كلية الطب البشري
السنة الثانية
04
S.P 100
عملي
مدققة
14
8/3/2019
فريق الكرّيات الحمراء التطوعي

مدخل إلى الكيمياء السريرية

د.سماح رحال

بسم الله الرحمن الرحيم...

نقدم لكم المحاضرة الرابعة من مادة الكيمياء الحيوية والسريرية القسم العملي راجينه تعالى ان تنال إعجابكم وأن تحقق الفائدة المرجوة منها...

دكاترة العملي: د.سماح رحال د.هبة حبال

باشراف الدكتور: د.محمد صفا زودة.

الفهرس

الفقرة	الصفحة
الدم	2
نماذج الدم المستخدمة في التحاليل	2
مانعات التخثر	4
جمع نماذج الدم	5
سحب الدم الوريدي	6
مقدمة عن الضوء	9
طريقة حساب تركيز مادة مجهولة	10
المكونات الأساسية لمقياس الضوء	12

مدخل إلى الكيمياء السريرية

تلعب الكيمياء السريرية دوراً أساسياً في الممارسة الطبية. فهي تتيح للطبيب السريري معرفة تراكيز المواد الحيوية المختلفة في جسم مريضه مما يساعده في تحديد حالته الصحية، وفي اختيار التدابير العلاجية والوقائية التي سوف يستخدمها.

الدم

الدم سائل حيوي يتكون من مكونين أساسيين هما:

١. بلازما الدم (المصورة):

سائل رائق أحمر اللون يؤلف حوالي (٥٥-٦٥٪) من حجم الدم ويطفو في أنبوب الاختبار فوق كريات الدم.

٢. كريات الدم (خلايا الدم):

تؤلف حوالي (٣٥ – ٤٥٪) من حجم الدم، وتترسب في أنبوب الاختبار تحت البلازما.

تتمثل خلايا الدم في الأنواع الثلاث الآتية:

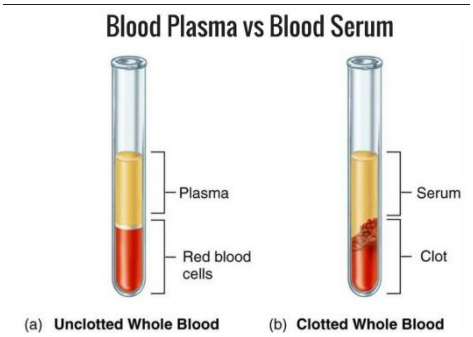
A. كريات الدم الحمراء: تترسب بدءاً من قعر الوعاء الذي يوضع فيه الدم، وذلك على شكل طبقة حمراء تشغل معظم المكون الخلوي للدم.

B. خلايا الدم البيضاء: تترسب فوق الخلايا الحمر على شكل طبقة مبيضة رقيقة.

C. الصفيحات الدموية: تترسب فوق الخلايا البيضاء تحت البلاسما مباشرة بشكل طبقة رقيقة يصعب رؤيتها.

نماذج الدم المستخدمة في التحاليل

A. مصل الدم Serum



- يماثل التركيب الكيميائي لمصل الدم **تقريباً** التركيب الكيميائي للبلازما، ويختلف عنه خلو المصل من بعض عوامل التخثر وأهمها الفيبرينوجين.
- يتم الحصول على المصل بوضع الدم المسحوب في أنبوب فارغ ووضعه لمدة ١٠ – ١٥ دقيقة في حمام مائي حرارته ٣٧ درجة مئوية ليتخثر تلقائياً، ومن

ثم تثفيله لبضع دقائق بسرعة ٣٠٠٠ دورة في الدقيقة وذلك لفصل المصل عن الخثرة.

- يعتبر المصل النموذج المفضل لأغلب التحاليل الكيميائية.

B. بلازما الدم Plasma

- ✓ هي المصل الحاوي على الفيبرينوجين والبروثرومبين وبعض عوامل التخثر الأخرى.
- ✓ يتم الحصول على البلازما بمنع تخثر الدم عن طريق إضافة مضاد تخثر مناسب إليه وتثفيله فوراً.
- ✓ تشترك البلازما مع الكريات الحمراء بمكونات كيميائية كثيرة. بعضها بتراكيز مناسبة ومتقاربة كالغلوكوز والبولة. ومعظمها بتراكيز تزيد أو تنقص، ومن أبرز المكونات التي توجد في كريات الدم الحمراء بتراكيز أعلى مما هي عليه في البلازما: البوتاسيوم وأنزيم أنهيدراز واللاكتات LDH.

تعتبر بلازما الدم خياراً بديلاً عن مصل الدم (وقد تكون أفضل منه) ولا سيما في:

- التحاليل الإسعافية: إذ أن البلازما تتمتع بأفضلية التثفيل الفوري لنموذج الدم إثر إضافته إلى مضاد التخثر مباشرة دون الحاجة لانتظار حدوث تخثر الدم.
- التحاليل التي تحتاج لكميات كبيرة من البلازما: وذلك لأن حجم البلازما المستخلصة من حجم معين من الدم هي أكبر من حجم المصل المستخلص من حجم الدم نفسه.
- تعتبر البلازما الخيار وحيد لاختبارات تخثر الدم (الفيبرينوجين، زمن البروثرومبين...).

مساوئ استخدام البلازما:

- ❖ تشكل خثرات أو أجزاء من الفيبرين عند حفظ البلازما وما ينجم عن ذلك من خطورة انسداد المسابر التي تأخذ العينات في اجهزة التحليل.
- ❖ البلازما غير ملائمة لإجراء الرحلان الكهربائي للبروتينات لأنها تحتوي على الفيبرينوجين (الذي هو بروتين) والذي يمكن أن يشوش تفسير نمط الرحلان الناتج.

C. الدم الكامل

- ✓ يتم الحصول على الدم الكامل **بمنع تخثره** عن طريق إضافة مضادات تخثر مناسبة ومزجها بشكل جيد دون اللجوء إلى التثفيل.
- ✓ قلما يستخدم الدم الكامل للتحاليل الكيميائية، ويقتصر استخدامه مع المكونات التي تتماثل أو تتقارب تراكيزها في كل من البلازما والخلايا الحمراء كالغلوكوز والبولة.

- يعتبر الدم الكامل الخيار الوحيد في الأعمال الدموية الروتينية كتعداد الكريات الحمراء والبيض والصفيحات وزمرة الدم والخضاب الدموي كما يمكن استخدامه لفحص فلم الدم لأنه يحافظ على أشكال كريات الدم دون تشوه.
- وهو الخيار الوحيد أيضاً في معايرة أنزيمات الكريات الحمراء وغازات الدم والرصاص والزئبق.

مانعات التخثر

- عندما يراد استعمال الدم الكامل أو البلازما في التحاليل الكيميائية فيجب إضافة كمية محددة من مانعات تخثر إلى الدم وذلك حسب كمية الدم المستخدمة.

- استعمال مانع التخثر غير الملائم ⟸ تشوه أشكال الخلايا الدموية.
- استعمال كمية كبيرة من مانع التخثر ⟸ تمديد العينة.
- توجد موانع تخثر بشكل جاهز ضمن أنابيب مغلقة محضرة تجارياً لكل منها لون خاص وهي تكفي لكمية محددة من الدم تكتب على الأنبوب (من مساوئ الأنابيب الجاهزة أنها تحتاج لسحب كمية كبيرة من الدم) ويمكن أن تحضر ضمن المخبر حسب الحاجة وهو الأنسب.

ومن أهم موانع التخثر نذكر:

١. E.D.T.A(Ethilin Diamine Tetra Accetate):

الاستخدام: يستخدم للحصول على الدم الكامل وذلك بنسبة ١,٥ ملغ غرام من مانع التخثر لكل ١ مل دم.

يوجد في أنابيب جاهزة. أو يحضر في المخبر بإذابة ١ غرام من بودرة مانع التخثر في ١٠٠ مل من ماء مقطر ثم يؤخذ ١٥ من المحلول الناتج والتي تحوي ١,٥ من مانع التخثر وتوضع في أنبوب نظيف وتترك لتجف بحرارة الغرفة (صلاحيتها دائمة) وهي كافية لمنع تخثر ١ مل دم.

آلية العمل: ربط الكالسيوم وإزالته من الدم (الكالسيوم هو العامل الرابع من عوامل التخثر البلازمية).

٢. سترات الصوديوم الثلاثية:

الاستخدام: يوجد في أنابيب جاهزة. أو يحضر في المخبر بإذابة ٢,٢ من بودرة السترات في ١٠٠ مل ماء مقطر (يحفظ في البراد والأنبوب مغلق لأنه يتبخر مع الزمن).

يستخدم للحصول على البلازما ونعتبر البلازما الناتجة عن مزج الدم مع السترات النموذج المفضل في:

☒ اختبارات التخثر (زمن البروثرومبين PT، PPTK، الفيبرينوجين...) حيث يستخدم هنا بنسبة ١٠٪ (نضع في الأنبوب حجم واحد من السترات مقابل تسع حجوم من الدم (١,٨ مل دم + ٠,٢ مل سترات).

☒ قياس سرعة التثفل: حيث تستخدم هنا بنسبة ٢٠٪ (١,٦ مل دم + ٠,٤ مل سترات).

آلية العمل: ربط الكالسيوم.

٣. الهيبارين:

الاستخدام: تعتبر البلازما الناجمة عن مزج الدم مع الهيبارين النموذج الأكثر استعمالاً في التحاليل الكيمائية وهي أنسب من المصل للتحاليل الإسعافية والتحاليل التي تحتاج كمية كبيرة من المصل.

يستخدم بنسبة ٢٠ وحدة هيبارين لكل مل من الدم.

آلية العمل: مضاد للثرومبين (الثرومبين يحول الفيبرينوجين المنحل إلى الفيبرينوجين غير المنحل).

جمع نماذج الدم

عند إجراء التحاليل المخبرية السريرية غالباً ما يستخدم الدم الوريدي وقد نحتاج أحياناً لدم شعيري ونادراً دم شرياني.

الدم الشعيري

- ✓ يؤخذ من الشعيرات المحيطية بوخز الجلد (غالباً البنصر أو الإصبع الوسطى أو شحمة الأذن)، وذلك في الأعمار كلها باستثناء سن الطفولة المبكر والذي يناسبه وخز عقب القدم.
- ✓ يختار لبزل الجلد مكان خال من التغيرات الموضعية (الزراق، الرقعة، الالتهاب).
- ✓ يستخدم الدم الشعيري لتعيين:
  - زمن النزف وزمن التخثر.
  - بعض المعالم السريرية التي يكفي لتحليلها كميات قليلة من الدم.

الدم الشرياني

يقتصر استخدام الدم الشراني في التحاليل الكيميائية السريرية على معايرة غازات الدم، ويمكن اللجوء إليه كخيار بديل عند فشل سحب الدم الوريدي.

الدم الوريدي

هو الأكثر استخداماً وذلك بسبب سهولة الحصول على كميات كبيرة منه.

ملاحظات مهمة قبل سحب الدم الوريدي:

١. يجب على الشخص الذي يقوم بسحب الدم التأكد من ان المريض صائم إذا كان الصيام ضرورياً من أجل التحاليل المطلوبة (عادة صيام ٨ ساعات كافي لأغلب التحاليل).

٢. يجب أن يكون المريض جالساً بشكل مريح على كرسي خاص بسحب الدم أو مستلقياً عند عدم إمكانية الجلوس (وذلك ينقص الاختلافات في تراكيز مكونات الدم الناجمة عن تغيرات حجم الدم بحسب وضعية المريض).

٣. يجب أن يبسط المريض ذراعه على شكل خط مستقيم من الكتف إلى الرسغ.

٤. يجب عدم سحب الدم من الذراع الحاوية على ندبات شديدة أو ورم دموي في مكان سحب الدم.

٥. بالنسبة للمرأة التي أجرى ليها استئصال الثدي يجب عدم سحب الدم من الذراع التي في جهة الثدي المستأصل لأن ذلك يؤثر على تركيز مكونات الدم.

٦. بالنسبة للمرضى المصابين بأمراض شديدة أو الذين يحتاجون إلى حقن وريدية متكررة (كمرضى السرطان الذين يخضعون للمعالجة الكيميائية أو مرضى قصور الكلية الذين يخضعون للديال الدموي دورياً) يجب ترك الأوردة الجيدة من أجل المعالجة واختيار موضع آخر لسحب الدم. كما يجب عدم سحب الدم من الذراع الحاوية على طيات أو نواسير شريانية وريدية دون موافقة طبيب المريض.

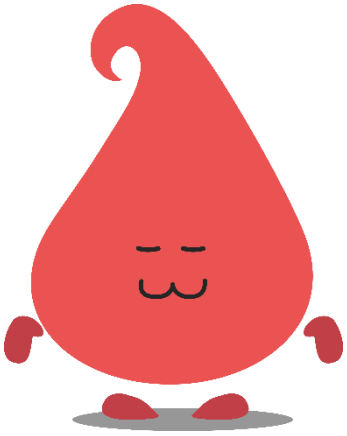
٧. في حال وجود تسريب وريدي للسوائل في الذراع (السيروم) يجب إيقاف جريان السائل لمدة ثلاث دقائق قبل سحب الدم، ويجب كتابة ملاحظة على جدول المريض وعلى طلب التحاليل الذي تسجل عليه النتائج بأنه تم سحب الدم للمريض أثناء التسريب الوريدي.

٨. قبل سحب الدم يجب أن يقدر حجم الدم اللازم وأن تختار الأنابيب الملائمة للتحاليل المطلوبة ويجب اختيار رأس إبرة مناسبة لحجم الوريد (عادة يستعمل المقاس /٢٠/ لبزل الدم الوريدي عند البالغين في الحالات الطبيعية، وعندما يكون الوريد رفيعاً يستعمل المقاس/٢١/)، ويجب أن تكون الإبرة عقيمة وحادة وخالية من الأثلام.

كيف يتم سحب الدم الوريدي

يعتبر الوريد المرفقي الأوسط (الواقع في الحفرة الأمامية أو انحناء المرفق) الوضع المفضل لحسب الدم من البالغين، لأن هذا الوريد كبير وقريب من سطح الجلد، ويمكن سحب الدم من الأوردة الموجودة على ظهر اليد أو الكاحل بأفضلية أقل (يجب تجنب سحب الدم من هذه الأوردة عن السكريين، أو المرضى الآخرين الذين لديهم ضعف الدوران الدموي، كما أن السحب من هذه الأوردة مؤلم أكثر بسبب رقة الجلد الموجود في هذه المناطق.

- بعد اختيار الوريد المراد بزله نجسه بالإصبع للتأكد من حجمه ومساره، ومن ثم تظهر المنطقة المحيطة بمكان البزل بواسطة الكحول ٧٠٪ وذلك بحركة دائرية ابتداء من موضع البزل إلى المنطقة المحيطة، يترك الجلد ليجف في الهواء قبل بزل الدم (لأن بقاء آثار من الكحول على الجلد يؤدي إلى انحلال الدم مما يؤثر على نتائج التحليل).
- يجب عدم استعمال محلول بوفيدون لتنظيف الجلد لأنه يتداخل مع العديد من طرق التحليل الكيميائية، ويجب عدم لمس الجلد بعد تنظيفه إلا بعد الانتهاء من بزل الوريد.
- بعد تنظيف الجلد تربط العاصبة على بعد ١٠ – ١٥ سم فوق موضع البزل لمنع رجوع الدم الوريدي إلى القلب ومن أجل انتفاخ الوريد (لا نربط العاصبة بشدة كبيرة جداً كيلا نقطع جريان الدم الشرياني).
  - تفضل العاصبة المصنوعة من المطاط العادي على شكل شريط عرضه ٢,٥ سم وطوله ٤٠ سم.
  - يجب عدم تطبيق العاصبة أكثر من دقيقتين، وألا ندع المريض يفتح قبضته ويغلقها عدة مرات.
- نجرب مدحم الحقنة بسحبه قليلاً إلى الخلف ثم إرجاعه إلى وضعه وذلك للتأكد من صلاحية المحقنة ثم ندخل الإبرة ضمن الوريد بشكل مواز لمجرى الوريد الطولي بحيث تكون ثلمة الإبرة للأعلى (ندخل الإبرة لمسافة حوالي ٠,٥ سم داخل الوريد قبل سحب الدم لداخلها)
- نفك العاصبة ونسحب الدم إلى المحقنة ببطء كيلا ينحل الدم.



- بعد الانتهاء من سحب الدم نضع قطنة جافة فوق مكان البزل ونسحب الإبرة بسرعة من الوريد ونضغط على مكان البزل لعدة دقائق (يلجأ بعض المرضى لثني الذراع وهذا خطأ لأنه يسبب حدوث ورم دموي)، ومن ثم نضع لصاقة ضاغطة فوق مكان البزل.
- ننزع الإبرة من المحقنة (انتبه أثناء إعادة الإبرة إلى غطائها ألا تخز إصبعك لأن ذلك قد ينقل لك أمراض معينة) ونفرغ الدم في الأنابيب (وببطء وعلى جدار الأنبوب كيلا ينحل الدم).

ملاحظات

- لاتملأ الأنبوب عندما تكون الإبرة متصلة بالسيرنغ لان ذلك يمكن أن يحطم كريات الدم أثناء مرورها خلال الإبرة ويؤدي الى الانحلال.
- نمزج الدم مع مانع التخثر الموجود في الأنابيب بلطف دون اللجوء إلى الرج الشديد.
- يفضل استخدام أنابيب مخلاة من الهواء(Vaculainer) تأخذ كميات محددةبدقة من الدم.

مضاعفات البزل الوريدي

ليس للبزل الوريدي أي مضاعفات خطيرة على صحة أو حياة المريض.

- الإغماء: قد يشعر المرضى نتيجة رؤيتهم للدم بالدوار أو الإغماء وهنا يكفي أن نضع المريض بوضعية الاستلقاء مع رفع الأرجل قليلاً ليصحو بعد خمس دقائق.

- تأخر الإرقاء الدموي في مكان البزل الدموي: أحياناً قد يطول النزف من الوريد المبزول عند بعض المرضى الذين لديهم خلل في عوامل التخثر الدموية واللذين يعالجون بمميعات دموية وهنا يكفي الضغط على الوريد بقوة ولفترة طويلة (حوالي ١٠ دقائق) ليتوقف النزف.
- الورم الدموي: من أهم مضاعفات البزل الوريدي تشكل الورم الدموي حيث يخرج الدم من الوريد إلى النسج المجاورة وينجم عنه كدمة تحت الجلد قد تبقى لفترة طويلة من الزمن ويمكن أن تسبب قلقاً للمريض.

يمكن تجنب حدوث الورم الدموي بواسطة:

- التأكد من أن الوريد المنتقى كبير ومستقيم والمسار ليس فيه تعرجات وأن الإبرة بوضعية جيدة داخل الوريد مع تجنب سحبها فجأة خارج الوريد خلال عملية سحب الدم.
- تحرير العاصبة بعد الدخول في الوريد وقبل سحب الدم منه، وعدم إجراء مناورات كثيرة داخل الوريد.
- الاستمرار في تطبيق الضغط على مكان البزل حتى توقف خروج الدم، مع الطلب من المريض عدم ثني ذراعه بعد سحب الدم.

- انحلال عينة الدم: قد يحدث انحلال لعينة الدم المبزول وذلك بسبب تحطم كريات الدم مما يؤدي لأخطاء في النتائج وخاصة عند معايرة المركبات التي توجد داخل الكريات الحمراء بكميات كبيرة (بوتاسيوم – LDH)، كما يمكن للخضاب أن يتداخل لونياً في بعض المعايرات.

ولتجنب حدوث الانحلال في عينة الدم نتبع ما يلي:

- نتأكد من أن كل ما يلامس الدم (الأنبوب والإبرة والمدحم) جاف ولا يحوي بقايا الماء أو المنظفات، ونتأكد من جفاف الجلد تماماً من الكحول قبل إدخال الإبرة بالوريد.

- لا تربط العاصبة المطاطية بقوة زائدة.
- لا تستخدم إبرة ذات ثقب رفيع بشكل زائد.
- لا نجرح الوريد ولا نحرك رأس الإبرة قبل دخولها بعمق زائد داخل الوريد.
- لا تسحب الدم بسرعة وقوة زائدة، ويجب ألا نسمح بتشكل رغوة من الدم.

- نحرر الإبرة من السرنغ قبل نقل الدم إلى الأنبوب المناسب ثم نسمح للدم أن يتدفق بلطف على جدار الأنبوب.
- نمزج الدم مع مانع التخثر جيداً وبلطف ونتجنب الرج العنيف.
- عندما يكون هناك حاجة للمصل نستخدم أنبوب زجاجي جاف ونعطي وقتاً كافياً للدم كي يتخثر ولا نبدأ التثفيل قبل تكامل تشكل الخثرة.
- نقل عينة الدم لفترة قصيرة من الزمن (٥ دقائق) وبسرعة تثفيل مناسبة (٣٠٠٠ دورة في الدقيقة).
- لا نخزن عينة الدم الكامل داخل المجمدة ولا نعرض الدم لحرارة عالية.

المبدأ الأساسي لمعايرة المركبات الكيميائية

- عندما نحتاج إلى معرفة تركيز مركب كيميائي ما في جسم الإنسان، يجب علينا أولاً أن نُدخل هذا المركب في تفاعل كيميائي (نوعي لهذا المركب بالذات) ينتج عنه لون شدته تتناسب طرداً مع تركيز هذا المركب، ومن ثم نقيس شدة اللون بواسطة أجهزة خاصة لقياس شدة الضوء.
- وبمقارنة ما سبق مع شدة لون ناجمة عن تركيز معلوم من المركب يمكن معرفة التركيز في الدم.

مقدمة عن الضوء

- يتكون الضوء الأبيض (ضوء الشمس) من مجموعة من الألوان المتمازجة مع بعضها البعض (ألوان قوس قزح)، ويمكن فصلها بإسقاط الضوء الأبيض على موشور زجاجي فنحصل على ألوان تترتب من قمة الموشور إلى قاعدته كما يلي: الأحمر-البرتقالي-الأصفر-الأخضر-الأزرق-النيلي-البنفسجي.
- تدعى الظاهرة السابقة بالتبدد الضوئي بالموشور، ويمكن تعليلها بأن الألوان المُكونة للضوء الأبيض هي موجات كهرطيسية مختلفة التواتر، لكل منها طول موجة محدد.
- يتراوح طول موجة الضوء المرئي من قبل الإنسان بين ٣٦٠-٧٥٠ نانومتر.
- تدعى الأمواج الكهرطيسية تحت ٣٦٠ بالأشعة فوق البنفسجية، بينما تدعى الأمواج الكهرطيسية فوق ٧٥٠ بالأشعة تحت الحمراء، وكلا النوعين لا يُرى بالعين المجردة.

قانون بيير لامبرت

عندما يسقط شعاع ضوئي على أنبوب يحوي محلولاً ملوناً فإن الجزيئات المُلونة تمتص جزءاً من الضوء وينفذ الجزء الآخر، وإن النسبة بين كمية الضوء النافذ إلى كمية الضوء الساقط تتعلق بشدة اللون (بتركيز المادة التي أنتجت اللون)، كما تتعلق بالمسافة التي يقطعها الشعاع الضوئي عبر المحلول.

يُعبر عن قانون بيير-لامبرت بالمعادلة التالية:

$$A=\varepsilon\ b\ C$$

A: الامتصاصية(Absorbance).

C: تركيز المادة المراد قياسها.

b: طول المسار الضوئي: المسافة التي يقطعها الضوء عبر المحلول (قطر الأنبوب) وهي ١ سم في أغلب الأجهزة.

ε: ثابتة نسبية تدعى الامتصاصية المولية وهي تعتمد على الطبيعة الكيميائية للمادة، وقدرتها على الامتصاص، وعلى طول الموجة التي يجري عندها القياس...

طريقة حساب تركيز مادة مجهولة

عند إجراء أي عميلة معايرة يلزمنا تحضير ثلاثة أنابيب:

١. أنبوب الشاهد Blank:

وهو يحوي الكاشف المستخدم وحده دون المصل (دون المادة المنتجة للون).

يستخدم فقط لضبط الجهاز على الامتصاصية، (أي أن المحلول لا يمتص أي كمية من الشعاع الضوئي المار)، أي لحذف القراءة الناجمة عن لون الكاشف والإبقاء على القراءة الناجمة عن التفاعل.

٢. أنبوب العياري Standard:

وهو يحوي الكاشف المستخدم + تركيز معلوم من المادة المراد معرفة تركيزها.

٣. أنبوب المجهول Unknown:

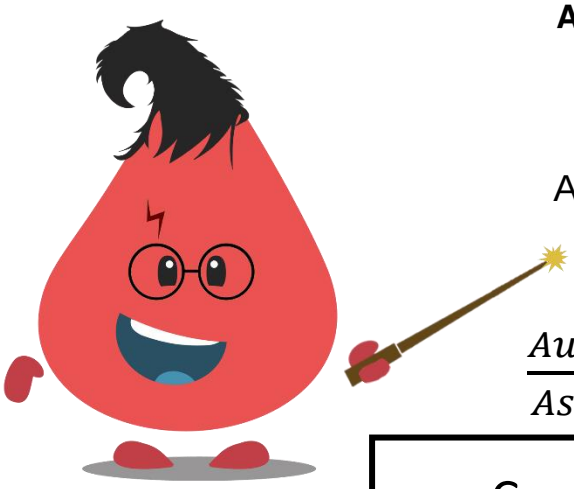
وهو يحوي الكاشف المستخدم + المصل المراد معرفة تركيز المادة فيه.

مثال: إذا أردنا معرفة تركيز السكر في مصل مريض فإننا نحضر ثلاثة أنابيب (أنبوب الشاهد + أنبوب العياري + أنبوب المجهول) وبعد المزج الجيد والحضن في درجة حرارة الغرفة أو في الحمام المائي (حرارة ٣٧) مدة من الزمن ينتهي التفاعل ويتشكل لون، هو اللون الذي نقيس امتصاصيته بواسطة الأجهزة.

- ندخل الأنبوب الأول للجهاز ونعاير الجهاز على الامتصاصية، (وكأننا نقول للجهاز اعتبر شدة هذا اللون، واحذفه من القياس لأنه ليس ناجم عن التفاعل).
- ندخل الأنبوب الثاني للجهاز ونسجل رقم امتصاصيته As (مثلاً ٠،٢)
- ندخل الأنبوب الثالث للجهاز ونسجل رقم امتصاصيته Au (مثلاً ٠،١)

➢ نطبق قانون بيير-لامبرت من أجل المحلول العياري:

$$A_s = \varepsilon \times C_S \times b$$



➢ ونطبق قانون بيير-لامبرت من أجل المحلول المجهول:

$$A_U = \varepsilon \times C_U \times b$$

وبأخذ النسبة بين العلاقتين:

$$\frac{Au}{As} = \frac{\varepsilon \times Cu \times b}{\varepsilon \times cs \times b}$$

$$C_U = A_U \frac{C_S}{A_S}$$

تركيز المحلول المجهول = شدة امتصاص المحلول المجهول × $\frac{\text{تركيز المحلول العياري}}{\text{شدة امتصاص المحلول العياري}}$

نعوض فنجد أن تركيز السكر عند المريض:

$$C_u = 0.1 \frac{100}{0.2} = 50 \text{ ملغ /دل}$$

للسهولة يطلق على (تركيز المحلول العياري/شدة امتصاص المحلول العياري) اسم معامل التركيز Concentration Factor، لأننا عادة نحضر أنبوب العياري مرة واحدة فقط ونحسب معامل التركيز وفي المعايرات التالية وللسهول نحضر فقط أنبوب المجهول ونطبق العلاقة:

$$C = A \times F$$

طريقة القراءة باستخدام جهاز BTS 310 صنع شركة بيوسيستم الإسبانية

١. عند تشغيل الجهاز يقوم بالفحص الذاتي ومن ثم تظهر عبارة Ready To Work Press Enter نضغط Enter فيطلب الجهاز إدخال التاريخ، ندخل تاريخ (رقمين لكل خانة).

٢. تظهر القائمة الرئيسية: نختار رقم ١ Absorbance.

٣. تظهر قائمة القراءة بموجة وحيدة أو بموجتين: نختار رقم ١ Monochromatic.

٤. تظهر قائمة الموجات: نختار رقم الموجة المناسب ونضغط Enter.

٥. يطلب إدخال حجم السائل الذي سيحسب من الأنبوب إلى داخل الجهاز مقدراً بالميكرون (حجم الشفط Sipping Volume): فنكتب ٤٠٠ ونضغط Enter.

٦. يطلب إدخال الزمن اللازم للقراءة مقدراً بالثانية Sabilize Time: فنكتب ١ ونضغط Enter.

٧. يطلب إدخال الحرارة Temperature: فنكتب ٠ ونضغط Enter.

٨. يطلب إدخال البلانك Enter Base Line: ندخل أنبوب البلاستيك ونضغط pump وعند توقف صوت المضخة نسحب الأنبوب (لا تسجل أي قراءة)

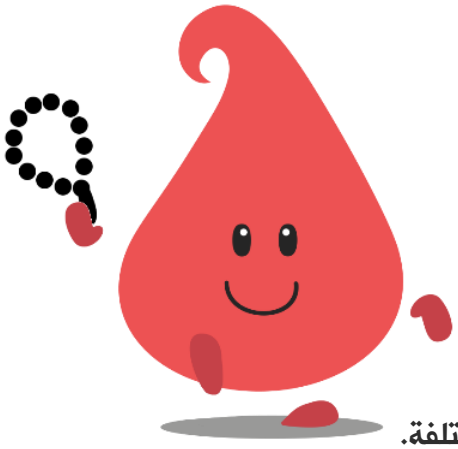
٩. يطلب إدخال العينات Enter sample: ندخل أنبوب الستاندر ونضغط pump وعند توقف صوت المضخة نسحب الأنبوب ونسجل قراءته ومن ثم ندخل أنبوب العينة ونسجل قراءته، ونقوم بالحساب كما هو معلوم مسبقاً.

ملاحظات:

- ندخل أنبوب الشفط البلاستيكي جيدا داخل أنبوب المعايرة كي لا يدخل هواء مع السائل إلى داخل الجهاز لأن ذلك يسبب أخطاء كبيرة جدا.
- عند القراءة على الأجهزة يجب أن تكون المحاليل رائقة تماما ولا تحوي أي عكارة، لأن العكارة تسبب أخطاء فادحة في قراءة الامتصاصية، وغالبا ما يكون سببها التلوث.
- السبب الأشيع للأخطاء التي تحدث أثناء المعايرات هو عدم الدقة في عملية سحب الكاشف أو العينة بواسطة الممصات نصف الآلية Micropipettes أو عدم مسح رأس الممص جيدا عند أخذ الحجوم الصغيرة.
- لا يوجد عمل دقيق ١٠٠٪ لذلك فإن النتائج التي نحصل عليها لن تكون دقيقة تماماً وإنما يوجد نسبة من الخطأ لا يمكن التحكم بها، وعادة الخطأ المسموح به في بعض المعايرات قد يصل حتى ١٠٠٪.

المكونات الأساسية لمقياس الضوء

تتكون معظم أجهزة مقياس الضوء من أجزاء أساسية مهما اختلفت أنواع هذه الأجهزة، وهذه الأجزاء هي:



A. مصدر ضوئي Light Source.

B. مستفرد الضوء الأحادي Monochromator.

C. الكوفيت Cuvette.

D. مكشاف شدة الضوء detector.

E. قارئة أو مسجلة recorder, meter.

ويمكن الاختلاف بين جهاز وآخر في تفاصيل وعمل وتطور كل من هذه الأجهزة المختلفة.

١. المصدر الضوئي:

هو عادة مصباح Lamp من التنغستين Tungsten أو الدوتريوم Deutrium أو الهالوجين وهو الأكثر استعمالاً حالياً

٢. مستفرد اللون الأحادي:

مهمة هذا الجزء هي الحصول على حزمة ضوئية أحادية اللون، أي لها طول موجة محدد، وذلك لأن كل لون من الألوان التي قد تنتج عن التفاعلات المختلفة يمتص الضوء بشكل أعظمي عند طول موجة محددة هي التي نستخدمها لقياس الامتصاصية.

أنواع مستفردات اللون:

- ✓ المرشحات Filters: وهي قطع الزجاج لكل منها لون محدد، وعند مرور الضوء الأبيض عبرها فهي تعطي ضوءاً ملوناً له طول موجة Wavelength معين، أي أنها تمتص جميع ألوان الطيف ماعدا طيفاً واحداً له طول موجة محدد.
- ✓ المنشور الزجاجي Glass prism: وهو منشور زجاجي عادي يستعمل للحصول على الطيف في المجال المرئي(٢٦٠-٧٥٠) نانومتر، وللحصول على المجال فوق البنفسجي يستعمل منشور من مادة الكوارتز إذ أن الزجاج يمتص جزءا كبيرا من الأشعة فوق البنفسجية.
- ✓ كاسرات الضوء المحززة Diffraction gratings: وتتكون من شريحة شفافة أو عاكسة للضوء، يوجد على سطحها عدد كبير جدا من التحززات الطولية المتوازية، وعندما يسقط الضوء على سطحها تقوم هذه التحززات بعمل المنشور الزجاجي وبالتالي تحلل الضوء ولكن بشكل أكثر انتظاماً واتساعاً من المنشور الزجاجي.

٣. الكوفيت:

هو الوعاء المستعمل لاحتواء السائل المراد قياس تركيز المادة فيه، وهو مصنوع غالباً من الزجاج أو البلاستيك، ولكنه لابد أن يكون من الكوارتز عند القياس في المجال فوق البنفسجي.

ويفضل أن يكون يشكل مربعاً وبقطر داخلي ثابت ١ سم (السطح الدائري يسبب تشتت الضوء).

٤. مكشاف شدة الضوء:

وهو الجزء الأكثر أهمية في جهاز قياس الضوء الطبقي، إذ يقوم بتحويل الإشارة الضوئية الى إشارة كهربائية تتناسب طردا مع شدة الإشارة الضوئية.

٥. القارئة أو المسجلة:

تظهر شدة الإشارة الكهربائية الصادرة عن المكشاف إما بشكل أرقام على شاشة أو بشكل حركة لمؤشر على لوحة مرقمة...

اصطلاحات هامة

☒ **Kit**: عبوات جاهزة تجاريا تحوي الكواشف اللازمة لاختبار معين مع العياري والنشرة الورقية المرفقة

ملاحظة هامة جدا: قبل البدء بإجراء اي معايرة نقرأ النشـــرة الورقية المرفقة بدقة لانها تحتوي على كل معلومات التفاعل (درجة الحرارة-كمية الكاشف -كمية المصل-مدة الحضن -طريقة العمل ....).

☒ **Micropipettes**: الممصات الدقيقة التي يتم بواسطتها أخذ كميات صغيرة من المصل أو الكواشف ، لها قياسات مختلفة من ٥ مكروليتر حتى ٥ مل (١مل = ١٠٠٠ مكروليتر).

☒ **Sensitivity** الحساسية: مقدرة الطريقة التحليلية على الكشف عن الفروق الصغيرة في تركيز المادة والتمييز بين هذه الفروق.

☒ **Specificity**النوعية: إمكانية الطريقة التحليلية على تعيين المادة المعنية لوحدها دون تداخل **Interference** ملحوظ بوجود مواد أخرى.

☒ **Linearity**الحدية: التركيز الذي تبدأ عنده الطريقة بالخروج عن قانون بيير-لانبرت أي لا تعود الامتصاصية متناسبة مع التركيز بشكل خطي، (علمياً عندما نحصل على تركيز قريب أو اعلى من الحدية نعيد إجراء التحليل بعد تمديد المصل بالماء المقطر ومن ثم نضرب النتيجة بمقلوب نسبة التمديد).

نسبة التمديد =حجم المصل/ (حجم المصل + حجم الماء المقطر)

الموجات مقدرة بالنانومتر	اللون	اللون المتتم
الاشعة فوق البنفسجية	٤٠٠-٢٠٠	
الاشعة المرئية	٤٥٠-٤٠٠ بنفسجي	أصفر مخضر
	٤٨٠-٤٥٠ ازرق	اصفر
	٤٩٠-٤٨٠ ازرق مخضر	برتقالي
	٥٠٠-٤٩٠ أخضر مزرق	احمر
	٥٦٠-٥٠٠ اخضر	قرمزي
	٥٧٥-٥٦٠ اخضر مصفر	بنفسجي
	٥٩٠-٥٧٥ اصفر	ازرق
	٦٢٥-٥٩٠ برتقالي	ازرق مخضر
	٧٥٠-٦٢٥ احمر	اخضر مزرق