

تقدير البرولين باستخدام تقنية الحقن الجرياني - البريق الكيميائي

سهام توفيق أمين ، عدنان مجيد محمد

قسم الكيمياء ، كلية العلوم ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص

تم في هذا البحث إستحداث طريقة جديدة لتقدير البرولين بتقنية التحليل بالحقن الجرياني- البريق الكيميائي باستعمال النظام [لومينول - بيروكسيد الهيدروجين - أيون البلاديوم (II)] تحت أفضل الظروف المختارة وأقل إستهلاك للمواد الكيميائية : (160) جزء بالمليون ، (5×10^{-2}) مولاري ، (5×10^{-4}) مولاري و (10^{-2}) مولاري لأيون البلاديوم ، بيروكسيد الهيدروجين ، اللومينول و حامض الكبريتيك على التوالي . ومعدل سرعة جريان 2.5 مل. دقيقة⁻¹ وحجم الأنموذج المحقون 250 مايكروليتر ، والدالة الحامضية =9 وكانت حدود الخطية للبرولين (40-120) جزء بالمليون ، معامل الارتباط ($r=0.9979$) ، حد الكشف (2.82) جزء بالمليون و معدل الانحراف القياسي RSD% (2.35) لـ 80 ppm من البرولين ، الخطأ النسبي (1.3) و الإستردادية (101.3) % . (n=5)

المقدمة

المذاق، نقطة التعادل الكهربائي هي 6.3 [1] وهو الحامض الوحيد الذي يذوب في الإيثانول المطلق [2].

البريق الكيميائي:

يعرف البريق الكيميائي بأنه الضوء أو الاشعة الكهرومغناطيسية (غالباً ما تكون في المنطقة فوق البنفسجية أو المرئية أو منطقة الاشعة تحت الحمراء) المنبعثة من الجريئة أو الذرة نتيجة لإشتراكها في تفاعل كيميائي ، إذ تنتج حالة وسطية مثارة إلكترونياً ثم تسترخي الجريئة محررةً طاقة الإثارة عند انتقالها من الحالة المثيرة إلكترونياً إلى الحالة المستقرة ، والطاقة المتحررة تكون بشكل فوتونات [5] .

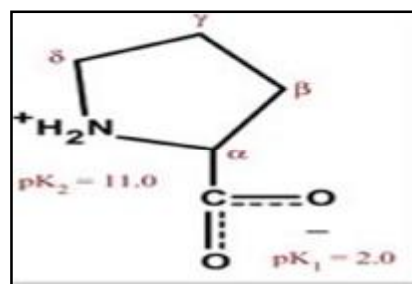
ومن الطرق الحديثة المستعملة هي تقنية الحقن الجرياني المقترن بالبريق الكيميائي إذ يتم حقن النموذج الى التيار الحامل ويتم إنقاء مع الكواشف عند نقطة الالتقاء والتي تكون على شكل حرف T في غرفة مظلمة معزولة عن الخارج ثم تمرر المحاليل من خلال ملف مسطح زجاجي موضوع أمام واجهة الأنبوب المضاعف الضوئي، إذ يساعد الملف على المزج الكفوء وإبقاء المواد المتفاعلة أمام المكشاف مدة أطول لكي يتم تحسين معظم الإشعاع المنبعث لمدة (15-5) ثانية [5].

الأجهزة والمواد الكيميائية المستخدمة :

استخدمت منظومة الحقن الجرياني المقترنة بالبريق الكيميائي والموضحة في الشكل رقم (1) إذ تعد هذه المنظومة مثالية لانجاز ورصد تفاعلات البريق الكيميائي إذ إنها توفر مزجاً سريعاً للمواد المتفاعلة إضافة إلى أن جميع التفاعلات تحدث داخل نظام مغلق بثبوت عدة عوامل مثل التركيز و سرعة الجريان و زمن البقاء ، وسرعة دخول المواد المتفاعلة إلى خلية الجريان FLOW CELL . إذ يحدث مزج عملية مزج الكواشف عند مدخل الخلية ، إن كلاً من هذه العوامل يؤدي إلى الحصول على نتائج دقيقة وذات تطبيقات عالية . وهذه المنظومة تمتاز ببساطتها ، وسرعة نمذجتها العالية ، واقتصاديتها بالنسبة لاستهلاك المواد الكيميائية .

الأحماض الأمينية هي مركبات عضوية أساسية في الخلايا الحية والتي فيها واحد أو أكثر من ذرات الهيدروجين المرتبطة بذرات الكربون التي تستبدل بعدد مماثل من المجاميع الأمينية، وكيميائياً هي أحماض كاربوكسيلية تحتوي على الأقل مجموعة أمينية واحدة من نوع ألفا التي تكون بمجموعها الوحدات البنائية الأساسية لجميع البروتينات [1].

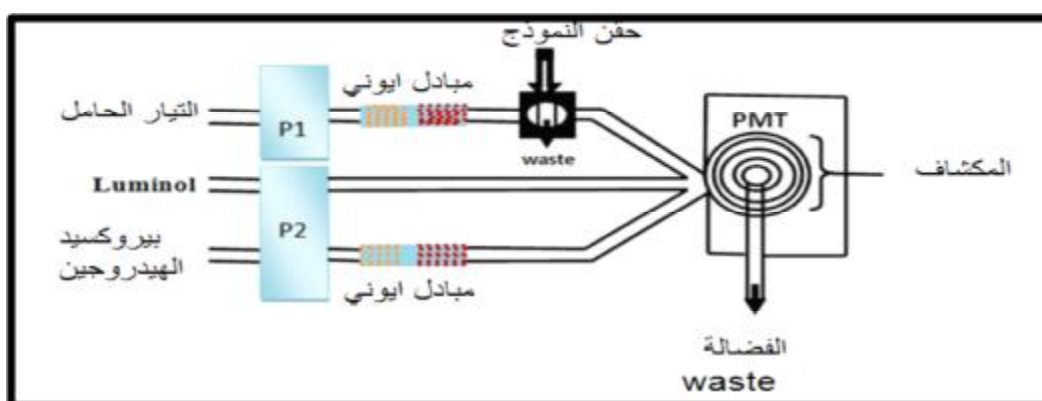
إن الأساليب والطرائق التقليدية للكشف أو تقدير الأحماض الأمينية تستهلك الكثير من المواد الكيميائية بالإضافة إلى قلة الحساسية لذلك أصبح من الضروري إستحداث طريقة تحليلية دقيقة وحساسة وسريعة لتقدير الكميات الضئيلة مثل تقنية التحليل بالحقن الجرياني - البريق الكيميائي حيث إن الحامض الأميني الذي تم تقديره في هذا البحث هو البرولين . والبرولين **proline** هو أحد الأحماض غير الأساسية (Non Essential) أي التي يمكن أن يبنها الجسم [1]. والإسم العلمي له هو Pyroline-2-Carboxylic acid ويمتلك التركيب التالي [2]



يحتوي هذا الحامض على مجموعة الإمينو (**Imino**) والتي تستبدل فيها مجموعة الأمين - ألفا - في هذا الحامض بجزء من المجموعة (R) لينتج تركيباً حلقياً [3]. إن ذرة النتروجين في الأصرة البينية للبرولين تفتقر الى الهيدروجين لكي تشارك بها، البرولين لوحده يتوافق بثبات مع الإلتواء الأول للحلزون ، وعندما يوجد في مكان آخر فإن البرولين يشوّه شكل الحلزون منتجاً طيّة بسبب حجمه الصغير [4]. يوجد بشكل بلورات بيضاء مميزة، وزنه الجزيئي 115.13 غم/مول، حلو



شكل (1) صورة فوتوغرافية للمنظومة المستخدمة لرصد البريق الكيميائي.



شكل (2) مخطط منظومة الحقن الجرياني المقترن بالبريق الكيميائي.

الظروف المثلى للتفاعل والحصول على شدة بريق عالية (معبراً عنها بارتفاع الاستجابة بوحدة مللي فولت) من خلال مبدأ التغير المنفرد لمتغير واحد مع الحفاظ على المتغيرات الأخرى كثابت أثناء الدراسة .

1. اختيار الايون المحفز:

تم دراسة اختيار الايون المحفز في هذه التقنية من خلال تجريب عدد من الايونات المحفزة مثل (الكاديوم، المغنيز، النيكل، البلايوم، الخارصين) . ثنائية التكافؤ لمعرفه قدره هذه الايونات على تحفيز عمليه أكسدة اللومينول مع بيروكسيد الهيدروجين وقابليته على تكوين معقدات مع البرولين والذي بدوره يؤدي إلى إخماد شدة انبعاث البريق الكيميائي لهذه المواد.

2 . إختيار الدالة الحامضية

لقد تمت دراسة تأثير الدالة الحامضية للتيار الحامل من خلال دراسة عدد من المحاليل المنظمة وفي مدى يتراوح من (7-11) ، وقد تم إختيار pH=9 لإعطائها أفضل إستجابة والشكل (3) يوضح ذلك .

ان التفاعلات التي تحدث في منظومة البريق لتقدير المركبات العضوية الفعالة تعتمد على التفاعل بين محلول بيروكسيد الهيدروجين ومحلول اللومينول المحفز بواسطة أيون البلايوم ان وجود الحامض الاميني (البرولين) يؤدي الى تفاعله مع أيون البلايوم وهذا بدوره يؤدي الى تنشيط أو تثبيط في شدة انبعاث البريق الكيميائي نسبة الى الشدة المنبعثة في حالة الأيون المحفز لوحده وتتناسب هذه الزيادة مع كمية المعقد المتكون من التفاعل. ان كمية المعقد المتكون يتناسب مع تركيز المواد الفعالة وعلى هذا الأساس يتم التقدير.

تحضير المحاليل القياسية :

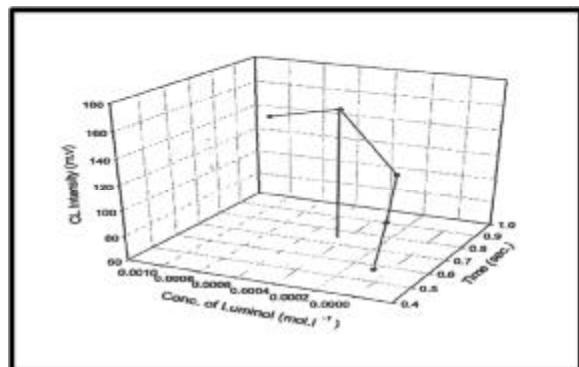
تم تحضير المحاليل القياسية التالية: محلول كاربونات الصوديوم بتركيز 0.1 مولاري، محلول اللومينول بتركيز 1×10^{-3} مولاري ، محلول بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 1 مولاري ، محلول حامض الكبريتيك بتركيز 0.1 مولاري ، محلول ايون البلايوم 200 جزء من المليون ، محلول البرولين بتركيز 1000 جزء من المليون . وقد حضرت التراكيز الأقل من هذه المحاليل عن طريق التخفيف المناسب . وقد استخدمت مواد كيميائية من منشأ أصلية وبنقاوة عالية .

المواد النتائج والمناقشة :

اختيار الظروف المثلى

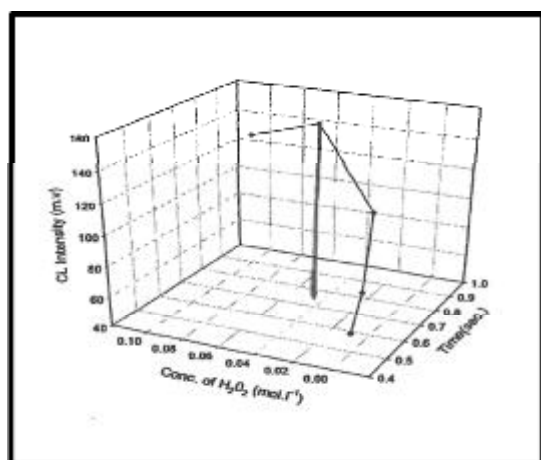
لما كان تفاعل البريق الكيميائي يمتاز بحساسية وسبب وجود العديد من المتغيرات التي تؤثر على تفاعل البريق الكيميائي باستخدام تقنية الحقن الجرياني المستمر لذا تم دراسة هذه المتغيرات لأجل اختيار

في التراكيز القليلة لوحظ انخفاض في البريق الكيميائي بسبب قلة القطع المثارة ، و الشكل (5) يوضح ذلك .



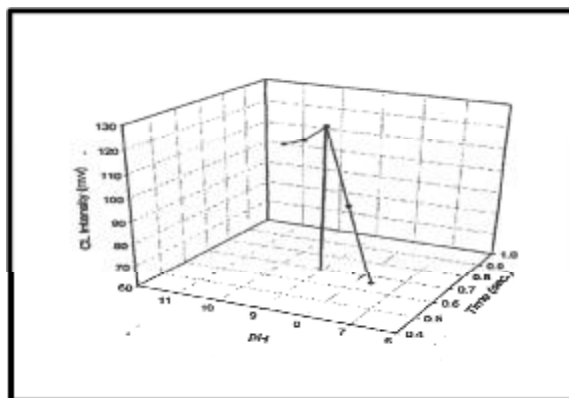
الشكل (5) تأثير تركيز اللومينول على شدة البريق الكيميائي

5. دراسة إختيار أفضل تركيز ليبروكسيد الهيدروجين
تم تحضير سلسلة من المحاليل ليبروكسيد الهيدروجين تتراوح بين (10^{-1} - 10^{-3}) مولاري واستخدمت بشكل متتالي ، ولقد تم إختيار تركيز 5×10^{-2} مولاري كأفضل تركيز لإعطائه أعلى شدة ، إذ لوحظ عند التراكيز الواطنة ليبروكسيد الهيدروجين تم الحصول على أنبعاث ضعيف لضوء البريق الكيميائي بفعل قلة تكوين القطع المثارة والباعثة لضوء البريق الكيميائي بسبب تركيز المادة المؤكسدة ، إلا أنه في التراكيز العالية تقل شدة إنبعاث البريق الكيميائي وقد يعزى ذلك إلى تحرر الأوكسجين والشكل (6) يوضح ذلك .



الشكل (6) تأثير تركيز بيروكسيد الهيدروجين على شدة البريق الكيميائي

6 . دراسة إختيار حامضية أيون البلاديوم
لبيان مدى تأثير الحامضية لمحلول كلوريد البلاديوم على شدة انبعاث البريق تم تحضير سلسلة من المحاليل للحوامض ($\text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{SO}_4$) (HCl) - وقد وجد أن H_2SO_4 يعطي أفضل استجابة لذا تم إختيار حامض الكبريتيك بتركيز 10^{-2} مولاري في الإذابة وتم تحضير البلاديوم في تراكيز تتراوح بين (10^{-1} - 10^{-3}) مولاري من حامض الكبريتيك والشكل (7) يوضح ذلك .

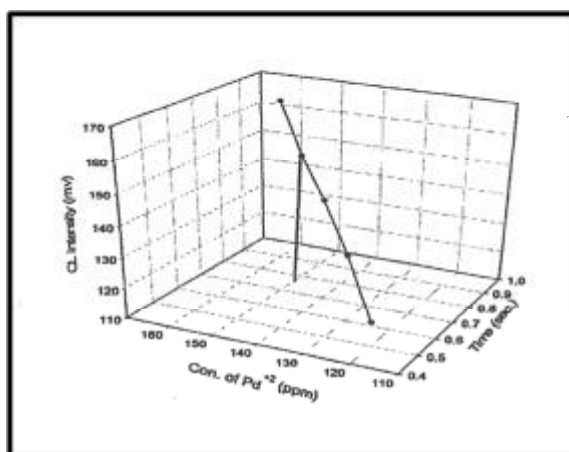


الشكل (3) تأثير الدالة الحامضية للتيار الحامل على شدة البريق الكيميائي

الكيميائي

3 . إختيار أفضل تركيز لأيون البلاديوم Pd^{+2} :

حضرت سلسلة من المحاليل القياسية لأيون البلاديوم تتراوح بين (120-160) جزء بالمليون ، وحقت إلى التيار الحامل وظهرت هناك إستجابة خطية بين التركيز والشدة وقد تم إختيار التركيز 160 جزء بالمليون لإعطاء أفضل إستجابة وكذلك الحصول من خلاله على أستجابة بقمة حادة وهيئة منتظمة أما عند التراكيز الواطنة لوحظ عدم أنتظام الحزمة أي حدوث تشوه بسبب حدوث تصادم في عدد الجزيئات في محيط التفاعل منتجة جزيئات مثارة والفائض منها يتصادم مع جزيئات المواد المتفاعلة في وسط التفاعل وجريئة كلوريد البلاديوم مسببة فقدان طاقتها بشكل طاقة حرارية ومن ثم يؤدي إلى نقصان أنبعاث البريق ، والشكل (4) يوضح ذلك .

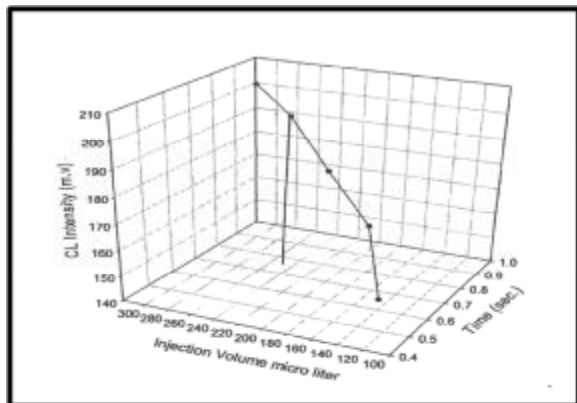


الشكل (4) تأثير تركيز أيون البلاديوم على شدة البريق الكيميائي

4 . دراسة إختيار أفضل تركيز للومينول

تم دراسة تأثير تركيز اللومينول على شدة البريق الكيميائي وذلك من خلال تغير تركيز اللومينول في مدى يتراوح بين (10^{-5} - 10^{-3}) مولاري وأختير التركيز 5×10^{-4} مولاري كأفضل تركيز لإعطائه أعلى شدة حيث لوحظ من خلال الدراسات السابقة قد يحصل نقصان في الشدة عند التراكيز العالية من محلول اللومينول وذلك لأنه يعمل على تكوين معقد بين كلوريد البلاديوم وجريئة اللومينول الزائدة وهذا يؤدي إلى زيادة أستهلاك كلوريد البلاديوم وبذلك يقلل من تأثيره التحفيزي أما

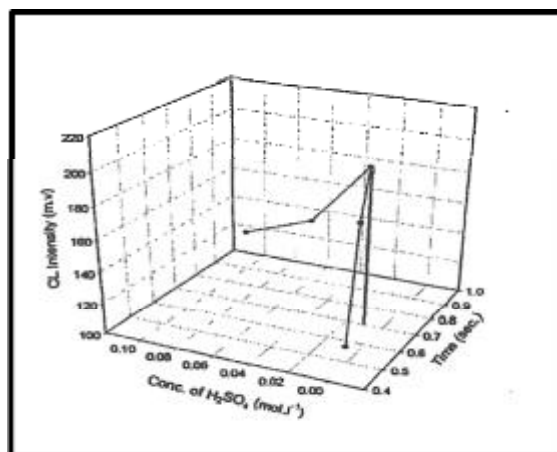
المحقون يؤدي إلى زيادة سرعة وشدة البريق وبناءا على ذلك اختير الحجم 250 مايكروليتر كأفضل حجم لإعطائه أفضل إستجابة وأقل إستهلاك للمواد والسبب في ذلك ان زيادة حجم كلوريد البلاديوم المحقن يؤدي الى زيادة سرعة وشدة البريق الكيميائي والشكل (9) يوضح ذلك



الشكل (9) تأثير الحجم المحقون على شدة البريق الكيميائي

بناء منحنى المعايرة القياسي للبرولين

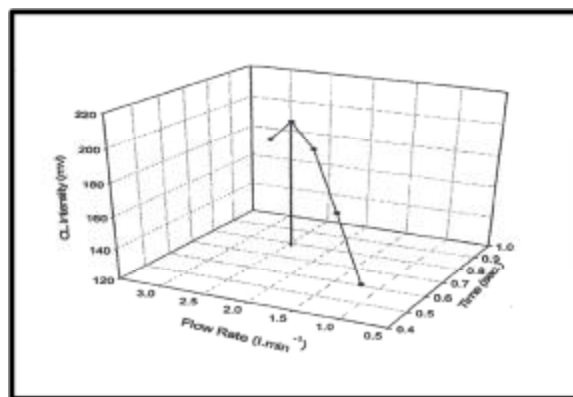
تم تحضير سلسلة محاليل للحامض الأميني البرولين بتركيز (40-120) جزء بالمليون وباستخدام الظروف الفضلى من تراكيز المواد المتممة للتفاعل : الدالة الحامضية = 9 ، أيون البلاديوم 160 جزء بالمليون ، اللومينول (5×10^{-5}) مول/لتر، بيروكسيد الهيدروجين (5×10^{-2}) مول/لتر وحامضية أيون البلاديوم 10^{-2} مولاري من حامض الكبريتيك ومعدل سرعة جريان 2.5 مل. دقيقة⁻¹ لخط اللومينول وبيروكسيد الهيدروجين و 4 مل. دقيقة⁻¹ لخط التيار الحامل للأتمودج وحجم الأتمودج المحقون 250 مايكروليتر ومن ثم حقنت بشكل متزامن ، فتم قياس استجابة البريق الكيميائي (معبراً عنها بمعدل ارتفاع الاستجابة بالمللي فولت) ولخمس قياسات متتالية لكل تركيز. تمت معالجة البيانات رياضياً باستخدام برنامج (Sigma Plot 11.0) واستخدام معادلة خطية من الصنف $y = a + bx$ ، وتم رسم العلاقة بين التغير في تركيز البرولين والتغير في معدل ارتفاع الاستجابة كما مبين في الشكل (10) ولوحظ أن هناك انخفاض في شدة البريق نتيجة للعمل التثبيطي للبرولين ومدى الخطية يتراوح بين (40-120) جزء بالمليون و ($R^2 = 0.9955$) وكانت معادلة الخط المستقيم (linear regression equation) ($y = 1.181X + 5.022$). أما حد الكشف فكان 2.82 مايكروغرام /مل . والانحراف القياسي النسبي لتركيز 40 مايكروغرام /مل ($n=5$) = 2.3% . وطبقت هذه الطريقة على نماذج صيدلانية .



الشكل (7) تأثير حامض الكبريتيك على شدة البريق الكيميائي

7 . تأثير سرعة الجريان على شدة البريق الكيميائي.

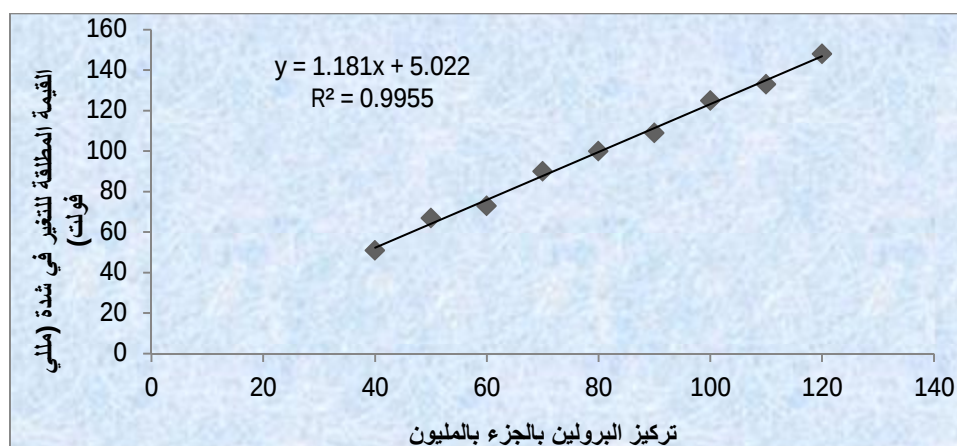
تمت دراسة تأثير معدل سرعة الجريان على شدة البريق الكيميائي باستخدام الظروف المثلى للتقدير بمدى من (1-3) مل / دقيقة وقد تم إختيار السرعة 2.5 مل / دقيقة كأفضل سرعة لإعطائها أفضل إستجابة وأقل إستهلاك للمواد حيث لوحظ كلما يزداد معدل سرعة الجريان تزداد شدة الانبعاث في السرعة الواطنة والسبب يعود الى كون تفاعلات الاكسدة التحفيزية سريعة جدا ونحصل على قمم حادة ومتناظرة ، أما في السرعة العالية تنخفض شدة الانبعاث بسبب سرعة خروج المقطع المضيئ مسبباً توسع في القمم ، والشكل (8) يوضح ذلك .



الشكل (8) تأثير سرعة الجريان على شدة البريق الكيميائي

8. دراسة تأثير حجم كلوريد البلاديوم المحقون على شدة البريق الكيميائي .

عند تثبيت جميع المتغيرات التي تؤثر على شدة البريق تم دراسة تأثير حجم كلوريد البلاديوم المحقن على شدة البريق الكيميائي وذلك بتغير طول المنعطف للصمام الدوراني على حجوم مختلفة (250-300) (125-150-200) مايكروليتر إذ يظهر إن زيادة الحجم يؤدي إلى زيادة شدة البريق والسبب في ذلك إن زيادة حجم كلوريد البلاديوم

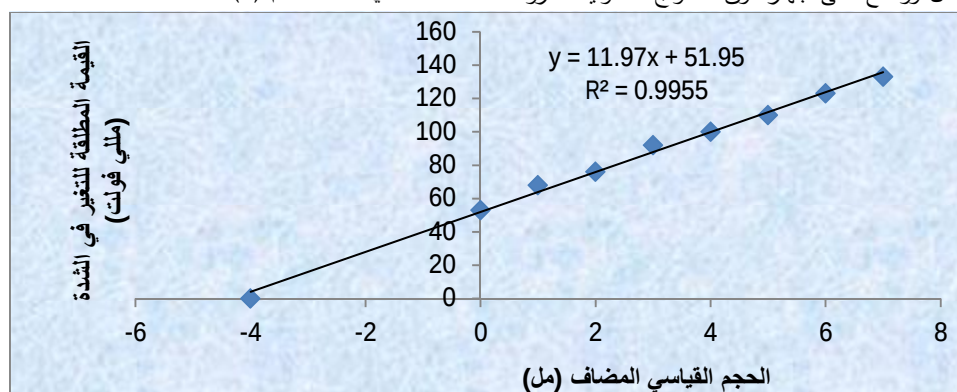


الشكل (10) يبين منحنى المعايرة القياسي للبرولين

بحمام مائي ولفترة 10 دقائق ثم أكمل الحجم الى العلامة في قنينة حجمية سعة 1000 مل بالماء المقطر .
وحضرت سلسلة محاليل من المادة الدوائية بتركيزات تتراوح بين (40-110) مكغم.مل⁻¹ باستخدام طريقة الإضافات القياسية، ثم حققت محاليل المستحضرات خلال منظومة الحقن الجرياني - البريق الكيميائي وتحت الظروف الفضلى ولخصت النتائج الخاصة بتقدير البرولين في الجدول رقم (3) .

التطبيقات

تم التقدير الكمي للمستحضرات الصيدلانية التي تحوي المواد الفعالة إضافة إلى المواد الحاملة بإتباع الطريقة التالية حسب ما منشور في الأدبيات إذ تم سحق ومزج (10) أقراص من المستحضر Solgar-L- proline الذي يحتوي كل قرص 500mg Proline وأخذ منه ما يكافئ وزن قرص واحد وأذيب في كمية مناسبة من الماء المقطر و في بيكر سعة 250 مل ووضع على جهاز فوق الأمواج الصوتية المزود



الشكل (11) يبين منحنى الإضافات القياسية للبرولين

الجدول رقم (3) ملخص نتائج منحنى الإضافات القياسية للمادة الدوائية عند حدود ثقة 95%

مدى تراكيز البرولين (مكغم. مل ⁻¹)	نقطة التقاطع (a) (مللي فولت)	الميل (b) (مللي فولت/ مكغم.مل ⁻¹)	معامل الارتباط (r) ونسبة الخطية (r ²)	قيمة t الجدولية عند حدود ثقة %95	قيمة t المحسوبة	الجدولية F عند حدود ثقة 95%	قيمة F المحسوبة
40 - 110	51.95	11.97	0.9979 0.9958	2.57	2.43	5.05	3.45

الخطية (40-120) جزء بالمليون و معدل الانحراف القياسي %RSD للبرولين (2.35) والخطأ النسبي (1.3).

المصادر

1. د.جاسم محمد جندل الجميلي، "أساسيات الكيمياء الحيوية"، (184-188)، الصفحات (2006) .
2. الدكتور سامي عبد المهدي المظفر "الكيمياء الحياتية" الكتاب الأول، (491-520)، ص(90) .

يستنتج من هذه الدراسة أنه بالإمكان استخدام هذه التقنية لتقدير البرولين بالاعتماد على تثبيط البريق الكيميائي حيث أعطت هذه الطريقة ضبطاً عالياً ودقة وحساسية عاليتين حيث تم الحصول على علاقة خطية بين التركيز والتغير في شدة انبعاث البريق (ΔI) مع معامل ارتباط (0.9979) دلالة على ان المنحنيات القياسية للمواد تمتاز بدرجة عالية من الدقة وان معدل الاسترجاعية (101.3) % وقد أمكن الحصول على حد كشف (2.82) جزء بالمليون . وكان حدود

3. د. قصي عبدالقادر الجليبي "الكيمياء الحياتية"، (2003), p(31).
Edition, (2003), p(31).
5. Ana M. Garcia-Campana, Willy R. G. Baeyens (Chemiluminescence in Analytical Chemistry), (2001), p(42-43).
4. K. Robert Murray, K. Daryl Granner, A. Peter Mayes and W. Victor Rodwell. (Harper's (75)ص (1990).

Determination of L-Proline by Flow Injection Analysis - Chemiluminescence Technique

Suham T. Amine¹ and Adnan M. Mohammed²

^{1,2} Chemistry Department, College of Science, University of Tikrit, Sallah AL-Den, Iraq.

Abstract :

A new method for determination of L-Proline by Flow Injection Analysis – Chemiluminescence Technique using (Luminol - Hydrogen peroxide- Pd^{+2}) System, under the optimum conditions and less chemicals used: The concentrations were (160) ppm, (0.05)M, (5×10^{-4}) M and (0.01)M for Pd^{+2} ion, Hydrogen peroxide, luminol and Sulphuric acid respectively. flow rate is 2.5 ml/min, Injection Volume was 250 μL , pH = 9. The linearity of concentration of L-Proline was (40 – 120) ppm, correlation coefficient were ($r = 0.9979$). The Detection limit was (2.82) ppm, the relative standard deviation RSD% (2.35) for 80 ppm of L-Proline ($n=5$), Relative Error (1.3) and Recovery (101.3)%.

Key word : L-Proline, Flow Injection, Chemiluminescence, Luminol.