



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية

كلية العلوم

قسم الكيمياء

## تقنية ال HPLC وتطبيقاتها في تحاليل الأغذية

بحث مقدم الى كلية العلوم قسم الكيمياء كجزء من نيل شهادة بكالوريوس علوم كيمياء

من قبل الطلاب

- (١) كرار رعد عبد الكريم
- (٢) حسين عبد الكاظم رحيمة
- (٣) رسول ميري جابر

باشراف:

م.د. بسام فرعون عبد

## كلمة شكر

الحمد والشكر لله رب العالمين على النعم الكثيرة التي من بها علي والصلاة والسلام على

سيدنا محمد وعلى اله واصحابه ومن دعا بدعوته الى يوم الدين .

يسرني ان اتقدم بالشكر والتقدير للاستاذ المشرف لتفضله بالاشراف على البحث ومتابعته

المستمرة التي ساعد باخراجه بشكله الحالي ولايفوتني ان اتقدم بالشكر الى اساتذتي في قسم

علوم الكيمياء لما قدموه من معرفة علمية واخيرا شكري وتقديري الى جميع من ساعدني في

اعداد هذا البحث وفاتني ذكر اسمهم .

كرار رعد عبد الكريم

رسول ميري جابر

حسين عبد الكاظم رحيمة

## الأهداء

الى من غرسا الايمان والحق وحب الخير في اعماق نفسي  
يامن تعجز عن وصفهم الكلمات وكل الكلمات  
.....امي وابي حبا وتقديراً و الى اخوتي  
محبة واعتزاز .الى كل من قدم لي النصيح  
والعون.....عرفانا واحتراماً وتقديرا .

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(بَلْ هُوَ آيَاتٌ بَيِّنَاتٌ فِي صُدُورِ الَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ).

صدق الله العظيم

العنكبوت/جزء من آية ٤٩

## الخلاصة

تقنية السائل عالي الاداء هي تقنية لفصل مكونات مزيج ما كل على حدة وعادة تفضل طرق الاستشراب السائل عالي الاداء (High performance liquid chromatography) على الطرق الاخرى في التحليل الكمي وذلك لنوعيتها المثالية في التحليل بحيث نحصل على فصل نوعي دقيق لمكونات المزيج .

كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء هو شكل من اشكال كروماتوغرافيا الاعمدة وغالبا ما تستخدم في الكيمياء الحيوية والكيمياء التحليلية لفصل وتحديد وقياس المركبات في مخلوط واحد. يستخدم عمود يحتوي على الطور الثابت stationary phase ومضخة لتحريك الطور المتحرك mobile phase وكاشف لتحديد زمن الاحتباس لكل مادة .

## المقدمة

نشأت فكرة [التحليل الاستشرابي](#) على يد العالم الروسي [تسويت](#) سنة ١٩٠١ م عندما حاول فصل الصبغات النباتية الملونة، ولهذا أسماها الكروماتوجرافي (كلمة chroma باللغة اللاتينية معناها لون وgraphein تعني الكتابة) إلا أن هذه الطريقة تتبع الآن بنجاح في فصل جميع المواد غير الملونة من مخاليطها سواء الصلبة أو السائلة أو الغازية.

وقد استخدمت حديثاً في العديد من المجالات والتطبيقات الطبية والصناعية وغيرها حيث تستخدم في فصل وتنقية المواد التي يصعب فصلها بتقنيات الفصل الأخرى كفصل الألوان النباتية أو تقدير نسب مكونات أو مكون ما في مخاليط أو مخلوط ما بالاعتماد على توزيع المواد بين الطورين الثابت والمتحرك ومن معرفة زمن الاستبقاء لكل مادة يتم فصل هذه المادة والتعرف عليها ومن ثم عزلها، ويتم الفصل في ظروف معينة من درجة الحرارة والضغط وبالاعتماد على المواد المراد فصلها.

## الفصل الاول

-الغذاء والعناصر الغذائية-

**(١-١) التغذية السليمة :** يقصد بها امداد الجسم بالطعام وتشمل جميع العمليات التي يؤديها الجسم لاستعمال الطعام للحصول على الطاقة والنمو ولهذا فان التغذية مسؤلة عن توضيح خواص الاطعمة المختلفة التي تبني الاجسام السليمة وتدفع بالصحة للامام .

### (١-٢) علاقة التغذية بالصحة

لاتزال هناك امور غامضة رغم اهتمام الجميع بموضوع التغذية ويحاول الكثيرون امداد نفسهم وعائلاتهم باطعمة مفيدة دون محاولة تعرفها او تعلم اصول التغذية الحديثة فيقمعون فرائس المبتدعين ويشترون الاقراص والحبوب وغيرها من المستحضرات التي يزعم انها تستكمل كل نقص في الغذاء وتكون النتيجة مجرد خسارة في المال .

ان مقدار ما ينفق على شراء الفيتامينات هو واحد ونصف مليار دولار سنويا مع استفادة عدد قليل من المستهلكين من الاطفال و المسنين من هذه الاقراص ولذا فان الغالبية العظمى منهم لاينالون فائدة كبيرة وذلك لان الغذاء الاعتيادي الذي يتناوله الناس يكون كاف تماما من العناصر الغذائية على خلاف ما يعتقد الناس .

وليكن معلوما ان عناصر التغذية الاساسية موجودة في عدد لا حصر له من الاطعمة وبناء على ذلك فليس هناك اساس من الصحة علميا لتفضيل نوع من الاغذية على الاخرى. ويمكن للطبقات الفقيرة التي تعتمد على الاعانات الخيرية ان تجهز وجبات كاملة التوازن اذا استطاعو تدبير امورهم. ولقد ظهرت في بعض الدول التي ليس لها وعي علمي كاف بامراض سوء التغذية حيث انهم يعتمدون اعتمادا كليا على غذائهم على وجبات محدودة ولاحتوي على العناصر الاساسية للغذاء المتوازن .

### (١-٣) الغذاء المتوازن

ان العناصر الرئيسية للغذاء المتوازن هي : البروتينات والفيتامينات والمعادن والدهون والمواد الكربوهيدراتيه . والغريب ان الجسم واسع الحيلة في كيميائيته فهو يصنع السكر من الدهون

وبالعكس ويصنع البروتين وفق حاجته ولهذا فانه يظهر لزاما علينا ان نتناول من اللحم او السمك او البيض او الحليب ما يكفينا وتعتمد الامم الفقيرة في بروتين الحيوان على انواع من البازيلاء وغيرها لوفرة البروتين.

#### (٤-١) عناصر الغذاء الاساسية

من المعروف ان الغذاء يتكون من العناصر الغذائية الاساسية التالية:

- ١- المواد البروتينية
- ٢- المواد السكرية
- ٣- المواد الدسمة (الدهون)
- ٤- العناصر المعدنية والفيتامينات
- ٥- الماء .

وبالرغم من ان معظم الاطعمة تحتوي على عناصر غذائية متنوعة الا اننا في الوقت ذاته لانجد غذاء واحدا يمكنه ان يحتوي على كافة العناصر الغذائية لهذا ينصح خبراء التغذية والصحة العامة بضرورة تناول مختلف اصناف الطعام دون الاقتصار على نوع واحد من الغذاء .

اولا: المواد البروتينية او البروتينات :-

تدخل هذه المواد في تركيب كريات الدم الحمراء وفي الاجسام المضادة التي تلعب دورا رئيسيا في مقاومة الامراض اضافة الى ذلك فهي تدخل في تركيب الهرمونات وفي تكوين عوامل التخثر في الدم وهي تزود الجسم بالطاقة لذلك ينبغي ان يحتوي طعام الانسان على ما يعادل واحد غرام من المواد البروتينية لكل كيلو غرام من وزن الجسم ونذكر من هذه الاطعمة : اللحوم والبقوليات والبيض والحليب ومشتقاته والمكسرات .



صورة للأطعمة الغنية بالبروتينات

### ثانياً: المواد الدسمة (الدهون)

يعتقد الكثير من الأشخاص ان المواد الدسمة تضر بالصحة والجسم ولهذا نجدهم لا يتناولون الاطعمة الدسمة ولكن بالحقيقة هم مخطئون وذلك لان مثل هذه المواد لها اهمية في الجسم فهي تنقل بعض الفيتامينات الى اماكن امتصاصها في الجسم من اجل الاستفادة منها ومن اجل سير العمليات الاستقلابية وتزويد الجسم بالطاقة ولان المواد الدسمة تحترق في الجسم ببطئ لذا فهي تقي الشخص من الشعور بالجوع وذلك بمقارنتها مع المواد السكرية وتجدر الشارة الى ان المواد الدسمة التي تنجمد في درجة حرارة الغرفة تدعى باتلماجد الدسمة المشبعة او المهدرجة وهي التي تسبب الاصابة بامراض القلب والاورعية الدموية والبدانة والسكري وغيرها من المراض التي تهدد صحة الجسم اما المواد الدسمة التي تبقى سائلة في درجة حرارة الغرفة فتدعى بالمواد الدسمة غير المشبعة وهي تعتبر مفيدة للجسم ومن امثلتها الزيوت النباتية



صورة للأطعمة الغنية بالدهون

### ثالثا: المواد السكرية (الكاربوهيرات)

تعتبر السكريات من المصادر الاساسية للطاقة وهي بالاضافة لذلك توفر بعض مواد بناء الانسجة واعضاء الجسم ومن اهم مصادرها الخضار والفواكه والحبوب ونظرا لاهمية المواد السكرية لهذا يجب ان يحصل الانسان على كميات كافية منها يوميا. وان لم يتوفر ذلك فان الجسم يقوم بتامين احتياجاته من المواد الدسمة والبروتينية ومن جراء ذلك قد تحدث بعض الاضطرابات خصوصا ان لم يتوفر المخزون الاساسي من هذه المواد.



صورة للمواد السكرية

### رابعا: الفيتامينات والعناصر المعدنية

تنظم عملية البناء والتركييب في انسجة وخلايا الجسم المختلفة تلعب المعادن دورا مهما في العمليات الحيوية في الجسم فهي وهي ضرورية لاستمرار الحياة والتمتع بالصحة والعافية .



بالفيتامينات صور للاطعمة الغنية

## خامسا : الماء

يحتوي جسم الانسان على ٥٧ لتر من السوائل في بنيته ويطرح بشكل يومي ٥ لترات عن طريق التبول والتعرق والتنفس والتبخر ولهذا فان الجسم بحاجة الى ثمانية اكواب من الماء يوميا كي لا يصاب باية اضطرابات . وتجدر الشارة الى ان الانسان ولو كان عهلى علم باسس التغذية السليمة فانه قد يصعب عليه تطبيقها ان لم يدرك مواقع الخلل في التغذية وكيفية تصحيحها فالمواد البروتينية والدمسة والسكريية والفيتامينات والعناصر المعدنية والماء جميعها ضرورية للجسم لان اي نقص في احدها يسبب اضطرابات في الجسم تؤدي الى اضعافه وتؤثر بشكل سلبي على سلامته ولهذا ننصح الجميع من مختلف الاعمار بضرورة تناول الغذاء الصحي المتنوع الذي يحافظ على الصحة والجمال والحيوية .



الماء اساس الحياة

## (١-٥) الهرم الغذائي



يمثل الهرم الغذائي الخطوة الأولى التي ترشدك إلى ما ستأكله يوميا ويتكون هذا الهرم من ست مجموعات هي :

### ❖ الدهون والزيوت والحلويات التي تستخدم باعتدال وبكميات قليلة

يمثل الجزء العلوي الصغير من الهرم الدهون والزيوت والحلويات وتتضمن هذه المجموعة الزيوت والزبدة والكريمة والسمن النباتي والسكريات والحلويات كما تشمل بعض أنواع التوابل الغنية بالدهون والمايونيز .



❖ مجموعة اللحوم والسمك والبيض والبقوليات المجففة (٢-٣) يوميا.



تأتي المجموعتين السابقتين في معظمهما من مصادر حيوانية وهي مصدر مهم للبروتين والحديد والكالسيوم والزنك.

## ❖ الخضروات (٣-٥) حصة يومية

تحتوي هذه المجموعة على الاطعمة النباتية ويحتاج معظم الناس الى تناول المزيد من هذه المجموعة للتزود بالفيتامينات والمعادن والالياف .



## ❖ الخبز والحبوب والارز والمكرونة (٦-١١) حصة يومية

الاطعمة الموجودة في الهرم الغذائي تتكون معظمها من الحبوب وتزودنا هذه المجموعة بالالياف والكاربوهيدرات والفيتامينات والمعادن .

لقد ذكرنا كلمة حصة في اكثر من مرة فماذا نعني بها ؟

الان سوف نذكر ما يحسب كحصة في كل مجموعة من مجموعات الطعام الستة :

### ١- مجموعة الخبز والارز والحبوب والمكرونة

☒ ١ قطعة من الخبز (٨١١ من حجم الخبز العربي الكبير او ١١٤ من حجم الخبز العربي الصغير) .

☒ ١١٢ شطيرة الهمبركر.

☒ ١ اونصة من الحبوب الجاهزة للاكل .

☒ ١١٢ كوب من الحبوب او الارز او المكرونة المطبوخة .

يمكن اعتبار اي بند من البنود السابقة كحصة واحدة اي ٨١١ رغيف خبز عربي كبير هو عبارة عن حصة واحدة ونصف كوب الارز المطبوخ هو حصة واحدة ايضا وبالتالي يوفر لنا الهرم الغذائي امكانية التنوع عن طريق البدائل المطروحة ضمن كل مجموعة

## ٢- مجموعة الخضروات



☒ كوب من الخضروات الورقية الخضراء

☒ ٢١١ كوب من انواع اخرى من الخضروات

مرة اخرى فان كوب الخضروات الورقية التي هو حصة واحدة و ٢١١ كوب من انواع اخرى من الخضروات هو حصة واحدة .

## ٣- مجموعة الفواكه

• تفاحة متوسطة الحجم او موزة او برتقالة

• ٤١٣ كوب من عصير الفواكه



#### ٤- الحليب ومشتقاته

- كوب واحد من الحليب او اللبن
- ٢١١ اونصة من الجبنة الطبيعية
- ٢ اونصة من الجبنة الصناعية



## ٥- مجموعة اللحوم والبقوليات المجففة والبيض والمكسرات

- ٢-٣ أونصة من اللحم خالية من الدهون او من لحم الطير او السمك
- ٢١١ من البازيلاء المطبوخة المجففة
- بيضة واحدة
- ٢ ملعقة صغيرة من زبدة الفول السوداني



لقد لاحظنا ان مجموعات الطعام الموجودة في الهرم لا تحتوي على عدد محدد من الحصص ولكنها تحتوي على الحد الأدنى من هذه الحصص وهذا يعني ان الهرم الغذائي يمكن توظيفه ليلائم مختلف الفئات العمرية او الجنس او نوعية العمل بسيط او شاق او من الناحية الفسيولوجية مراهق او بالغ او حامل.

ولتسهيل الموضوع يمكننا ان نضع ثلاث مستويات من الطاقة بناء على الحد الأدنى من الحصص الغذائية والحد الأعلى والوسط بينهما وسوف نضع بجانب كل مستوى من مستويات الطاقة الفئة التي يناسبها هذا المستوى كما سنضع عدد الحصص المناسبة لتحقيق مستوى الطاقة المناسبة .

١-٦٠٠ كيلو كالوري وهي مناسبة للنساء اللاتي لا يعملن ولا يقمن بنشاطات كبيرة في المنزل كما انه يناسب كبار السن .

- مجموعة الخبز ٦ حصص
- مجموعة الخضار ٣ حصص
- مجموعة الفواكه ٢ حصة
- مجموعة الحليب ٢-٣ حصص
- مجموعة اللحوم ٥ اونصات
- الدهون الكلية ٥٣ غرام
- السكر المضاف ٦ ملاعق شاي صغيرة

٢-٢٢٠٠ وهي مناسبة للكثير للاطفال والفتيات المراهقات والنساء اللاتي يعملن بجهد والحوامل والمرضعات قد يحتجن اكثر من ذلك.

- مجموعة الخبز ٩ حصص
- مجموعة الخضار ٤ حصص
- مجموعة الفواكه ٣ حصص
- الحليب ٢-٣ حصص
- اللحوم ٦ اونصات
- الدهون الكلية ٧٣ غرام
- السكر ١٢ ملعقة شاي صغيرة

٢٨٠٠-٣ كيلو كالوري وهي مناسبة للاولاد المراهقين وللكتير من الرجال العاملين ولبعض النساء العمالات بعمل يتطلب جهدا كبيرا.

- مجموعة الخبز ١١ حصة
- مجموعة الخضار ٥ حصص
- مجموعة الفواكه ٤ حصص
- الحليب ٢-٣ حصص
- اللحوم ٧ اونصات
- الدهون ٩٣ غرام
- السكر ١٨ ملعقة شاي صغيرة

المرأة الحامل او المرضعة او المراهقة والبالغات حتى عمر ٢٤ سنة يحتجن الى ٣ حصص من مجموعة الحليب.

قد تتسائل عزيزي القارى بعد معرفتك للمعلومات السابقة قد تتسائل عن كيفية انقاص او زيادة وزنك ؟

ان افضل طريقة لذلك هي انك لو اردت انقاص وزنك فعليك بممارسة بعض النشاطات الجسمانية وتاكّد من عدم تجاوزك للحد الادنى من الحصص اما ان اردت زيادة وزنك فعليك ان تزيد من الحصص اليومية لك.



تم الكشف عن توصيات غذائية تتضمن تحديث تفاصيل الهرم الغذائي المعروف عالمياً والذي يندرج لاي شخص ان يتقيد به وذلك بعد ثلاثة عشر سنة من ظهوره وقد عب مسؤولون فيدراليون عن املهم ان يتم من خلال هذا التحديث تقديم هرم جديد ملون يرمز كل لون فيه الى مجموعة غذائية محددة اضافة الى التاكيد على ضرورة ممارسة الرياضة والاعتدال في الاكل كي تتمكن من مواجهة البدانة التي تنتشر بيننا بشكل وباء.

وقد اعتمد الهرم الغذائي الجديد في اسسه على توصيات هيئة التغذية في وزارة الزراعة الامريكية والتي نشرتها في شهر يناير كانون الثاني سنة ٢٠٠٥ ويتضمن العناصر الغذائية الرئيسية وهي الحبوب والفواكه والخضار وكمية محددة من اللحوم والزيوت والدهن.

وحسب تصريح وزير الزراعة الامريكي مايك جوهان : يجب الانتباه الى ما ياكله الفرد ثم ممارسة الرياضة ولو بقدر قليل منها لانه يمكن ان يشكل فارقا بالنسبة للشخص .

والهرم الجديد يحوي رسوما كرتونية تصور المجموعات الغذائية اضيف اليها رسم لشخص يصعد السلم وهو يشير باصبعه الى قمة الهرم وهو رمز لتشجيع النشاط الجسماني حسب ما يصفه بعض الخبراء .

والهدف المنشود من هذا الهرم هو تقديم المساعدة للأفراد في تخطيط نظامهم الغذائي بصورة صحيحة سليمة تناسب جميع الاعمار والاجناس ومستوى النشاط الفيزيائي اليومي لهم .

ويقول ايريك هنتجس وهو مدير مركز (يو اس دي اي) للتغذية : اننا من خلال هذا الهرم نسعى الى تقديم ما يحافظ على الاوزان السليمة وليس بالضرورة انقاصها.

ويرى البعض ان هذا التحديث مهم جدا لانه يحفز على تحديد الوارد من السعرات الحرارية واضفاء الخصوصية على برامج وتوصيات الحماية الغذائية للفرد واعتمد الهرم الجديد كميات الاغذية الاساسية ع النحو التالي :

- الحبوب الكاملة
- الرز
- المكرونة
- المسليات المقرمشة

على ان يسمح بثلاث اونصات يوميا.(١)

## الفصل الثاني

### الطرق الكروماتوكرافية

## Chromatographic methods

### (٢-١) مقدمة :

تمكن العالم الروسي تسوت في العام ١٩٠٦م من اكتشاف الطرق الكروماتوكرافية عندما قام بفصل عصارة النبات على عمود معبأ بكاربونات الكالسيوم حيث مرر على هذا العمود محلولاً من الايثر البترولي المحتوي على مواد النبات ولاحظ ان المواد قد انفصلت الى طبقات ملونة . اطلق العالم على هذه الطريقة اسم الكروماتوكرافيا chromatography وهي كلمة يونانية مكونة من مقطعين الاول chroma وتعني اللون و الثاني graphy وتعني الكتابة .

تشبه الكروماتوكرافيا طريقة التقطير الجزيئي الذي يعتمد على التحرك النسبي لطورين ولكن في الكروماتوكرافيا نجد ان احد الطورين يكون ثابت ويدعى بالطور الثابت stationary phase والطور الاخر يدعى بالطور المتحرك mobile phase (٢).

يمكن تصنيف الكروماتوكرافيا الى تقنيات مختلفة نذكر منها:

١- كروماتوكرافيا الورقة

٢- كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة

٣- كروماتوكرافيا الاعمدة ومنها:

- كروماتوكرافيا السائل ذو الكفاءة العالية (H.P.L.C or L.C)
- كروماتوكرافيا الغاز (G.C)
- كروماتوكرافيا الايونات (I.C)

### (٢-٢) النظرية الحركية للكروماتوكرافيا

تخيل ان الطور الساكن يمثل مرسى قوارب وبه ارصفة متعددة على طول النهر , والطور المتحرك يمثل مياه النهر الجارية بينما المادة المراد فصلها يمكن تمثيلها بقوارب متعددة الالوان , في كل صباح تتحرك عشرة قوارب كمجموعة واحدة في نفس الوقت وكل مجموعة ممثلة بالالوان (الاحمر والاخضر والازرق) , القوارب الحمراء عليها ان تتوقف عند كل الارصفة والقوارب الزرقاء تتوقف بعد كل رصيفين بينما القوارب الخضراء تتوقف بعد كل ثلاثة ارصفة .

عند مشاهدة هذه القوارب في المساء في نهاية النهر مثلا سوف نشاهد القوارب الواصلة كلاتي :

مجموعة القوارب الخضراء اولا ثم تليها مجموعة القوارب الزرقاء واخيرا مجموعة القوارب الحمراء , وعليه المجموعة كلها ( الخضراء والحمراء والزرقاء) التي تحركت بنفس الوقت ونفس سرعة جريان مياه النهر ( الطور المتحرك) انفصلت الى مجموعات خلال اليوم وذلك بسبب التوقف المختلف لكل مجموعة على الارصفة (الطور الساكن) ونشير هنا الى ان جميع الطرق الكروماتوكرافية تتبع الميكانيكية اعلاه و يجب الاشارة ايضا الى ان الزمن المستغرق لكل مجموعة من بدء الرحلة صباحا والوصول الى الارصفة حتلا اخر رصيف مساء يقارن بزمن التأخير (زمن الاستبقاء) (RETENTION TIME) في الطرق الكروماتوكرافية .

## **High performance liquid chromatography (HPLC)** كروماتوكرافيا السائل عالي الاداء

يعتبر ال HPLC احد الطرق الاساسية لتحليل الكثير من المواد العضوية وهو يمتاز مثل بقية الطرق الكروماتوكرافية بالدقة والحساسية العالية كما ان مدى استخداماته لا تعتمد على تطاير العينة او تاثرها بالحرارة كما في GLC ويمتاز ال HPLC بكفائته العالية جدا ع الفصل بالاضافة الى استخداماته في فصل العديد من المركبات المختلفة مثل الفينولات والفيتامينات والسكريات وغيرها.

## Principles of HPLC (٢-٤) اساسيات جهاز

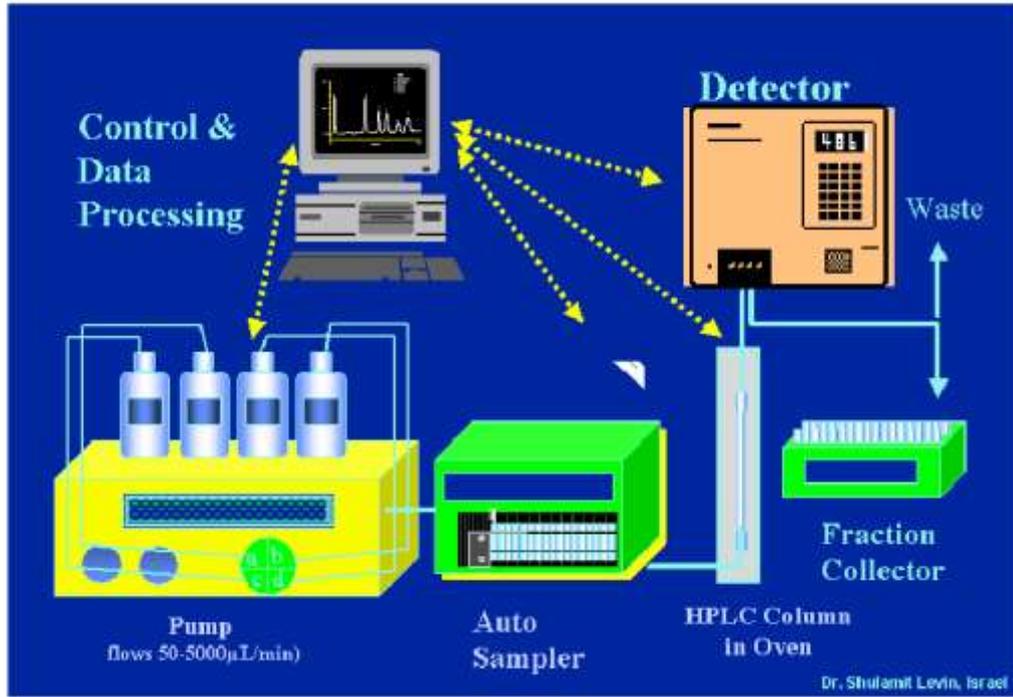
يقوم جهاز ال hplc بفصل مكونات العينة ثم التعرف عليها وتقديرها كميًا ويتمك الفصل عن طريق توزيع العينة ما بين طورين احدهما الطور المتحرك ويكون سائل والاخر ثابت ويكون سائل او صلب , وعادة يكون الطور الثابت في عمود طوله ٢٥ سم وقطره ٤ مم . وتعتمد كفاءة الفصل على مواصفات العمود وبصفة خاصة قطر جزيئات المادة المعبأة داخل العمود و يلاحظ ان خفض قطر الجزيئات يؤدي الى تحسين اداء العمود بالاضافة الى انه يرفع الضغط وبالتالي نحصل على معدل سريان مناسب للطور المتحرك خلال العمود ولهذا السبب فان اجهزة hplc الحديثة يطلق عليها اجهزة الضغط العالي للكروماتوغرافيا السائلة حيث تدفع المضخة الطور المتحرك داخل عمود الفصل والذي بدوره يفصل مكونات العينة خلال المقدر او المكشاف حيث يتم عرضها على شكل كروماتوجرام .(٣)

### ويمتاز الكروماتوكرام بالاتي :

١- المركب الذي يمر خلال العمود يكون تحت ظروف موحدة كما ويكون ثابتا ويسمى retention time كما ان مقارنة الارقام retention مع المواد القياسية يعطي وسيلة للتحليل الطيفي.

٢- المساحة تحت ال peak في الكروماتوكرام تتناسب طرديا مع تركيز المكون في العينة وبالتالي فان التحليل الكروماتوكرافي السائل يمكن ان يستخدم في التقدير الكمي .

## (٢-٥) تركيب جهاز كروماتوغرافيا السائل عالي الاداء HPLC



### المضخة pump

#### الاعمدة

الاعمدة الشائع استخدامها في جهاز ال hplc يتراوح طولها بين ١٠ - ٣٠ سم والقطر الداخلي يتراوح بين ٤ - ١٠ مم و قطر الحبيبات الشائع استخدامها يتراوح بين ٥ - ١٠ ميكروميتر , وعادة ما يكون العمود بطول ٢٥ سم وقطر ٤ مم وقطر الجزيئات ٥ ميكروميتر وفي اجهزة ال hplc تستخدم اعمدة ذات ابعاد اصغر حيث يتراوح طول العمود بين ٣ - ٧,٥ سم وقطر من ١ - ٤,٦ مم وقطر الحبيبات من ٤- ٥ ميكروميتر وبغض النظر عن حجم الحبيبات فانه يتطلب ضغط عالي نسبيا للحصول على معدل السريان المطلوب وهو ١- ٢سم<sup>٢</sup> فاذا كان عمود ابعاده ٢٥ سم \* ٤ مم ومعبأ بجزيئات قطرها ١٥ ميكروميتر فانه يتطلب ضغط ٣٠ جو للحصول على معدل سريان ١ سم<sup>٢</sup> من الهكسان والى ضغط جوي قدره ٥٠ جو للحصول على معدل سريان مناسب للمذيبات الاكثر لزوجة مثل الماء . وللحصول على معدل السريان المناسب فانه يتطلب ان يكون قطر الحبيبات صغيرا يتراوح بين ٣- ١٠ ميكروميتر وهذا هو الحجم الشائع في اجهزة التحليل الكروماتوغرافي الحديثة .

وعادة تستعمل اعمدة من الصلب steel نظرا للضغط العالي للطور المتحرك كما ويجب ان تكون الجدار الداخلي المكونة للانبوبة ناعمة smooth ويجب ان تكون المسافة بين نهاية العمود والمكشاف اقل ما يمكن لمنع استعراض البيك . ويتم التحليل في هذه التقنية عند درجة حرارة الغرفة ولكن في بعض التحليلات غانه من المرغوب ان تكون درجة حرارة العمود مرتفعة واذلك تستخدم اعمدة ساخنة حيث يتم الفصل عند درجة حرارة تتراوح بين ٦٠ - ٨٠ درجة مئوية ويتم التسخين بان يمرر ماء ساخن خلال jacket حول العمود .

اعمدة ال hplc غالية الثمن لذلك يجب العناية بها لمنع تلف ادائها ويوضع قرص مسامي عند بداية العمود لمنع مرور اي مادة صلبة داخل العمود .

### الكواشف Detectors

بعد مرور السائل خلال العمود يمر خلال الكاشف detector حيث يعطي خط Base line ثابت ويجب ان يستجيب لمكونات العينة حيث يعطي اشارة كهربائية تظهر على هيئة كروماتوجرام . ويجب ان تكون الاستجابة الكهربائية للكاشف متناسب خطيا مع تركيز كل مكون في العينة المراد تحليلها وهذا يؤدي الى تقدير مكونات العينة كليا .

### التقدير الكمي Quantitative analysis (٦-٢)

تختلف استجابة الكاشف في جهاز ال hplc من مركب لآخر فمثلا استجابة الكاشف u.v تعتمد على معامل الامتصاص لمكونات العينة واستجابة الكاشف ECD يعتمد على تألف الكترولونات العينة وفضل طريقة للتقدير الكمي هي عمل CALIPRATION لاستجابة الكاشف باستخدام مركب قياسي REFERENCE يضاف الى محلول العينة اي طريقة Internal standrazation وهي تشمل الخطوات التالية :

١- يجري تحليل العينة للحصول على كروماتوكرام لمعرفة عدد ونوع مكوناتها.

٢- نختار مادة لوجود ضمن مكونات العينة ولها وقت ظهور يقع ما بين two peaks للعينة على الكروماتوكرام .

٣- تقدير استجابة الكاشف لكل مكون من مكونات العينة منسوبا الى المادة القياسية الداخلية وذلك باجراء التحليل للعينة المحتوية على المادة القياسية ويجب معرفة تركيز كل مكون من مكونات العينة بالضبط ونلاحظ ان :

مساحة ال peak لاي مادة تتناسب طرديا مع تركيزها في العينة .

مساحة ال  $peak = k$  حيث ان  $k$  هي معامل الاستجابة للكشف لمركب معين وعلى ذلك فالنسبة للمكون  $A$  فان

$$K.concetration(A)= Peak area(A)$$

وبالنسبة للمادة القياسية  $IS$  فان

$$(٤) Peak area (IS)= LIS concentration(IS)$$

## الفصل الثالث

### (٣-١) تطبيقات الكروماتوجرافيا السائلة :

يمكن الاستفادة من كروماتوجرافيا السائل عالية الاداء في عدة مجالات منها في مجال التغذية حيث تستخدم لفحص محتوى غذاء معين من العناصر الغذائية التي يحويها وفي مجال السيطرة النوعية للتأكد من خصائص المواد كما وتستخدم في المجالات الطبية والبحثية والصناعية وغيرها .

### (٣-٢) تطبيقات ال HPLC في تحاليل الاغذية :

- تقدير تركيز الكافيين في الشاي والقهوة والمشروبات الغازية.
- تقدير فيتامين C في عصير الفواكه .
- تقدير تركيز الصوديوم في ملح الطعام.
- تقدير تركيز السكر في مشروبات الحمية الغذائية.
- تقدير تركيز العناصر المعدنية في مياه الشرب النقية.
- تطبيقات اخرى (٥)

## المصادر:

- (١) وزارة الزراعة الامريكية و كي , آر, تي الشرق الاوسط .
- (٢) Ceirwyn,S.(1999).analytical chemistry of foods ,P.64, new york
- (٣) Hessey,G.A,Costanzer,M.L,and
- Bayne,W.F.(1986).J.chromatogar.,380,450 .
- (٤) جمال محفوض / قسم الكيمياء – كلية العلوم – جامعة دمشق – سورية  
تاريخ الايداع 16/5/2006 .
- (٥) Smith,R . M . , Murilla, G.A,Hudaley,T.G,Gill,r.,and
- Mofat,A.C.(1987).J.Chromatogr.,384,259.

## الفهرس

<u>رقم الصفحة</u>	<u>الموضوع</u>
١	<u>الخلاصة</u>
٢	<u>المقدمة</u>
	<u>الفصل الاول</u>
٣	(١-١) التغذية السليمة
٣	(١-٢) علاقة التغذية بالصحة
٣	(١-٣) الغذاء المتوازن
٤	(١-٤) عناصر الغذاء الاساسية
٩	(١-٥) الهرم الغذائي
١٦	(١-٦) الهرم الغذائي الجديد
	<u>الفصل الثاني</u>
١٩	(٢-١) مقدمة
١٩	(٢-٢) النظرية الحركية للكروماتوجرافيا
٢٠	(٢-٣) كروماتوجرافيا السائل عالي الاداء
٢١	(٢-٤) اساسيات جهاز ال HPLC
٢٢	(٢-٥) تركيب جهاز كروماتوجرافيا السائل عالي الاداء
٢٣	(٢-٦) التقدير الكمي
	<u>الفصل الثالث</u>
٢٥	(٣-١) تطبيقات الكروماتوجرافيا السائلة

٢٥ (٣-٢) تطبيقات ال HPLC في تحاليل الاغذية  
٢١

٣١ (٣-٦) تطبيقات ال HPLC في تحاليل الاغذية