فوق البنفسجية UV-Detector يلزم أن لا يمتص الطور المتحرك في هذا النطاق وفيما يلي أهم المذيبات المستخدمة كطور متحرك في الـ HPLC.

n-pentane, Chloroform, Iso-propanol, n-Hexane, Dichloromethane, Ethanol, Iso-octane, Tetrahydrofuran, Methanol, Cyclohexane, Dioxan, Water, D.ethylether, Acetonitrile.

طرق فصل المكونات على عمود الـ HPLC تجري بطريقتين وهما: استخدام مذيب واحد خلال عملية الفصل ويطلق على هذه الطريقة بالـ Isocratic elution وأحياناً يحتاج الأمر إلى مزج أكثر من مذيب للحصول على خواص معينة لعملية الفصل مثل القطبية وتستعمل المذيبات أحياناً بنسب متغايرة أثناء فترات الفصل وهو ما يطلق عليه بالـ Gradient elution.

يجب إجراء عملية نزع للهواء أو التخلص من الهواء الذائب في المذيب Degassing وذلك قبل استعماله وهذا سوف يؤدي إلى زيادة كفاءة المضخة pump وأيضاً الكاشف. نظراً لأن الفقاعات (الغازات) تؤثر على كل من المضخة والعمود والكاشف ونزع الهواء يتم بعدة طرق منها:

١- استخدام الموجات فوق الصوتية Ultrasonic

٢- التفريغ Vacuum

٣- التكثيف العكسي ثم التبريد Reflux

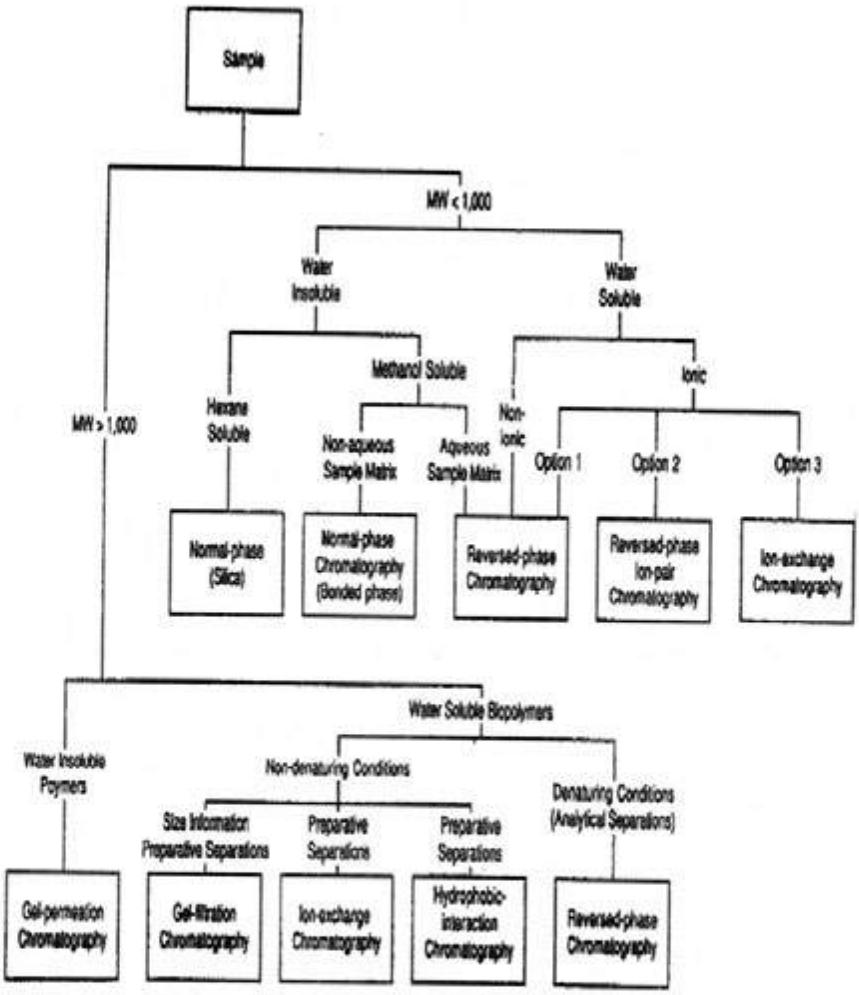
٤- إحلال غاز الهليوم محل الهواء في المذيب

اختيار العمود والمذيب المناسب يتم حسب المواد المراد فصلها والكشف عنها أي حسب خواصها الطبيعية والكيماوية، مثل الوزن الجزيئي، درجة الذوبان في المذيبات المختلفة وذلك حسب المجاميع الوظيفية المتواجدة فيها وهي ما يسمى بالـ Functional groups (مثل مجموعة الكربوكسيل، الهيدروكسيل، النتريت، .. الخ).

وعموماً فإن الطور الثابت (الحشو داخل العمود) قد يكون له إحدى الخواص التالية:

- الادمصاص Adsorption
- التجزيئ Partitioning
- التبادل الأيوني Ion Exchange
- الفلترة Gel permeation

والتقسيم التالي يوضح كيفية اختيار الطور الثابت (الحشو داخل العمود) طبقاً للأوزان الجزيئية ودرجة الذوبان في المذيبات المختلفة كالآتي:



الشكل رقم (١٣,١٤). كيفية اختيار العمود Column Selection Chart.

المراجع
References

أولاً: المراجع العربية

١- عبدالله، م.أ.، القليوبي، م.ح. وخلاف، م.م. ١٤٢٣هـ. كيمياء وتحليل الأغذية. دار الشروق، القاهرة، مصر.

٢- دلالي، ب.ك.، الحكيم، ص.ح. ١٩٨٧م. تحليل الأغذية. جامعة الموصل، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، العراق.

٣- حسن، أ.م.، أبوحمد، ح.أ. ٢٠٠٢م. تحليل الأغذية. دار الفجر للنشر والتوزيع، مصر.

٤- الزامل، أ.ز. ١٩٨٨م. الكيمياء التحليلية (التحليل الآلي). مكتبة الخريجي، المملكة العربية السعودية.

ثانياً: المراجع الأجنبية

1- Puri, S.C., Ennis, D., and Mullen, K. (1974). Statistical Quality Control for Food and Agricultural Scientists. G.K. Hall and Co., Boston, MA.

2- AOAC International. 1995. Official Methods of Analysis, 16th ed. AOAC Intrnational, Gaithersburg, MD.

3- Pomenanz, Y., and Melon, G.E. 1994. Food Analysis: Theory and Practice, 3rd ed. Chamman and Hall, New York.

4- Suzanne Nelson, 1998. Food Analysis, second edition, Achapman and Hall, Gaithersbur, MD.

5- Aurand, L.W., Woods, A.E. and Wells, M.R. 1987. Food Composition and Analysis, New Nostrand Reinhold, N.Y.

6- Fennema, O.R. 1995. Food Chemistry, 3rd es. Marcel Dekker, N.Y.

7- JAMES, C.S. 1995. Analytical Chemistry of Foods, BLACKIE ACADEMIC Professional, London.

8- Stewrt, K.K. and Whitakor, J.R. 1984. Modern Methods of Food Analysis, ACI Publishing Company, INC., USA.

9- Pearson, D. 1970. The Chemical Analysis of Foods, 6th ed., Churchill, London.

10- Sroog, D.A. 1985. Principles of Instrumental Analysis, 3rd ed. W.B., Saunders, Philadelphia, PA.

11- Pearson, D. 1973. Laboratory Techniques in Food Analysis. Butterworths, London.

12- Posky, L., Asp., N.G., Schweizer, T.F. de Vries, J.W., and Farla, I. 1988. Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food products, Inter-laboratory study. JAOAC, 71:1017-1023.

13- Schwartz, S.J., Woo, S.L., and Von Elbe, J.H. 1981. High performance liquid chromatography of chlorophylls and their derivatives in fresh and processed spinach. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 29:533-535.

14- Efiok, B.J.S. 1993. Basic Calculations for Chemical and Biological Analysis. AOAC. International, Guithersburg, MD.

15- Josyln, M.A. 1970. Methods in Food Analysis, 2nd ed. Academic Press, New York.

16- Kirk, R.S., and Sawyer, R. 1991. Pearson's Composition and Analysis of Foods, 9th ed.,Longman Scientific and Technical, Essex, England.

17- Southgate, D.A.T. 1976. Determination of Food Carbohydrates, Applied Science Publishers, London, England.

18- Conway, T.F., and Earle, F.R. 1963. Nuclear magnetic resonance for determining oil content of seeds. Journal of the American Oil Chemists' Society, 40:265-268.

19- Bradstreet, R.B. 1965. The Kjeldahl Method for Organic Nitrogen. Academic Press, New York.

ثبت المصطلحات

أولاً: عربي – إنجليزي

أ

الاتحاد الدولي للكيمياء البحتة والتطبيقية في مجال العينات	International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)
أجسام مضادة	Antibodies
أجهزة التحليل الطيفي	Spectrophotometers
أحادية طول الموجة	Monochromatic
إحساس الفم	Mouthfeel
الأحماض الدهنية الحرة والرقم الحمضي	Free Fatty Acids and Acid Value
اختبار حامض الثيوباربتيوريك	Thiobarbituric Acid (TBA)
أخذ العينات	Sampling
أخذ العينات عند تساوي الاحتمالية	Probability Sampling
أخذ العينات عند عدم تساوي الاحتمالية	Non-probability sampling
أداة تشتيت (محزوز)	Dispersing element
أدوات سحب العينات	Sampling tools
ارتفاع الموجة "A	Amplitude "A
الأرقام المعنوية	Significant Figures

الاستخلاص بالمذيب	Solvent extraction
الاستخلاص بالمذيب بشكل دفعات	Batch Solvent Extraction
الاستخلاص بالمذيب بشكل سريع	Accelerated Solvent Extraction (ASE)
الاستخلاص بالهضم	Digestion Extraction
الاستخلاص بواسطة سائل تحت الظروف فوق الحرجة	Supercritical Fluid Extraction (SF)
استرات ميثيل الحمض الدهني	Fatty Acid Methyl Esters
استطياف الامتصاص والانبعاث الذرى	Atomic Absorption and Emission Spectroscopy
الاستقطاب (البولاريميتر)	Polarimetry
الأشعة الكهرومغناطيسية	Electromagnetic Radiation
الأشعة تحت الحمراء	Infrared Drying
الأطوار (الأوساط) الثابتة	Stationary Phases
الإظهار	Developing
الاعتمادية	Reliability
إعداد العينات للتحليل	Preparation of Samples for Analysis
الأفران العادية	Convention Ovens
أفران الميكروويف	Microwave Ovens
أفران تحت التفريغ	Vacuum Ovens
الأقطاب المدمجة	Combination Electrodes
الإلكترودات الاختيارية للأيونات	Ion Selective Electrodes
ألجينات	Algins
إلكتروفوريسيس الدنترة	Denaturing Electrophoresis
إلكترونات الربط	Bonding electrons
الألياف الغذائية	Dietary fibers
الامتصاص	Absorbance

امتصاص الأشعة	Absorption of Radiation
امتصاص الأشعة	Absorption of Radiation
امتصاص الأشعة السينية	X-ray absorption
امتصاص الرطوبة من الهواء	Hygroscopic
امتصاصية	Absorbance
الامتصاصية النسبية	Absorptivity Relative
انبعاث الأشعة	Emission of Radiation
أنبوبة أو عمود الكروماتوجرافي	Chromatographic Tube or Column
أنبوبة سحب العينات	Sampling Tube
انتقاء طريقة سحب العينات	Selection of Sampling Procedures
انتقال إلكترونية	lectronic transition
الانحدار الخطي	Curve Fitting: Regression
الانحراف النسبي عن المتوسط الحسابي	elative Deviation from the Mean
أنود ثنائي	Dynode

ب

البيتيدات المتعددة	Polypeptide
بريمة أخذ العينات	Sampling Screw
بلازما الارجون الحثية	Indictively coupled argon plasma
البواتق	Crucibles
البواتق البيركس	Pyrex Gooch

ت

التألق الجزيئي للطيف	Molecular fluorescence
التباين	Variance

تبعثر الضوء	Light Scattering
تبعثر فوق الصوتي	Ultrasonic Scattering
تثبيط نشاط الإنزيمات	Enzyme Inactivation
التجانس	Homogenization
التجفيف	Drying
تحلل مكونات الغذاء	Decomposition of food components
تحليل الأحماض الأمينية	Amino Acid Analysis
تحليل السكريات العديدة والألياف الغذائية	Analysis of Polysaccharides and Fiber
التحليل الطيفي	Pectroscopy
التحليل الطيفي في المجال فوق البنفسجي والمرئي	Ultraviolet and Visible Spectroscopy
تحليل العناصر المعدنية	Determination of Mineral Content
تحليل العينة	Sample Analysis
التحليل الكروماتوجرافي التجزيئي بالطبقة الرقيقة	Thin Layer Chromatography (TLC)
التحليل الكروماتوجرافي التجزيئي بالورق	Paper Chromatography
تحليل النشا	Analysis of Starch
التخصصية	Specificity
التخفيف	Dilution
التداخل	Interaction
تداخلات	Interfering
التذرية (فصل العنصر إلى ذراته)	Atomization
ترتيب الإخراج	Elution order
تردد الأشعة "ν"	Frequency "ν"
تردد الموجة Wave's frequency	Wave's frequency

Salting Out	الترسيب بالأملاح
Isoelectric Precipitation	الترسيب عند نقطة التعادل الكهربائي
Filtration	الترشيح
$[H^+]$	تركيز أيون الهيدروجين
Dry Ashing	الترميد الجاف
Wet Ashing	الترميد الرطب
Derivitize	تشتق الليبيدات
Size Reduction	تصغير الحجم
Classification of Carbohydrates	تصنيف الكربوهيدرات
Neutralization	التعادل
Stoichemetric	التفاعل يتم بأوزان متكافئة
Oxidation-reduction Reactions	تفاعلات الأكسدة/ الاختزال.
Acid-base Reactions	تفاعلات الحموضة / القلوية
Reactions biochemical	التفاعلات الكيموحيوية
Dissociation	تفكك
Dissociation	تفكك
Redox reactions	تقدير العناصر المعدنية بتفاعلات الأكسدة والاختزال
Determination of Lipid Composition	تقدير تركيب الليبيد
Determination of Overall Protein Concentration	تقدير تركيز البروتين الكلي
Rounding off Numbers	تقريب الأعداد
Neutralization	التقطير (المعادلة
Reflux Condensing	التكثيف العكسي
Reproducibility	التكرارية
Complexation	تكوين المعقدات

التوافق	Precision
التوزيع الطبيعي	Normal Distribution
توزيع بويسون	Poisson
التوزيع ذو الحدين	Binomial
توزيع طبيعي	Normal Distribution
توهين	Attenuation

ث

ثابت بلانك	Plank's constant

ج

جامع الطبقات	Fraction Collector
الجزئيات المتممة	Complementary
جسيمات أو دقائق	Particles
الجلسريدات الثلاثية	Triglycerides
الجلوكوز	D-Glucose
جهاز قياس الـ pH	pH meter
جهاز قياس الفولتية للجهد	Voltmeter
جهد القطب	Electrode Potential

ح

حاجب ضبط الضوء	Light control occluder
حالات الإثارة	Excited states
حجم الجزيئات	Particle Size
حراري كهربائي	Electrothermal

الحساسية	Sensitivity
حفظ العينة	Sample Preservation
الحمض السائد	Predominant acid
الحيود عن قانون بير	Deviation from Beer's Law

خ

خصائص الضوء	Properties of Light
الخطأ المحتمل	Probable Error
الخطأ المطلق	Absolute error
الخطأ النسبي	Relative error
خطط أخذ العينات بالصفات أو بالمتغيرات	Sampling for Attributes or Variables
خلاط وارنج	Waring Blender
خلية (رجعية)	Reference
الخواص الطبيعية الكلية	Bulk Physical Properties

د

درجة التوازن	Equilibrium
درجة الحرية المحسوبة	degree of freedom
دفعة إنتاج	Production Lot
الدقة	Accuracy
الدليل	Indicator
الدنترة بالبروتينات الملوثة	Denaturation of Contaminating Proteins
دورة تفريغ كاملة	Siphoning Cycle).

Digestion flask	دورق الهضم
Dialysis	الديلسة

ذ

Molecules or Atoms	ذرات المادة أو جزيئاتها

ر

Ligand	رابطة
Consignments	الرسائل الغذائية
Peroxide Value	رقم البيروكسيد
Saponification Number	رقم التصبن
"√ " Wavenumbers	الرقم الموجي "√"
pH &Titratable Acidity	الرقم الهيدروجيني pH والحموضة المعايرة
Iodine Value	الرقم اليودي
Soluble and In-soluble Ash in Water	الرماد القابل للذوبان وغير القابل للذوبان
Ash Insoluble in Acids	الرماد غير الذائب في الأحماض
Nuclear Magnetic Resona (NMR)	الرنين المغناطيسي النووي

ز

Retention time	زمن الاحتجاز

س

Straight-line Sampler	ساحب الخط المستقيم

ساحب العينات الدائري	Circular Sampler
السارق	Thief
السكروز	Sucrose
السكريات الأحادية	Monosaccharides
السكريات القليلة التسكر	Oligosaccharides
السكريات المتعددة عبر جدار الخلية	Non Cell Wall Polysacchrides
السكريات المتعددة لجدار الخلية	Cell Wall Polysaccharides
السكريات عديدة التسكر	Polysaccharides

ش

شحنة سالبة	Anionic
شدة الإشعاع "I"	Radiant Intensity "I"
الشعاع الساقط	Incident ray
الشعاع المنعكس	Reflected ray
الشعاع المنكسر	Refracted ray
شكل الناقوس	Bell-shaped

ض

الضوء آحادي اللون	Monochromatic light
ضوء متفرق	Stray radiation
ضوضاء الجهاز	Instrumental noise

ط

الطاحونة التصادمية	Impact mill
الطاحونة الدوارة	Impeller mill

طاحونة الطرد المركزي ا	Centrifugal mill
الطاحونة المطرقية	Hammer mill
الطبيعة الكمية	Quantum nature
الطرد المركزي	Centrifugation
طرق الارتباط بالصبغة	Dye binding methods
الطرق الآلية	Instrumental Methods
الطرق الإنزيمية	Enzymatic Methods
الطرق البصرية	Polarimetric Assays
طرق التجفيف	Drying Methods
طرق التقطير	Distillation Methods
الطرق الطبيعية	Physical Methods
الطرق الكيميائية	Chemical Methods
الطرق اللونية	Colorimetric Methods
الطرق الوزنية	Gravimetric Methods
طرق تقدير الكثافة	Density Method
طريقة أخذ العينات المقيدة	Restricted Sampling
الطريقة الاجتهادية	Judgment Sampling
طريقة الرفراكتومتر	Refractometry
الطريقة العشوائية الطبقية	Stratified Random Sampling
الطريقة العشوائية النظامية	Systematic Sampling
طريقة الكوتا	Quota Sampling
الطريقة المركبة لأخذ العينات	Composite Sampling
الطريقة المستمرة	Continuous Sampling Technique
طريقة المعايرة بالترسيب	Precipitation Titration
الطريقة الملائمة لأخذ العينات	Convenience Sampling

Gas Production Method	طريقة إنتاج الغاز
Biuret Method	طريقة بيوريت
Random	طريقة عشوائية
Turbimetric Method	طريقة قياس العكارة
Karl Fischer Titration	طريقة كارل فيشر
Kjeldahl Method	طريقة كلداهل
Lowry Method	طريقة لوري
Intermittent	طريقة متقطعة
Stationary Phase	الطور الثابت
Mobile Phase	الطور المتحرك
Wave length amplitude	الطول الموجي
Electromagnetic spectrum	الطيف الإلكترومغناطيسي
mass spectrometry	طيف الكتلة

ع

Uncertainty	عدم التأكيد
Polyunsaturated	عديدة عدم التشبع
Bandwidth	عرض الممر الطيفي
Turbidity	العكارة
homogenization	عمليات التجنيس
Homogenization	عمليات التجنيس
Relaxation	عملية التراخي
Percolation	عملية التزحيل
Clarification	عملية التنقية
Methylation	عملية ميثل

عمود التبادل الأيوني	Ion Exchanges Column
عوارض	Buffles
العينات العشوائية البسيطة	Simple Random Sampling
العينة	Sample
عينة التحليل	Analysis Sample
العينة العشوائية العنقودية	Cluster Random Sampling
العينة الكلية أو المركبة	Gross or Composite Sample
العينة الممثلة	Representative Sample

ف

فترات ثقة	Confidence Intervals
الفركتوز	D-Fructose
فرن احتراق	muffle furnace
فرن الاحتراق الجرافيتي	Graphite Furnace
فرن الاحتراق الجرافيتي	Graphite Muffle Furnace
فريدة	Unique
فصل البروتينات بالمذيبات	Solvent Fractionation
فصل البروتينات بالهجرة في المجال الكهربائي	Separation by Electrophoresis
فصل البروتينات عند نقطة تعادلها الكهربي	Isoelectric Focusing
الفصل بسبب خصائص الادمصاص المختلفة	Separation due to different Adsorption Characteristics
الفصل والتحليل بواسطة الكروماتوجرافيا	Separation and Analysis by Chromatography
فصل وتمثيل البروتين	Protein Separation and Characterization
الفصوص	Segments
الفعل المنظم	Buffering Action

Photons	الفوتونات

ق

Readout system	القارئة
Chopper	القاطع
Conjugated base	القاعدة المرافقة
Beer's Law	قانون بيير
Acceptability	قبول
Radiant Power "P"	قدرة الإشعاع "P"
Glass Electrode	القطب الزجاجي
Silver/Silver Chloride Electrode	قطب الفضة/ كلوريد الفضة
Indicator Electrode	القطب الكاشف
Saturated Calomel Electrode	قطب الكالوميل المشبع
Cathode	قطب سالب
Reference Electrode	قطب مرجع
Plarity	قطبية
Relative Polarity	القطبية النسبية
Standard Alkali	القلوي القياسي
Alkalinity of Ash	قلوية الرماد
Separatory funnel	قمع الفصل
Saturated KCl Salt	قنطرة كلوريد البوتاسيوم المشبع الملحية
Texture	القوام
Ionic Strength	القوة الأيونية
Electro motive force	القوة الدافعة الكهربية
Van der Waals forces	قوى فاندرفالز

قياس إدمصاص الأشعة	Measurement of adsorption of radiati
قياس الخصائص الطبيعية	Measurement of bulk physical properties
قياس تبعثر الأشعة	Measurement of scattering of radiation
قياس تبعثر الأشعة	Measurement of Scattering of Radiation
قياس درجة جلتنة النشا	Degree of Gelatinization of Starch
قياس معامل التوصيل الكهربي	Electrical Conductivity Methods
قيمة الانسيدين والأكسدة الكلسية	Anisidine Value and Totox Value

ك

الكاشف	Detector
كاشف الصمام الضوئي	Phototube
كاشف الصمام الضوئي المضاعف	Photomultipher tube
الكاشف الضوئي	Photodetector
الكاشف ذو التوصيل الحراري	Thermal conductivity detector
كامة تحويل الطول الموجي	Wavelength cam
الكراهيه للماء	Hydrophobicity
كروماتجرافيا الفصل التجزيئي	Partition Chromatography
كروماتوجرافيا	Chromatography
كروماتوجرافيا الإدمصاص	Adsorption Chromatography
كروماتوجرافيا الألفة	Affinity Chromatography
كروماتوجرافيا الألفة	Affinity Chromatography
كروماتوجرافيا التبادل الأيوني	Ion Exchange Chromatography
كروماتوجرافيا التبادل الكاتيوني	Cation Exchange Chromatography
الكروماتوجرافيا الجيلية	Gel Chromatography
كروماتوجرافيا السائل	Liquid Chromatography

high Performance liquid chromatography (HPLC).	كروماتوجرافيا السائل ذات الضغط العالي
Thin Layer chromatography (TLC)	كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة
Normal Phase Chromatography	كروماتوجرافيا الطور العادي
Reversed Phase Chromatography	كروماتوجرافيا الطور العاكس
Gas Chromatography	كروماتوجرافيا الغاز
Gas chromatography (GC)	الكروماتوجرافيا الغازية
Size exclusion chromatography	كروماتوجرافيا الفصل بالإقصاء الحجمي
Quantitative	كمية
Quartz or Fused Silica	الكوارتز أو السيليكا المصهورة
Quantitative	الكيفي أو النوعي

ل

Immiscible	لا يمتزج مع المذيب
t-test	لاختبار الطالب
Lactose	اللاكتوز
Deuterium lamps	لمبات الديوتيريوم
Tungsten filament lamp	لمبة فتيلة التنجستن
Flame	اللهب
Frequency Bar Chart	لوحة العمود التكراري
Spectrophotometrically	لونيا

م

Oxidant	المؤكسد
Free Water	الماء الحر
Capillary Water	الماء الشعري

الماء المرتبط طبيعياً	Physically Bound Water
الماء المرتبط كيمياتياً	Chemically Bound Water
الماء المقطر أو منزوع الأيونات	Water distilled/deionized
المادة المذابة	Solute
المادة المذابة	Solute
مادة حاملة	Support
مادة مرطبة	Humictant.
المالتوز	Maltose
المبادئ	Principles
المبادل الأيوني	Anion exchanger
المبادل الكاتيوني	Cation exchanger
المتجه الكهربائي	Electric vector
متعدد الألوان	Polychromatic
متعددة	Multiple
متعددة الألوان	Polychromatic
متوسط الانحراف النسبي عن المتوسط الحسابي	Relative Average Deviation from the Mean
المتوسط الحسابي	The Arithmetic Mean
مثبتات	Stabilizers
مثبطات الإنزيم	Enzyme inhibition
المجاميع الوظيفية	Functional groups
المجتمع	Population
المجتمعات المتجانسة وغير المتجانسة	Homogeneous Versus Heterogeneous Population
مجتمعات غير متناهية	Infinite
مجتمعات متناهية	Finite

Riffle Cutter	المجزئ الأخدودي (جهاز ريفيل)
Cationic groups	المجموعات الموجبة
Standards	المحاليل القياسية
Acid Content in Foods	محتوى الأغذية من الأحماض
Reflection gratings	محزوزات الانعكاس
Diffraction gratings	محزوزات الحيود
Intercept	محصور المستقيم
Sampling Risks	مخاطر أخذ العينات
Vender Risk	مخاطرة البائع
Consumer Risk	مخاطرة المستهلك
Frequency Histogram	المدرج التكراري
Range	المدى
Linear range	المدى الخطي
Atomizer	المِذرَّرة
Nebulizer – burner system	المذرية – المشعل
Solvent	المذيب
Concave mirror	مرآة مقعرة
Non-Starch Food Gums / Hydrocolloids	المركبات غير النشوية كالصموغ والمركبات الغروية
Lipoproteins	مركبات معقدة مع البروتينات (الليبوبروتينات)
Glycolipids	مركبات معقدة مع مع السكريات (الجليكوليبيدات)
Trier	المسبار
Emulsifiers	مستحلبات
continuous	مستمرة
Reliability of Analysis	مستوى الثقة في التحليل

Electronic, Vibrational and Rotational Energy Level	مستويات الطاقة الإلكترونية والاهتزازية والدورانية
Frequency Polygon	المضلع التكراري
Major elements	المعادن الرئيسة
Microprocessor	معالج دقيق
Correlation Coefficient	معامل الارتباط
Absorptivity	معامل الامتصاص
Refractive Index (RI)	معامل الانكسار
Coefficient of Variation	معامل التباين أو معامل الاختلاف
Coefficient Partition "K	معامل التوزيع
Equilibrium partition coefficient	معامل التوزيع المتعادل
Pretreatments before extraction	معاملات ما قبل الاستخلاص
Titration	المعايرة
Titration	المعايرة
Calibration	المعايرة
Potentiometric titration .	معايرة قياس فرق الجهد معايرة
Double	معاينة مزدوجة
Single Sampling	معاينة مفردة
Thickeners	مغلظات
Thickeners	مغلظات
Particulate Nature of Light	المفهوم الدقائقي للضوء
Comparison of Methods	مقارنة الطرق
Resistance	المقاومة
Measures of Central Tendency	مقاييس النزعة المركزية
Frequency	مقدار التردد

Increment	مقطع وحدة العينة
Bowl Cutter	المقطعة الحوضية
Bowl Cutter	المقطعة الحوضية
Measurement of Adsorption of Radiation	مقياس الأشعة الممتصة
Analog meter	مقياس التمثيل
Measurement of Bulk Physical Properties	مقياس الخواص الطبيعية الكلية
Measurement of Scattering of Radiation	مقياس تبعثر الأشعة
Equivalents	المكافئات
Height Equivalent to a Theoretical Plate (HETP)	مكافئ الطول للصفائح النظرية
Advantages and Disadvantages	المميزات والعيوب
Chromatographic Zones or Bands	المناطق أو الحزم الكروماتوجرافية
Discreate bands.	مناطق منفصلة
Frequency Curve	المنحنى التكراري
Calibration Curve	المنحنى القياسي
Discrete	منفصلة
Volatile Matters	المواد الطيارة
Gelling agents	مواد جلي
Foaming agents	مواد رغاوي
Reducing Agents	مواد مختزلة
Antinutritional factors	مواد مضادة للتغذية
Gelling agents	مواد هلامية
Ultrasonic Waves	الموجات فوق الصوتية
Plane-polarized	الموجة المستقطبة استوائياً
Slope	الميل

ن

نسبة الإشارة إلى الضوضاء	Signal-to-noise rates
النشاط	Activity
النشاط مقابل التركيز	Activity versus Concentration
نظام آحادي الحزمة	Single-beam system
نظام القفل والمفتاح	Lock and Key binding
نظام المذيب	Solvent System
نظام ثنائي الحزمة	Double-beam system
نفاذية	Transmittance
نقطة التعادل الكهربائي	The isoelectric point
نقطة التوازن	Equilibrium
نقطة النهاية	End point
نقطة النهاية اللونية	Colorimetric Point
نقطة النهاية لدليل الفينولفثاين	Phenolphthalein End Point
نوافذ الكوارتز	uartz windows

هـ

الهاون ويد الهاون	Pestle and Mortar
الهضم	Digestion

و

وحدات النظام العالمي للمقاييس	SI units
وحدة العينة	Sampling Unit
الوزن الجزيئي	Molecular Weight

Equivalent Weight	الوزن المكافئ
Gravimetrically	وزنياً
The Mediu	الوسيط
Snode	وقطب موجب
Fuel	الوقود
Fluorescence phophorescence	وميض فسفوري

ي

Flows	ينساب

ثانياً: إنجليزي – عربي

A

Absolute error	الخطأ المطلق
Absorbance	الامتصاص
Absorbance	امتصاصية
Absorption of Radiation	امتصاص الأشعة
Absorption of Radiation	امتصاص الأشعة
Absorptivity	معامل الامتصاص
Absorptivity Relative	الامتصاصية النسبية
Accelerated Solvent Extraction (ASE)	الاستخلاص بالمذيب بشكل سريع
Acceptability	قبول
Accuracy	الدقة
Acid Content in Foods	محتوى الأغذية من الأحماض
Acid-base Reactions	تفاعلات الحموضة / القلوية
Activity	النشاط
Activity versus Concentration	النشاط مقابل التركيز
Adsorption Chromatography	كروماتوجرافيا الإدمصاص
Advantages and Disadvantages	المميزات والعيوب
Affinity Chromatography	كروماتوجرافيا الألفة
Affinity Chromatography	كروماتوجرافيا الألفة
Algins	ألجينات
Alkalinity of Ash	قلوية الرماد
Amino Acid Analysis	تحليل الأحماض الأمينية
Amplitude "A	ارتفاع الموجة "A

Analog meter	مقياس التمثيل
Analysis of Polysaccharides and Fiber	تحليل السكريات العديدة والألياف الغذائية
Analysis of Starch	تحليل النشا
Analysis Sample	عينة التحليل
Anion exchanger	المبادل الأيوني
Anionic	شحنة سالبة
Anisidine Value and Totox Value	قيمة الانسيدين والأكسدة الكلسية
Antibodies	أجسام مضادة
Antinutritional factors	مواد مضادة للتغذية
Ash Insoluble in Acids	الرماد غير الذائب في الأحماض
Atomic Absorption and Emission Spectroscopy	استطياف الامتصاص والانبعاث الذرى
Atomization	التذرية (فصل العنصر إلى ذراته)
Atomizer	المذرِّرة
Attenuation	توهين

B

Bandwidth	عرض الممر الطيفي
Batch Solvent Extraction	الاستخلاص بالمذيب بشكل دفعات
Beer's Law	قانون بيير
Bell-shaped	شكل الناقوس
Binomial	التوزيع ذو الحدين
Biuret Method	طريقة بيوريت
Bowl Cutter	المقطعة الحوضية
Bowl Cutter	المقطعة الحوضية
Buffering Action	الفعل المنظم

Buffles	عوارض
Bulk Physical Properties	الخواص الطبيعية الكلية
Bonding electrons	إلكترونات الربط

C

Calibration	المعايرة
Calibration Curve	المنحنى القياسي
Capillary Water	الماء الشعري
Cathode	قطب سالب
Cation Exchange Chromatography	كروماتوجرافيا التبادل الكاتيوني
Cation exchanger	المبادل الكاتيوني
Cationic groups	المجموعات الموجبة
Cell Wall Polysaccharides	السكريات المتعددة لجدار الخلية
Centrifugal mill	طاحونة الطرد المركزي ا
Centrifugation	الطرد المركزي
Chemical Methods	الطرق الكيميائية
Chemically Bound Water	الماء المرتبط كيميائياً
Chopper	القاطع
Chromatographic Tube or Column	أنبوبة أو عمود الكروماتوجراقي
Chromatographic Zones or Bands	المناطق أو الحزم الكروماتوجرافية
Chromatography	كروماتوجرافيا
Circular Sampler	ساحب العينات الدائري
Clarification	عملية التنقية
Classification of Carbohydrates	تصنيف الكربوهيدرات
Cluster Random Sampling	العينة العشوائية العنقودية

Coefficient of Variation	معامل التباين أو معامل الاختلاف
Coefficient Partition "K	معامل التوزيع
Colorimetric Methods	الطرق اللونية
Colorimetric Point	نقطة النهاية اللونية
Combination Electrodes	الأقطاب المدمجة
Comparison of Methods	مقارنة الطرق
Complementary	الجزئيات المتممة
Complexation	تكوين المعقدات
Composite Sampling	الطريقة المركبة لأخذ العينات
Concave mirror	مرآة مقعرة
Confidence Intervals	فترات ثقة
Conjugated base	القاعدة المرافقة
Consignments	الرسائل الغذائية
Consumer Risk	مخاطرة المستهلك
continuous	مستمرة
Continuous Sampling Technique	الطريقة المستمرة
Convenience Sampling	الطريقة الملائمة لأخذ العينات
Convention Ovens	الأفران العادية
Correlation Coefficient	معامل الارتباط
Crucibles	البواتق
Curve Fitting: Regression	الانحدار الخطي

D

Decomposition of food components	تحلل مكونات الغذاء
Degree of freedom	درجة الحرية المحسوبة

Degree of Gelatinization of Starch	قياس درجة جلتنة النشا
Denaturation of Contaminating Proteins	الدنترة بالبروتينات الملوثة
Denaturing Electrophoresis	إلكتروفوريسيس الدنترة
Density Method	طرق تقدير الكثافة
Derivitize	تشتق الليبيدات
Detector	الكاشف
Determination of Lipid Composition	تقدير تركيب الليبيد
Determination of Mineral Content	تحليل العناصر المعدنية
Determination of Overall Protein Concentration	تقدير تركيز البروتين الكلي
Deuterium lamps	لمبات الديوتيريوم
Developing	الإظهار
Deviation from Beer's Law	الحيود عن قانون بيير
D-Fructose	الفركتوز
D-Glucose	الجلوكوز
Dialysis	الديلسة
Dietary fibers	الألياف الغذائية
Diffraction gratings	محزوزات الحيود
Digestion	الهضم
Digestion Extraction	الاستخلاص بالهضم
Digestion flask	دورق الهضم
Dilution	التخفيف
Discreate bands.	مناطق منفصلة
Discrete	منفصلة
Dispersing element	أداة تشتيت (محزوز)

Dissociation	تفكك
Dissociation	تفكك
Distillation Methods	طرق التقطير
Double	معاينة مزدوجة
Double-beam system	نظام ثنائي الحزمة
Dry Ashing	الترميد الجاف
Drying	التجفيف
Drying Methods	طرق التجفيف
Dye binding methods	طرق الارتباط بالصبغة
Dynode	أنود ثنائي

E

Elative Deviation from the Mean	الانحراف النسبي عن المتوسط الحسابي
Electric vector	المتجه الكهربائي
Electrical Conductivity Methods	قياس معامل التوصيل الكهربي
Electro motive force	القوة الدافعة الكهربية
Electrode Potential	جهد القطب
Electromagnetic Radiation	الأشعة الكهرومغناطيسية
Electromagnetic spectrum	الطيف الإلكترومغناطيسي
Electronic, Vibrational and Rotational Energy Level	مستويات الطاقة الإلكترونية والاهتزازية والدورانية
Electrothermal	حراري كهربائي
Elution order	ترتيب الإخراج
Emission of Radiation	انبعاث الأشعة
Emulsifiers	مستحلبات

End point	نقطة النهاية
Enzymatic Methods	الطرق الإنزيمية
Enzyme Inactivation	تثبيط نشاط الإنزيمات
Enzyme inhibition	مثبطات الإنزيم
Equilibrium	درجة التوازن
Equilibrium	نقطة التوازن
Equilibrium partition coefficient	معامل التوزيع المتعادل
Equivalent Weight	الوزن المكافئ
Equivalents	المكافئات
Excited states	حالات الإثارة

F

Fatty Acid Methyl Esters	استرات ميثيل الحمض الدهني
Filtration	الترشيح
Finite	مجتمعات متناهية
Flame	اللهب
Flows	ينساب
Fluorescence phophorescence	وميض فسفوري
Foaming agents	مواد رغاوي
Fraction Collector	جامع الطبقات
Free Fatty Acids and Acid Value	الأحماض الدهنية الحرة والرقم الحمضي
Free Water	الماء الحر
Frequency	مقدار التردد
Frequency "ν"	تردد الأشعة "ν"
Frequency Bar Chart	لوحة العمود التكراري

Frequency Curve	المنحنى التكراري
Frequency Histogram	المدرج التكراري
Frequency Polygon	المضلع التكراري
Fuel	الوقود
Functional groups	المجاميع الوظيفية

G

Gas Chromatography	كروماتوجرافيا الغاز
Gas chromatography (GC)	الكروماتوجرافيا الغازية
Gas Production Method	طريقة إنتاج الغاز
Gel Chromatography	الكروماتوجرافيا الجيلية
Gelling agents	مواد جلي
Gelling agents	مواد هلامية
Glass Electrode	القطب الزجاجي
Glycolipids	مركبات معقدة مع مع السكريات (الجليكوليبيدات)
Graphite Furnace	فرن الاحتراق الجرافيتي
Graphite Muffle Furnace	فرن الاحتراق الجرافيتي
Gravimetric Methods	الطرق الوزنية
Gravimetrically	وزنياً
Gross or Composite Sample	العينة الكلية أو المركبة

H

H^+	تركيز أيون الهيدروجين
Hammer mill	الطاحونة المطرقية
Height Equivalent to a Theoretical Plate (HETP)	مكافئ الطول للصفائح النظرية

High Performance liquid chromatography (HPLC).	كروماتوجرافيا السائل ذات الضغط العالي
Homogeneous Versus Heterogeneous Population	المجتمعات المتجانسة وغير المتجانسة
Homogenization	التجانس
Homogenization	عمليات التجنيس
Homogenization	عمليات التجنيس
Humictant.	مادة مرطبة
Hydrophobicity	الكراهيه للماء
Hygroscopic	امتصاص الرطوبة من الهواء

I

Immiscible	لا يمتزج مع المذيب
Impact mill	الطاحونة التصادمية
Impeller mill	الطاحونة الدوارة
Incident ray	الشعاع الساقط
Increment	مقطع وحدة العينة
Indicator	الدليل
Indicator Electrode	القطب الكاشف
Indictively coupled argon plasma	بلازما الارجون الحثية
Infinite	مجتمعات غير متناهية
Infrared Drying	الأشعة تحت الحمراء
Instrumental Methods	الطرق الآلية
Instrumental noise	ضوضاء الجهاز
Interaction	التداخل
Intercept	محصور المستقيم
Interfering	تداخلات

Intermittent	طريقة متقطعة
International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)	الاتحاد الدولي للكيمياء البحتة والتطبيقية في مجال العينات
Iodine Value	الرقم اليودي
Ion Exchange Chromatography	كروماتوجرافيا التبادل الأيوني
Ion Exchanges Column	عمود التبادل الأيوني
Ion Selective Electrodes	إلإلكترودات الاختيارية للأيونات
Ionic Strength	القوة الأيونية
Isoelectric Focusing	فصل البروتينات عند نقطة تعادلها الكهربي
Isoelectric Precipitation	الترسيب عند نقطة التعادل الكهربائي

J

Judgment Sampling	الطريقة الاجتهادية

K

Karl Fischer Titration	طريقة كارل فيشر
Kjeldahl Method	طريقة كلداهل

L

Lactose	اللاكتوز
Lectronic transition	انتقال إلكترونية
Ligand	رابطة
Light control occluder	حاجب ضبط الضوء
Light Scattering	تبعثر الضوء
Linear range	المدى الخطي
Lipoproteins	مركبات معقدة مع البروتينات (الليبوبروتينات)

Liquid Chromatography	كروماتوجرافيا السائل
Lock and Key binding	نظام القفل والمفتاح
Lowry Method	طريقة لوري

M

Major elements	المعادن الرئيسة
Maltose	المالتوز
Mass spectrometry	طيف الكتلة
Measurement of adsorption of radiati	قياس إدمصاص الأشعة
Measurement of Adsorption of Radiation	مقياس الأشعة الممتصة
Measurement of bulk physical properties	قياس الخصائص الطبيعية
Measurement of Bulk Physical Properties	مقياس الخواص الطبيعية الكلية
Measurement of scattering of radiation	قياس تبعثر الأشعة
Measurement of Scattering of Radiation	قياس تبعثر الأشعة
Measurement of Scattering of Radiation	مقياس تبعثر الأشعة
Measures of Central Tendency	مقاييس النزعة المركزية
Methylation	عملية ميثل
Microprocessor	معالج دقيق
Microwave Ovens	أفران الميكروويف
Mobile Phase	الطور المتحرك
Molecular fluorescence	التألق الجزيئي للطيف
Molecular Weight	الوزن الجزيئي
Molecules or Atoms	ذرات المادة أو جزيئاتها
Monochromatic	أحادية طول الموجة
Monochromatic light	الضوء أحادي اللون

Monosaccharides	السكريات الأحادية
Mouthfeel	إحساس الفم
Muffle furnace	فرن احتراق
Multiple	متعددة

N

Nebulizer – burner system	المذرية – المشعل
Neutralization	التعادل
Neutralization	التقطير (المعادلة
Non Cell Wall Polysacchrides	السكريات المتعددة عبر جدار الخلية
Non-probability sampling	أخذ العينات عند عدم تساوي الاحتمالية -
Non-Starch Food Gums / Hydrocolloids	المركبات غير النشوية كالصموغ والمركبات الغروية
Normal Distribution	التوزيع الطبيعي
Normal Distribution	توزيع طبيعي
Normal Phase Chromatography	كروماتوجرافيا الطور العادي
Nuclear Magnetic Resona (NMR)	الرنين المغناطيسي النووي

O

Oligosaccharides	السكريات القليلة التسكر
Oxidant	المؤكسد
Oxidation-reduction Reactions	تفاعلات الأكسدة/ الاختزال.

P

Paper Chromatography	التحليل الكروماتوجرافي التجزيئي بالورق
Particle Size	حجم الجزيئات
Particles	جسيمات أو دقائق

Particulate Nature of Light	المفهوم الدقائقي للضوء
Partition Chromatography	كروماتجرافيا الفصل التجزيئي
Pectroscopy	التحليل الطيفي
Percolation	عملية التزحيل
Peroxide Value	رقم البيروكسيد
Pestle and Mortar	الهاون ويد الهاون
pH &Titratable Acidity	الرقم الهيدروجيني pH والحموضة المعايرة
pH meter	جهاز قياس الـ pH
Phenolphthalein End Point	نقطة النهاية لدليل الفينولفثاين
Photodetector	الكاشف الضوئي
Photomultipher tube	كاشف الصمام الضوئي المضاعف
Photons	الفوتونات
Phototube	كاشف الصمام الضوئي
Physical Methods	الطرق الطبيعية
Physically Bound Water	الماء المرتبط طبيعياً
Plane-polarized	الموجة المستقطبة استوائياً
Plank's constant	ثابت بلانك
Plarity	قطبية
Poisson	توزيع بويسون
Polarimetric Assays	الطرق البصرية
Polarimetry	الاستقطاب (البولاريميتر)
Polychromatic	متعدد الألوان
Polychromatic	متعددة الألوان
Polypeptide	البيتيدات المتعددة

Polysaccharides	السكريات عديدة التسكر
Polyunsaturated	عديدة عدم التشبع
Population	المجتمع
Potentiometric titration .	معايرة قياس فرق الجهد معايرة
Precipitation Titration	طريقة المعايرة بالترسيب
Precision	التوافق
Predominant acid	الحمض السائد
Preparation of Samples for Analysis	إعداد العينات للتحليل
Pretreatments before extraction	معاملات ما قبل الاستخلاص
Principles	المبادئ
Probability Sampling	أخذ العينات عند تساوي الاحتمالية
Probable Error	الخطأ المحتمل
Production Lot	دفعة إنتاج
Properties of Light	خصائص الضوء
Protein Separation and Characterization	فصل وتمثيل البروتين
Pyrex Gooch	البواتق البيركس

Q

Quantitative	كمية
Quantitative	الكيفي أو النوعي
Quantum nature	الطبيعة الكمية
Quartz or Fused Silica	الكوارتز أو السيليكا المصهورة
Quota Sampling	طريقة الكوتا

R

Radiant Intensity "I"	شدة الإشعاع "I"

Radiant Power "P"	قدرة الإشعاع "P"
Random	طريقة عشوائية
Range	المدى
Reactions biochemical	التفاعلات الكيموحيوية
Readout system	القارئة
Redox reactions	تقدير العناصر المعدنية بتفاعلات الأكسدة والاختزال
Reducing Agents	مواد مختزلة
Reference	خلية (رجعية)
Reference Electrode	قطب مرجع
Reflected ray	الشعاع المنعكس
Reflection gratings	محزوزات الانعكاس
Reflux Condensing	التكثيف العكسي
Refracted ray	الشعاع المنكسر
Refractive Index (RI)	معامل الانكسار
Refractometry	طريقة الرفراكتوميتر
Relative Average Deviation from the Mean	متوسط الانحراف النسبي عن المتوسط الحسابي
Relative error	الخطأ النسبي
Relative Polarity	القطبية النسبية
Relaxation	عملية التراخي
Reliability	الاعتمادية
Reliability of Analysis	مستوى الثقة في التحليل
Representative Sample	العينة الممثلة
Reproducibility	التكرارية
Resistance	المقاومة

Restricted Sampling	طريقة أخذ العينات المقيدة
Retention time	زمن الاحتجاز
Reversed Phase Chromatography	كروماتوجرافيا الطور العاكس
Riffle Cutter	المجزئ الأخدودي (جهاز ريفيل)
Rounding off Numbers	تقريب الأعداد

S

Salting Out	الترسيب بالأملاح
Sample	العينة
Sample Analysis	تحليل العينة
Sample Preservation	حفظ العينة
Sampling	أخذ العينات
Sampling tools	أدوات سحب العينات
Sampling for Attributes or Variables	خطط أخذ العينات بالصفات أو بالمتغيرات
Sampling Risks	مخاطر أخذ العينات
Sampling Screw	بريمة أخذ العينات
Sampling Tube	أنبوبة سحب العينات
Sampling Unit	وحدة العينة
Saponification Number	رقم التصبن
Saturated Calomel Electrode	قطب الكالوميل المشبع
Saturated KCl Salt	قنطرة كلوريد البوتاسيوم المشبع الملحية
Segments	الفصوص
Selection of Sampling Procedures	انتقاء طريقة سحب العينات
Sensitivity	الحساسية

Separation and Analysis by Chromatography	الفصل والتحليل بواسطة الكروماتوجرافيا
Separation by Electrophoresis	فصل البروتينات بالهجرة في المجال الكهربائي
Separation due to different Adsorption Characteristics	الفصل بسبب خصائص الادمصاص المختلفة
Separatory funnel	قمع الفصل
SI units	وحدات النظام العالمي للمقاييس
Signal-to-noise rates	نسبة الإشارة إلى الضوضاء
Significant Figures	الأرقام المعنوية
Silver/Silver Chloride Electrode	قطب الفضة/ كلوريد الفضة
Simple Random Sampling	العينات العشوائية البسيطة
Single Sampling	معاينة مفردة
Single-beam system	نظام آحادي الحزمة
Siphoning Cycle).	دورة تفريغ كاملة
Size exclusion chromatography	كروماتوجرافيا الفصل بالإقصاء الحجمي
Size Reduction	تصغير الحجم
Slope	الميل
Snode	وقطب موجب
Soluble and In-soluble Ash in Water	الرماد القابل للذوبان وغير القابل للذوبان
Solute	المادة المذابة
Solute	المادة المذابة
Solvent	المذيب
Solvent extraction	الاستخلاص بالمذيب
Solvent Fractionation	فصل البروتينات بالمذيبات
Solvent System	نظام المذيب

Specificity	التخصصية
Spectrophotometers	أجهزة التحليل الطيفي
Spectrophotometrically	لونيا
Stabilizers	مثبتات
Standard Alkali	القلوي القياسي
Standards	المحاليل القياسية
Stationary Phase	الطور الثابت
Stationary Phases	الأطوار (الأوساط) الثابتة
Stoichemetric	التفاعل يتم بأوزان متكافئة
Straight-line Sampler	ساحب الخط المستقيم
Stratified Random Sampling	الطريقة العشوائية الطبقية
Stray radiation	ضوء متفرق
Sucrose	السكروز
Supercritical Fluid Extraction (SF)	الاستخلاص بواسطة سائل تحت الظروف فوق الحرجة
Support	مادة حاملة
Systematic Sampling	الطريقة العشوائية النظامية

T

Texture	القوام
The Arithmetic Mean	المتوسط الحسابي
The isoelectric point	نقطة التعادل الكهربائي
The Mediu	الوسيط
Thermal conductivity detector	الكاشف ذو التوصيل الحراري
Thickeners	مغلظات

Thickeners	مغلظات
Thief	السارق
Thin Layer Chromatography (TLC)	التحليل الكروماتوجرافي التجزيئي بالطبقة الرقيقة
Thin Layer chromatography (TLC)	كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة
Thiobarbituric Acid (TBA)	اختبار حامض الثيوباربتيوريك
Titration	المعايرة
Titration	المعايرة
Transmittance	نفاذية
Trier	المسبار
Triglycerides	الجلسريدات الثلاثية
t-test	لاختبار الطالب
Tungsten filament lamp	لمبة فتيلة التنجستن
Turbidity	العكارة
Turbimetric Method	طريقة قياس العكارة

U

uartz windows	نوافذ الكوارتز
Ultrasonic Scattering	تبعثر فوق الصوتي
Ultrasonic Waves	الموجات فوق الصوتية
Ultraviolet and Visible Spectroscopy	التحليل الطيفي في المجال فوق البنفسجي والمرئي
Uncertainty	عدم التأكيد
Unique	فريدة

V

Vacuum Ovens	أفران تحت التفريغ
Van der Waals forces	قوى فاندرفالز
Variance	التباين
Vender Risk	مخاطرة البائع
Volatile Matters	المواد الطيارة
Voltmeter	جهاز قياس الفولتية للجهد

W

Waring Blender	خلاط وارنج
Water distilled/deionized	الماء المقطر أو منزوع الأيونات
Wave length amplitude	الطول الموجي
Wave's frequency	تردد الموجة Wave's frequency
Wavelength cam	كامة تحويل الطول الموجي
Wavenumbers "√ "	الرقم الموجي "√"
Wet Ashing	الترميد الرطب

X

X-ray absorption	امتصاص الأشعة السينية

كشاف الموضوعات

أ

Kw ٥٨

pH أو تركيز أيون الهيدروجين ٥٣، ٥٨، ٥٩، ٦٠، ٦١، ٦٢، ٦٣، ٦٤، ٦٥، ٦٦، ٦٧، ٦٨، ٦٩، ٧١، ٧٢، ٧٣

الاتحاد الدولي للكيمياء ٢٨

أجهزة التحليل الضوئي ٢٣٨

أجهزة قياس الطيف الضوئي ٢٤٠

الأحماض الدهنية والرقم الحمضي ١٦٩

اختبار الطالب ٩

اختبر حمض الثيوباربيتورسك ١٧٣

الأدلة ٥٣، ٧٠

ارتفاع القمة مقابل المسافة ٢٨٩

الأرقام المعنوية ١٧

أساسيات طرق الامتصاص الطيفي ٢٢٦

استخدام الموجات فوق الصوتية ٣٠١

الاستخلاص ٢٧٢

استخلاص الليبيدات ١٥٥

الاستخلاص بالمذيب بشكل دفعات ١٥٥

الاستخلاص بالمذيب بشكل متقطع ١٥٧

الاستخلاص بالهضم ١٥٩

الاستقرار الميكروبي ٨٣

الاستقطاب ١٣٠

استيطاف الامتصاص الذري ٢٥٦

الأشعة تحت الحمراء ٨٨

الإظهار ٢٧١

الإظهار ٢٧٥

الاعتمادية ٣١

أعمدة الفصل ٢٩٣

الأفران العادية ٨٧

أفران الميكروويف ٨٧

أفران تحت التفريغ ٧٨

الأقطاب المدمجة ٦٦

آلة الحفر ٣٦
الألياف الغذائية ١٢٣، ١٣٦
الامتصاص الجزيئي ٢٢٨
الامتصاصية ٢٢٨
الامتصاصية الجزيئية ٢٢٩
انتقالات مستويات الطاقة في التحليل الطيفي
الانحدار الخطي ١٣
الانحراف المعياري ٥
الانحراف المعياري النسبي ٧
أيون الهيدرونيوم ٥٨

ب

بريمة العينات ٣٦

ت

التباين ٣١
تبعثر الضوء ١٦٤
تثبيط الإنزيمات ٤٤
تجهيز عمود الفصل ٢٧٣
تحلي الأحماض الأمينية ١٩٣
تحليل السكريات بكروماتوجرافيا الغاز ١٣٤
تحليل العناصر المعدنية ١٠٦
التحليل الكروماتوجرافي التجزيئي عن طريق الأعمدة ٢٨٥
التحليل الكروماتوجرافي بالطبقة الرقيقة ٢٨٣
التحليل الكروماتوجرافي بالورق ٢٨٢
التحليل الكمي ٢٨٩
تحليل النشا ١٣٦، ١٣٨
التحليل النوعي ٢٨٧
التخصصية ٣
التخفيف ٥٧
التداخلات ١٢٧
التداخلات ٢٦٥، ٢٦٦، ٢٦٧
التذرية ٢٥٥
الترسيب بالأملاح ١٩٢
الترسيب عند نقطة التعادل الكهربائي ١٩٢
الترميد الجاف ١٠٢
الترميد الرطب ١٠٤
تصغير حجم العينة ٤٠
تصنيف الكربوهيدرات ١١٩
التعادل ٥٧
تفاعلات الأكسدة / الاختزال
تفاعلات الحموضة والقلوية
التفكك ٦٠

تقدير تركيب الليبيد ١٦٥
تقدير تركيز البروتين الكلي ١٨٢
تقدير محتوى الرماد ١٠١
تقريب الأعداد ١٨
التكثيف العكسي ٣٠١
تنقية المركبات الكربوهيدراتية ١٢٦
توازن الحامض والقلوي ٥٧
التوزيع الطبيعي ٧، ٣١
توزيع بويسون ٣١
التوزيع ذو الحدين ٣١
توفيق المنحنيات ١٣

ج

جزء من البليون ٥٥
جزء من المليون ٥٥
جهاز قياس الرقم الهيدروجيني ٦١
جهد القلب ٦٢
الجيناتد ١٢٣

ح

حالات الطاقة للمادة
حالة الاستقرار ٢٥٣
الحامض القياسي ٧٣
حساب تفاعلات التعادل ٥٣
حفظ العينات ٤٣
الحموضة المعايرة ٥٣، ٦٣
الحيود عن قانون بيير ٢٣١

خ

خصائص الضوء
الخطأ المطلق ١٠
الخطأ المعياري ١٠
الخطأ النسبي ١٠
خطط أخذ العينات ٢٨
خطط أخذ العينات بالصفات أو بالمتغيرات ٣١
الخواص الكيموفيزيائية ١٦٨
خواص الماء في الأغذية ٨٤

د

درجة الحرية ٩
الدقة والتوافق ٣
الدنترة بالبروتينات الملوثة ١٩٣
الديلسة ١٩٥

ر

الرافينوز ١٢١
رقم البيروكسيد ١٧١

الرقم اليودي ١٧٠
الرماد غير الذائب في الأحماض ١٠٥
الرنين المغناطيسي النووي ١٦٨

س

السارق ٣٤
السكريات الأحادية ١١٩، ١٢٠
السكريات الثنائية ١٢١
السكريات عديدة التسكر ١٢٠، ١٢١، ١٢٢
السكريات قليلة التسكر ١٢٠، ١٢١، ١٣٢
سكين أخذ العينات ٣٦
السموم الفطرية ٣٢

ش

شكل الناقوس ٧

ص

صمغ الجوار ١٢٣

ض

ضوضاء الجهاز ٢٣٧

ط

الطاحونة التصادمية ٤٢
الطاحونة الحفارة ٤٢
الطاحونة الحلزونية ٤٢
الطاحونة الدوارة ٤٢
الطاحونة المطرقية ٤٢
الطاقة في حالة التهيج ٢٥٣
الطبيعة الكمية
طرق أخذ العينات ٣٣
طرق استعمال الطيق المرئي – فوق البنفسجي ١٨٦
طرق الارتباط بالصبغة ١٨٧
طرق الاستخلاص بالمذيب بشكل مستمر ١٥٥
طرق الاستخلاص بغير المذيبات ١٦١
الطرق الآلية ١٦٣
طرق الامتصاص الطيفي في (UV-Vis) ٢٢٦
الطرق البصرية ١٢٦
طرق التحليل الكروماتوجرافي ٢٧٣
الطرق الكيميائية ١٦٨
طرق تقدير الرطوبة ٨٦
طرق تقدير الكربوهيدرات ١٢٧
طريقة الإضافة القياسية ٢٣٦
طريقة الألياف الخام ١٤٩
طريقة الألياف الكلية الذائبة وغير الذائبة ١٤٩

الطريقة الإنزيمية ١٢٩
طريقة الترون ١٢٩
الطريقة العشوائية ٣٩
طريقة الكوتا ٣٩
طريقة المنظفات ١٦٢
طريقة بابكوك ١٦١
طريقة بيوريت ١٨٧
طريقة جربر ١٦٢
طريقة دوماس المحسنة ١٨٥
طريقة سوكسلت ١٥٧، ١٥٨
طريقة قياس العكارة ١٨٨
طريقة كلداهل ١٨٣
طريقة لوري ١٨٧
الطور الثابت ٢٧١
الطور المتحرك ٢٧١

ع

عرض الممر الطيفي ٢٤٠
عرض النطاق الترددي ٢٣٤
العكارة ١٢٧
العمود الكروماتوجرافي ٢٧١
عينة متعددة ٣١
عينة مزدوجة ٣١
عينة مفردة ٣١

غ

الغاز الخامل ٢٩٣

ف

فترات ثقة ٨
فصل البروتينات بالمذيبات ١٩٢
فصل البروتينات متباينة الأحجام ١٩٤
فصل الليبيدات بواسطة TLC ١٦٧
الفصل والتحليل بواسطة
الكروماتوجرافيا ١٦٦
فصل وتمثيل البروتين ١٩١

ق

القدرة التنظيمية ٦٧
القطب الزجاجي ٦٥
قطب الكاشف ٦٥
قطب الكالوميل ٦٣
القطب المرجعي ٦٣
قلوية الرماد ١٠٥
قياس إدمصاص الأشعة ١٦٣
القياس الخارجي مقابل الداخلي ٢٩٠
قياس تبعثر الأشعة ١٦٤

قياس درجة جلتنة النشا ١٣٨
قيمة الانسدين ١٧٢

ك

كاراجينان ١٢٣
الكاشف ٢٧٨، ٢٩٢، ٢٩٤، ٢٩٥، ٢٩٨، ٣٠١
الكاشف الضوئي ٢٣٤
الكتروفوريسيس الدنترة ١٩٦
كروماتوجرافيا الإدمصاص ٢٧٣
كروماتوجرافيا الألفة ٢٨٠
كروماتوجرافيا التبادل الأيوني ٢٧٧
الكروماتوجرافيا الجيلية ٢٧٩
كروماتوجرافيا السائل ذات الأداء العالي
الكروماتوجرافيا السائلة ذات الضغط العالي ٢٩٨
الكروماتوجرافيا الغازية ٢٩١
كروماتوجرافيا الفصل التجزيئي ٢٨١
الكواشف ٧٢

ل

اللجنين ١٤٨
لمبة كاثود مفرغة ٢٦٠
لوحة العمود التكراري ١

م

الماء الحر ٨٥
الماء الشعري ٨٥
الماء المرتبط ٨٥
مبادئ الاستيطاف الامتصاصي الذري ٢٥٧
المتوسط الحساب ٢
المجاميع الوظيفية ٣٠١
المجتمع ٥، ٦، ٧، ٨
المجتمعات المتجانسة ٣٣
المجتمعات غير المتجانسة ٣٣
المجزئ الأخدودي ٣٦
مجموعة السلفوتيك ٢٧٨
مخاطر أخذ العينات ٣٣
المدرج التكراري ١
المدى ٥
المذرة ٢٦٢
المركبات الرئيسة للألياف الغذائية ١٤٧
المركبات غير النشوية ١٣٨
المسبار ٣٥
مستوى الثقة في التحليل ٣
مصدر الإشعاع ٢٦١

المضلع التكراري ١
معامل الاختلاف ٧
معامل الارتباط ١٥
معامل الامتصاص ٢٢٨، ٢٢٩، ٢٣٠، ٢٣١، ٢٣٢، ٢٣٤، ٢٣٧
المعايرة ٢٦٥، ٢٦٦
المعايرة بقياس فرق الجهد ٧٠
المعيارية ٥٤، ٧٢
مفردة الضوء ٢٦١
مقاييس النزعة المركزية ٢
المنحنى التكراري ١
المنحنى القياسي الخطي واللاخطي ٢٣٦
منحنى المعايرة القياسية ٢٣٥
منشأ الطيف الذري ٢٥٣
المواد الطيارة ٨٩
مواد تبادل أنيونية قوية ٢٧٨
مواد تبادل أنيونية متوسطة ٢٧٩
مواد تبادل كاتيونية قوية ٢٧٧
الموجات فوق الصوتية ٤٣، ١٦٢
موحد طول الموجات ٢٣٩
المولارية ٥٤

ن

نسبة الإشارة للضوضاء ٢٤٠
نظام حقن العينة ٢٩٣
نوع الماء ٨٩

و

وحدة التسخين ٢٩٣
الوزن الجاف ٨٣
الوسيط ٣