

التقدير الفولتامetri لليوريا باستخدام خلية جريان تحوي قطب الكرافيت المفطر بعجينة الباقلاء وتطبيقه في تقدير اليوريا في بلازما الدم

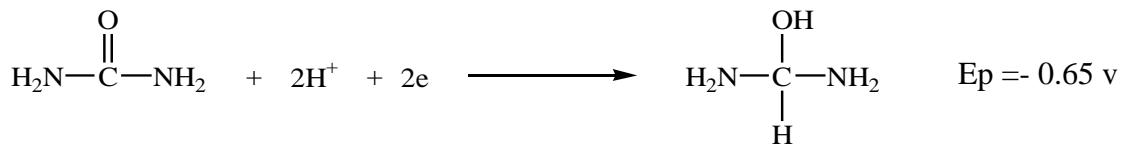
يسرى مجيد شهاب الشاكر

كلية البيئة، جامعة الموصل، الموصل، العراق

(تاريخ الاستلام: ٢٥ / ٤ / ٢٠١٠ ---- تاريخ القبول: ١٣ / ١٢ / ٢٠١٠)

الملخص

تم في هذا البحث تقدير كميات ضئيلة لليوريا باستخدام طريقة التحليل بالحقن الجرياني الفولتا متري وبواسطة قطب عجينة الباقلاء الطازجة الحيوي. تعتمد هذه الطريقة على تحليل اليوريا بواسطة أنزيم اليوريز الموجود في الباقلاء الطازجة الى أيونات البيكاربونات والامونيوم بوجود محلول الفوسفات المنظم عند pH=7 وعند جهد إختزال (-0.65 V). حدود الكشف تتراوح بين (10-100)µg/ml ومربع معامل الارتباط 0.995 والانحراف القياسي النسبي (4.16 - 0.59). وطبقت الطريقة بنجاح لتقدير اليوريا في بلازما الدم.



المقدمة:

تعد الباقلاء مصدرا مهما للبروتين كما تحتوي على العناصر المختلفة منها الفوسفات والكالسيوم ومجموعة من الفيتامينات مثل مجموعة (B) المعقدة مع كميات قليلة من فيتامين(C) [2,1]. ويوجد الدهن بنسبة قليلة تبلغ حوالي (1.5 %) . وللبقوليات تأثيرات واضحة على الإنسان والحيوان بسبب احتوائها على مواد فعالة تؤثر على النظام الحيوي ومن هذه المواد الفعالة مثبطات التريسين والصابونين والعوامل المسببة للغازات وأنزيم اليوريز والليوكسينيز [3].

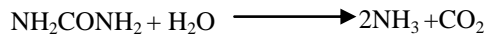
تم تقدير اليوريا في حليب البقر والغنم بواسطة تحليل الحقن الجرياني اذ يتم تقدير محتوى اليوريا بواسطة تفاعل بيرثلوت بعد تحلله انزيميا عن طريق انزيم اليوريز، حيث يتم قياس امتصاص اللون الاخضر الناتج من تفاعل ايونات الامونيوم مع الهايبوكلورات والسالسليت عند (660) نانوميتر [4].

تم تقدير طريقة حساسة للتحقق الجرياني الطيفي لتقدير الامونيا تعتمد على تفاعل الاندوفينول الازرق الناتج من تفاعل السالسليت والهايبوكلورايت بوجود ايون المنغنيز (II) كعامل مساعد. وكان مدى الكشف لايون الامونيوم (0.005) ملغم/لتر. وكان منحنى المعيار خطياً لمدى من التركيز يتراوح بين (5-1000) جزء/بليون جزء والانحراف النسبي يتراوح بين (6.4 - 22%) [5].

قدرت اليوريا بواسطة متحسس حيوي جهادي وهو عبارة عن قطب لقياس الاس الهيدروجيني يحتوي على n-ثلاثي دودسيل أمين لانتقاء ايون الهيدروجيني، اذ تم تحور القطب انزيميا بواسطة التآصر التساهمي لجزيئات اليوريز مباشرة على سطح الغشاء الجهادي، هذا النظام مفيداً في تقدير المستحضرات الطبية والصيدلانية الحاوية على اليوريا في الادرار [6].

مبدأ الطريقة

تم في هذا المبحث تطوير طريقة جديدة لتقدير اليوريا بواسطة هذا المتحسس الحيوي الفولتامetri البسيط السهل التحضير والذي يعتمد في تركيبه على عجينة الباقلاء الطازجة، اذ تم تحليل اليوريا بواسطة انزيم اليوريز الموجود في العجينة مكوناً امونيا وثنائي اوكسيد الكربون كما في المعادلة الآتية:



الجزء العملي

المواد الكيميائية والمحاليل:

لقد استخدمت مواد كيميائية ذات نقاوة عالية.

حضر (٥٠٠) مايكروغرام/مل من محلول اليوريا بأذابة (٠,٠٥) غم من اليوريا في الماء المقطر في قنينة حجمية سعة (١٠٠ مل) ثم أكمل الحجم بالماء المقطر إلى حد العلامة. وقد تم تحضير بقية التراكيز من هذا المحلول بالتخفيف إلى (١٠٠) مل بالماء المقطر للحصول على التراكيز النهائية بالميكروغرام/مل. ان محاليل اليوريا هذه مستقرة لمدة لا تقل عن يوم واحد.

محلول الفوسفات المنظم (٠,٠٥ مولاري، pH=٧):

حضر باذابة (٦,٨) غم من KH_2PO_4 في الماء المقطر ثم عدل الح-pH إلى (٧) بمحلول (٠,٠١) مولاري NaOH ثم اكمل الحجم إلى العلامة في قنينة حجمية سعة (١٠٠٠ مل) بالماء المقطر اقراص. انزيم اليوريز مصنعة من قبل شركة (BDH) (يحلل القرص الواحد ١٥٠ ملغم من اليوريا في ثلاث ساعات عند ٣٧ م°).

تحضير عجينة انزيم اليوريز مع المواد الكيميائية

سطح القطب العامل ذلك للتأكد من النقل الفعال للنموذج إلى سطح القطب كما تحتوي الخلية على فتحة اخرى لخروج المحلول بقطر (١) ملم كما وضع واشر (O-ring) بين جزئي الخلية لمنع تسرب المحلول، ويسمح هذا التصميم بفتح الخلية وتنظيفها واعادة فعالية الاقطاب العاملة. كما تم ربط جزئي الخلية بوساطة ثلاث مسامير لولبية.

D. استخدام مثبت الفولتية نوع (High power potentiostat HP72)، كما استخدم جهاز ماسح للجهد (Scanning Modil Wenking model SMP-72) كمصدر للفولتية (Voltage-de) المطلوبة خلال التجربة مع جهاز افوميتر نوع (Multimeter digital DR830 D) لقياس الفولتية.

E. مسجلة خطوط بيانية نوع (Recorder X-t Potentiometer linear) وتتراوح الحساسية فيه بين (٠,٥ ملي فولت - ١٠٠ فولت) كما استخدم ميزان حساس نوع (Sartorius bl 210S) وجهاز لقياس الاس الهيدروجيني نوع (Philips PW 9420 Ph-meter) وجهاز المطياف الضوئي موديل (Spectrophotometer UV-920) مجهز من شركة (Biotech Engineering Management Co.KTD Cyprus).

تم مزج (٠,٠٥) غم من الباقلاء الطازجة المسحوقة جيداً مع (٠,٠٥) غم من مسحوق الكرافيت الناعم ووضعها في الفجوة الموجودة في أمام سطح قطب الكرافيت بقطر (٥) ملم.

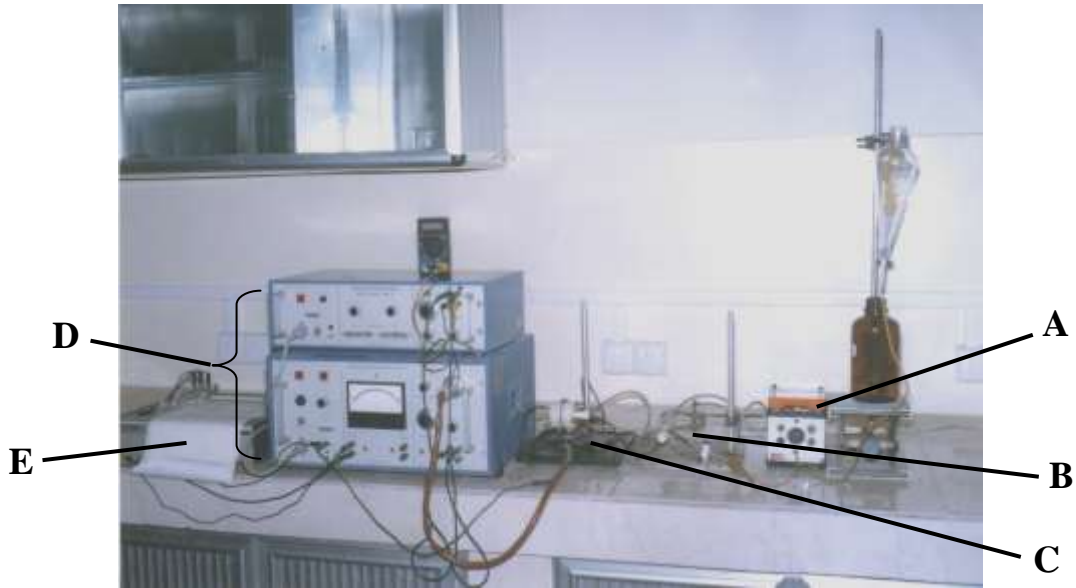
الأجهزة المستخدمة:

استخدمت الأجهزة والأدوات في الشكل (١)

A. نظام الدفع: تم استخدام نظامين لدفع المحلول الحامل، أما باستخدام مضخة موديل Varioperpea®-Iipumpex لسحب المحلول الحامل من القنينة الحاوية على المحلول الحامل إلى محقن النموذج بوساطة أنابيب قطرها (١) ملم وطولها (٥٠) سم أو بفعل الجاذبية الأرضية.

B. وحدة حقن النموذج: تم حقن النموذج بوساطة المحقنة البلاستيكية (Syringe loaded in jection) ذو حجم (٥) مل.

C. نظام الكشف: يتكون نظام الكشف من جزئين، الجزء الأول يحتوي على قطب المرجع وهو قطب الفضة / كلوريد الفضة المشبع بكلوريد البوتاسيوم Ag / AgCl sat. KCl، أما الجزء الاخر فيحتوي على القطب العامل وهو قطب الكرافيت بقطر (٥) ملم مغطى بعجينة من الباقلاء الطازجة والقطب المساعد وهو سلك من البلاتين بقطر (١,٥) ملم. وتم تصميم الخلية على اساس الجريان المتدفق (wall-jet) اذ ان المحلول الحامل للنموذج يدخل من فتحة دخول النموذج ويضرب



الشكل (١) منظومة الحقن الجرياني تتكون من (A) وحدة المحلول الحامل (B) وحدة حقن النموذج (C) نظام الكشف (D) مثبت الفولتية (E) مسجل الخطوط البيانية

اس هيدروجيني (7) على قطب الكرافيت، اذ تم تغيير الجهد تدريجياً من (-0.05) فولت نزولاً إلى (-0.70) فولت، وتم قياس تيار الاختزال بدلالة ارتفاع القمة عند كل جهد كما موضح في الجدول (١). وقد تم اختبار (-0.6٥) فولت كجهد اختزال وذلك لإعطائه أعلى قمة اختزال، وثبتت هذه الفولتية في التجارب اللاحقة.

دراسة الظروف المثلى للتفاعل:

اختيار الجهد المسلط:

تمت دراسة تأثير الجهد المسلط وذلك باستخدام (1) مل من (100) مايكروغرام /مل من اليوريا مع إمرار محلول الفوسفات الحامل عند

اليابسة من درجة حرارة ورطوبة ... الخ قد تؤدي إلى تثبيط فعالية انزيم اليوريز لهذا فقد تم تفضيل استخدام قطب عجينة الباقلاء الطازجة وبكمية تتراوح بين (٠,٠٢٥ - ٠,٠٥٠) غم كونها تمثل القيمة المثلى للحصول على فرق عملي في ارتفاع القمة، وتم تثبيت هذا المدى في التجارب اللاحقة كما الجدول (٣).

الجدول (٣): تأثير نوعية الباقلاء على موجة الاختزال

Amount of dry bean (gm)	Peak height (cm)*	Δ_1 (cm)	Peak height (cm)*	Δ (cm)
٠,٠٠٠	٢,٠	١١٨,٠	٢,٠	١١٨,٠
٠,٠٢٥	٣,٠	١١٧,٠	١,٠	١١٩,٠
٠,٠٥٠	١,٨	١١٨,٠	٠,٠	٢٠٠,٠
٠,٠٧٥	٠,٠	٢٠٠,٠	٠,٠	٢٠٠,٠

* معدل ثلاث قراءات وعند حساسية (٢) ملي فولت.

Δ_1 يساوي الفرق في ارتفاع قمتي اختزال قطبي الكرافيت وعجينة الباقلاء الطازجة.

Δ يساوي الفرق في ارتفاع قمتي اختزال قطبي وعجينة الباقلاء اليابسة.

** ارتفاع قمة اختزال اليوريا على قطب الكرافيت ويساوي (١٢٠) سم.

وكما مبين في الجدول (٣) ان وجود زيت البارافين يسبب انخفاضاً حاداً في ارتفاع حزمة اختزال اليوريا مما يستدعي استبعاد استخدام الزيت في التجارب اللاحقة.

دراسة تأثير نوعية الكاربون المستخدم:

تم مزج (١,٠) غم من الكاربون أو الكرافيت كلاً على حدة مع (٠,٠٢٥) غم من مسحوق الباقلاء الطازجة، وحقن (١) مل من (٥٠٠) ماكروغرام/مل من اليوريا في هذه التجربة والتجارب اللاحقة. سجل ارتفاع قمة حزمتي الاختزال على قطب الكرافيت والعجينة كما موضح في الجدول (٤). ولوحظ ان قمة اختزال قطب عجينة الفحم النباتي أقل ارتفاعاً مما هي في حالة قطب عجينة الكرافيت والسبب يعود إلى زيادة قيمة توصيلية الكرافيت مما هي عليه في الفحم النباتي، فضلاً عن ان مسحوق الكرافيت الناعم يعمل على تماسك العجينة بقوة أكبر بكثير منه في حالة الفحم النباتي.

الجدول (٤): تأثير نوعية الكاربون المستخدم

Type of electrode	Peak height (cm)*	Δ_1 (cm)
Charcoal paste	٠,٥	١٠٦,٥
Graphite paste	٧,٥	٩٩,٥

* معدل ثلاث قراءات عند حساسية (٢) ملي فولت.

** ارتفاع الحزمة على قطب الكرافيت ويساوي (١٠٧,٠) سم.

Δ_1 يساوي الفرق بين ارتفاع حزمة قطبي الكرافيت والعجينة.

تأثير كمية مسحوق الكرافيت:

دراسة تأثير كمية مسحوق الكرافيت على تركيب قطب العجينة بأخذ اوزان مختلفة منه ومزجها مع (٠,٠٢٥ - ٠,٠٥٠) غم من الباقلاء الطازجة المسحوقة جيداً ووضعها في فجوة قطب الكرافيت بسمك (٥) ملم مع حقن (١) مل من ٥٠٠ مايكروغرام/مل، ولوحظ كما موضح

الجدول (١): تأثير الجهد المسلط على ارتفاع القمة

Peak height (cm)*	(volt)
٠,٠	٠,٢٠-
٠,٠	٠,٣٠-
٧,٠	٠,٣٥-
١٣,٠	٠,٤٠-
١٥,٠	٠,٤٥-
١٩,٠	٠,٥٠-
٢٧,٠	٠,٥٥-
٤٥,٠	٠,٦٠-
٥٣,٠	٠,٦٥-
٥٣,٠	٠,٧٠-

• معدل ثلاث قراءات عند حساسية (٢) ملي فولت.

تأثير تركيب قطب الباقلاء:

تمت دراسة تأثير كميات من مسحوق الباقلاء اليابسة على ارتفاع موجة الاختزال بعد مزج كل كمية مع (١,٠) غم من الفحم (Charcoal) و(٠,٩) غم من زيت البارافين [٧]، ثم توضع هذه العجينة في قطب الكرافيت، وتم حقن (١) مل من (١٠٠) مايكرو غرام/مل من اليوريا في هذه التجربة والتجارب اللاحقة الا إذا ذكر غير ذلك وامرار محلول الفوسفات المنظم الحامل في وحدة الخلية. ولوحظ ان ارتفاع حزمة الاختزال يقل بازدياد مسحوق الباقلاء اليابسة في تركيبة القطب وهذا ما يوضحه الجدول (٢).

وذلك تمت محاولة استخدام مسحوق الباقلاء الطازجة في تحضير قطب العجينة ومقارنة كل كمية منه مع نظيرتها من مسحوق الباقلاء اليابسة وملاحظته تأثير كل نوع على ارتفاع موجة الاختزال كما في التجربة اللاحقة.

الجدول (٢): تأثير كمية الباقلاء اليابسة على ارتفاع حزمة الاختزال

Amount of dry bean (gm)	Peak height (CM)*	Δ (CM)*
٠,٠	١١٨,٠	2.0
٠,٠٢٥	١١٩	1.0
٠,٠٥٠	١١٩,٢	0.8

* معدل ثلاث قراءات وعند حساسية (٢) ملي فولت.

** ارتفاع قمة اليوريا على القطب الكرافيت عند العجينة ويساوي (١٢٠) سم.

Δ يساوي الفرق بين ارتفاع حزمتي لقطب عجينة الباقلاء اليابسة والكرافيت.

ونظراً للنتائج التي تم التوصل إليها في التجارب السابقة فقد تمت دراسة تأثير نوعية الباقلاء (اليابسة والطازجة) على ارتفاع موجة الاختزال، وذلك بمزج اوزان مختلفة من كلا النوعين كل على حده مع (٠,٩) غم من زيت البارافين و(١,٠) غم من الفحم النباتي واستخدام الظروف المثلى السابقة وعند جهد (٠,٦٥) فولت. ولوحظ انه لا يوجد اختلاف تجريبي يذكر بين كل وزن من اوزان مسحوق الباقلاء الطازجة ونظيره من الباقلاء اليابسة. ونظراً لان ظروف تخزين الباقلاء

1.5	4.0
2.0	6.0
2.5	7.0
3.0	9.0
3.5	8.2

* معدل ثلاث قراءات عند حساسية (٢) ملي فولت.

تأثير التركيز والمنحنى القياسي

تم رسم المنحنى القياسي لليوريا وذلك بتحضير سلسلة من التراكيز المختلفة (١٠-٥٠٠) مايكروغرام/مل من اليوريا، وتم قياس حزمة الاختزال تحت الظروف المثلى المبينة في الجدول (٨) .

الجدول (٨) الظروف المثلى المستخدمة لرسم المنحنى القياسي لليوريا

Variable	Optimum value
Type of paste electrode	(0.025- 0.050) gm of fresh bean tissue + (0.050) gm graphite powder
pH	7.0
E applied	- 0.65 volt
Injected volume	1.0 ml
Flow rate	3.0 ml/min

تم طرح ارتفاع حزمة الاختزال على قطب العجينة من ارتفاع حزمة الاختزال على سطح قطب الكرافيت لكل التراكيز لتكوين محصلة الطرح قيمة ارتفاع حزمة الاختزال التي تتناسب طردياً مع تركيز كمية اليوريا، وهذا ما يوضحه الجدول (٩) . وعند رسم العلاقة بين التراكيز وارتفاع قمة الاختزال (الشكلين ٢،٣) نحصل على منحنيين قياسييين الاول يمثل التراكيز الواطئة من محلول اليوريا لمدى يتراوح (١٠-١٠٠) مايكروغرام/مل بمرجع معامل ارتباط (٠,٩٠٢). اما المنحنى الثاني فكان عند التراكيز العالية، اذ يتراوح (٢٠٠-٥٠٠) مايكروغرام/مل، بمرجع معامل ارتباط (٠,٩٠٢) .

الجدول (٩) تأثير التركيز على ارتفاع قمة الاختزال عند استخدام

قطب عجينة الباقلاء الطازجة.

Concentration (µg/ml)	Peak height of graphite electrode (cm)*	Peak height of fresh bean paste (cm)*	Δ_1 (cm)*
10	10.0	2.5	7.5
20	19.3	3.0	16.3
30	29.0	3.2	26.2
40	34.3	4.3	30.0
50	39.5	5.4	34.1
60	42.8	5.8	37.0
80	44.0	5.8	38.0
90	51.2	6.0	45.1
100	53.0	6.2	46.8
200	85.0	7.5	77.5
300	93.1	7.8	85.3
400	99.0	8.0	91.0
500	107.6	5.8	99.4

* معدل ثلاث قراءات عند حساسية (٢) ملي فولت.

في الجدول (٥) ان عدم وجود الكرافيت في العجينة يؤدي إلى اضمحلال قيمة تيار الاختزال وذلك لانعدام التوصيل بين المحلول وسطح القطب. وعليه تم اختيار (٠,٢٥-٠,٠٥) غم من مسحوق الكرافيت كونه يمثل القيمة المثلى لحصول أكبر فرق عملي في ارتفاع القمة، وتم استخدام (٠,٠٥٠) غم من مسحوق الكرافيت في التجارب اللاحقة.

الجدول (٥): تأثير كمية الكرافيت على ارتفاع قمة الاختزال

Amount of graghite powder (gm)	Peak height (cm)*	Δ_1 (cm)
٠,٠٠٠	٠,٠	١٠٧,٠
٠,٠٢٥	٦,٢	١٠٠,٨
٠,٠٥٠	٨,٠	٩٩,٠
٠,٠٧٥	١٣,٠	٩٤,٠

* معدل ثلاث قراءات عند حساسية (٢) ملي فولت.

** ارتفاع حزمة اختزال اليوريا على قطب الكرافيت وتساوي (١٠٧,٠) سم. Δ_1 يساوي الفرق في ارتفاع حزمتي اختزال اليوريا على قطب الكرافيت وقطب عجينة الباقلاء الطازجة.

تأثير الأس الهيدروجيني على جهود الاختزال:

تمت دراسة تأثير الأس الهيدروجيني لمحلول الفوسفات المنظم ابتداءً من الاس الهيدروجيني (٦-٨) وتأثيره على قمة اختزال اليوريا وتحللها بوجود انزيم اليوريز في الباقلاء الطازجة عند (-٠,٦٥) فولت مع حقن (١) مل من ٥٠٠ مايكروغرام/مل. ولوحظ ان قيم فرق الجهد لاختزال اليوريا على سطح قطب الكرافيت والعجينة لا تعتمد على الاس الهيدروجيني للمحلول كما مبين في الجدول (٦).

الجدول (٦) تأثير الأس الهيدروجيني على قمة حزمة الاختزال

PH	ΔP ** (cm)*
٦,٠	١٠٢
٦,٥	١٠٣
٧,٠	١٠١
٧,٥	١٠٢,٨
٨,٠	١٠٢,٥

*معدل ثلاث قراءات حساسة (٢) ملي فولت.

** ارتفاع حزمة اليوريا على قطب الكرافيت عند (-٠,٦٥) فولت وتساوي (١٠٧,٠) سم.

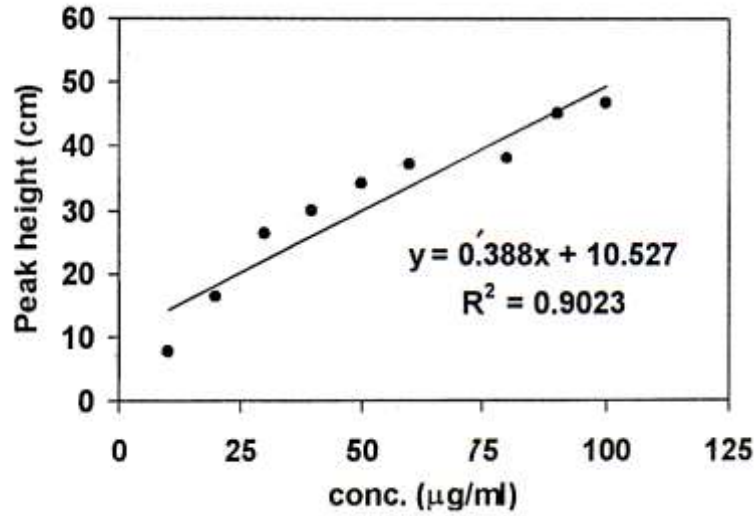
تأثير سرعة الجريان:

تمت دراسة تأثير سرعة الجريان على قمة اختزال اليوريا وذلك باستخدام سرع جريان مختلفة (١,٠-٣,٥) مل/دقيقة وذلك بحقن (١) مل من (٥٠٠) مايكروغرام /مل من اليوريا فوجد ان اعلى قمة كانت عند سرعة جريان (٣,٠) مل/دقيقة .

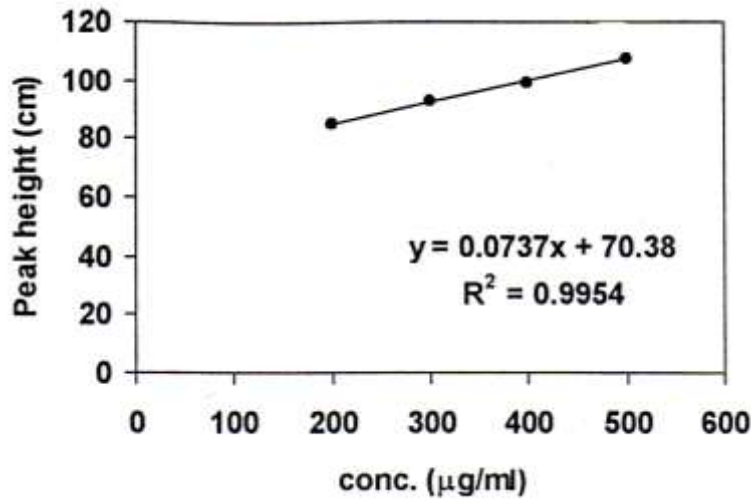
الجدول (٧): تأثير سرعة الجريان

Flow rate (ml/min)	Peak height (cm)*
1.0	1.5

Δ_1 يساوي الفرق في ارتفاع قيمة حزمتي الاختزال على قطب الكرافيت وقطب عجينة الباقلاء الطازجة.



الشكل (٢) المنحني القياسي لليوريا عند التراكيز الواطئة



الشكل (٣) المنحني القياسي لليوريا عند التراكيز العالية

تطبيق الطريقة:

تم تطبيق الطريقة على تقدير اليوريا في بلازما (مصل) لدم شريحة عشوائية من خمس أشخاص مختلفي الأعمار، وللحصول على مصل الدم يتم نقل الدم المسحوب من المحقنة الى انبوية اختبار ثم يترك الدم لمدة تتراوح من (١٠-٢٠) دقيقة في درجة حرارة الغرفة، ويجب تحريك الأنبوية منعا لتحلل الدم، وبعد وصول عينة الدم الى التخثر التام تحرك العينة بعود خشبية بلطف حول الجزء العلوي من المادة المتخثرة اللاصقة على جدران الأنبوية من الداخل ويجب تجنب التحريك السريع منعا لتحلل الدم ثم بعد ذلك توضع عينة الدم في جهاز الطرد المركزي أصفر، وتم تحضير مصل الدم وفق الطريقة المقترحة في البحث، ثم قورنت النتائج مع الطريقة القياسية المعتمدة (اذ يستخدم كاشف ثنائي

توافق المنحني القياسي ودقته:

حسب توافق المنحني القياسي المتمثل بالانحراف القياسي النسبي ودقة المنحني عن طريق حساب الخطأ النسبي وذلك بقياس اربعة تراكيز (٢٠، ٤٠، ٦٠، ٩٠) مايكروغرام /مل وبحسب الطريقة المعتمدة حصلنا على النتائج المبينة في الجدول (١٠).

الجدول (١٠): توافق المنحني القياسي ودقته

Concentration (µg/ml)	Peak height (cm)*	R.S.D. (%)	Relative error (%)
٢٠	٣,٠٦	٤,١٦	+ ٢,٠٠
٤٠	٤,٢٤	١,٧٠	+ ١,٣٩
٦٠	٥,٨٠	٠,٦٠	+ ٠,٠٠
٩٠	٥,٩٠	٠,٥٩	+ ٠,٦٧

* معدل خمس قراءات عند حساسية (٢) ملي فولت.

استئيل احادي الاوكزيم لتكوين لون اصفر غامق عند تفاعله مع اليوريا الذي يعتمد وكمية اليوريا اصلا في المحلول [8,9].

الجدول (١١): تقدير اليوريا في بلازما الدم بالطريقة الحالية والطريقة الطيفية القياسية

Sample solution taken* by standard method (µg/ml)	Sample solution of urea by present method (µg/ml)	Sample solution of urea in normal bloods (mg/dL)
400	403.5	40.0
20	204.0	20.0
240	235.0	24.0
250	250.0	25.0
150	146.5	15.0

* معدل خمس قراءات

مقارنة الطريقة:

تمت مقارنة الطريقة الحالية لتقدير اليوريا في بلازما الدم الأصحاء مع الطريقة القياسية الطيفية لتقدير اليوريا لخمس نماذج عن طريق حساب معدل التراكيز لخمس نماذج من بلازما الدم للطريقتين المقترحة والقياسية، ثم حساب قيم (t) التجريبية واستخدمت العلاقة الآتية لإيجاد قيمة (t) التجريبية [10]. والجدول (١٢) يوضح قيم (t) المحسوبة في

الجدول (١٢): مقارنة الطريقة المقترحة لتقدير اليوريا في بلازما الدم القياسية المعتمدة

Sample solution of urea by standard method (µg/ml)	Sample solution of urea by present method (µg/ml)	t exp.
400	403.5	+ 1.699
200	204.0	+2.000
240	235.0	- 2.500
250	250.0	0.000
150	146.5	-3.130

رسم المنحني القياسي باستخدام قرص انزيم اليوريز: (ساعات) في رسم المنحني القياسي لتقدير اليوريا وتحت نفس الظروف تم اختبار انزيم اليوريز المجهد من شركة BDH (إذا تم تحليل ١٥٠ ملغم من اليوريا تقريبا بواسطة قرص واحد عند ٣٧ °م ولمدة ثلاث

الجدول (١٣): تأثير التركيز على ارتفاع قمة الاختزال عند استخدام قطب اليوريز ومقارنته مع نظيره عند استخدام قطب عينة الباقلاء الطازجة

Concentration (µg/ml)	Peak height of graphite electrode (cm)*	Peak height of urease tablet (cm)*	Δ_2	Δ_1
10	10.0	3.0	7.0	7.5
20	19.3	3.5	15.8	16.3
30	29.0	3.9	25.1	26.2
40	34.0	5.0	29.3	30.0
50	39.5	5.8	33.7	34.1
60	42.8	6.0	36.8	37.0
80	44.0	6.8	37.2	38.0
90	51.2	6.2	45.0	45.1
100	53.0	7.2	46.8	46.8
200	85.0	7.6	77.4	77.5
300	93.1	7.8	85.3	85.3
400	99.0	7.9	91.1	91.0
500	107.6	8.9	98.7	99.4

* معدل ثلاث قراءات عند الحساسية (٢) ملي فولت.

Δ_1 يساوي الفرق في ارتفاع قمة حزمتي الاختزال لقطب الكرافيت وقطب القرص اليوريز.

Δ_2 يساوي الفرق في ارتفاع قمة حزمتي الاختزال لقطب الكرافيت وقطبي عينة الباقلاء الطازجة.

الإستنتاجات

تعتبر الطريقة الحالية أكثر حساسية من الطريقة المعتمدة في مختبرات الكيمياء السريرية وذلك لأن مدى التقدير هو (10-100)µg/ml بينما

ويلاحظ من الجدول (١٣) عدم وجود فرق محسوس بين الطريقة المستخدمة لعينة الباقلاء الطازجة وبين هذه الطريقة وعليه ينصح باستخدام الطريقة الاولى وذلك لتوفير المادة محليا وبسعر زهيد.

معتمد للطريقة الأنزيمية الطيفية.

الطريقة الأنزيمية المعتمدة يكون مدى التقدير هو (14-45)mg/dl وهذا يسهل للاولى في أخذ نماذج أقل حجما مما هو

المصادر:

1. American College of Nutrition, "Beans-Bean calories and nutrition information on varieties of beans", Journal of the American college of nutrition , (1994), 13(6), 549-558.
 2. Murray, N.D. Michael, "Health benefits of fava bean" ,The encyclopedia of healing foods, Artia Books, New York,(2005)
 3. S.M. Al Jashami, "Germination as a mean to improve the nutritional value of broad bean used in broiler diets", 4th conference on recent technologies in agriculture ,(2009), Babylon University, Iraq.
 4. M. Baumgartner , M. Flock, P. Winter ,W. Luf and W. Baumgartner, "Evaluation of flow injection analysis for determination of urea in sheeps and cow's milk", Acta Veterinaria Hungarica, (2002), 50(3), 263-271, www.google.com, 21/9/1425.
 5. T. Tsubol, Y. Hirano, Y. Shibata and S. Moromizu, "Sensitivity improvement of ammonia determination based on flow-injection indophenol spectrophotometry with manganese(II) ion as a catalyst and analysis of exhaust gas of thermal power plant", Anal. Sci.,(2002), 18, 1141-1144.
 6. Walcerz, A. Chudzik and R. Koncki, "Urea determination using PH-enzyme electrode", J. Pharma. Biomed. Anal., (1999), 21(1), 51-57, www.goel.com.
 7. J. Wang and M.S. Lin, "Horseradish-root-modified carbon paste bioelectrode", Electroanalysis , (1989), 1, 43-48 .
 8. J.S. Annio and R.W. Giese, "Clinical Chemistry Principles and Procedures", (1976), 3rd ed., Little Brown and Company, Boston, 136.
 9. J.S. Annino and W.G. Roger, "Clinical Chemistry", (1976), 4th ed., Little Brown and Company, Boston, London, 145-146, 157-158.
- ١٠- خاشع محمد الراي، "المدخل الى الاحصاء"، (١٩٨٤)، طبع بمطابع جامعة الموصل، 311-313.

Determination of urea using flow injection Electrochemical detector and fresh bean paste electrode application to blood plasma

Yusra Majeed Al-Shaker

College of environment science and technology , University of Mosul , Mosul , Iraq

(Received: 25 / 4 / 2010 ---- Accepted: 13 / 12 / 2010)

Abstract

This work is a detailed investigation of the voltammetric flow injection analysis by using fresh bean paste biosensor for the determination of trace amounts of urea. This method depends on the hydrolysis of urea by urease enzyme which exists in the fresh bean, to bicarbonate ion and ammonium ion using phosphate buffer solution (pH=7) and reduction potential of (-0.65) V. The determination limits are (10-100)µg/ml with $r^2=0.995$, a relative standard deviation of (0.59 to 4.16). The method has been applied successfully to determination of urea in human plasma.