الوحدة الخامسة: الفيتامينات في الأغذية

الجدارة: التعرف على أهمية الفيتامينات في الأغذية وطرق تقديرها.

الأهداف: أن يتعرف المتدرب على أهمية تقدير الفيتامينات في الأغذية وأنواعها والطرق العامة لتقديرها بالإضافة لطرق متخصصة لتقدير فيتامين ج وفيتامين أ.

مستوى الأداء المطلوب: أن يصل المتدرب إلى إتقان الجدارة بنسبة 90٪.

الوقت المتوقع للتدريب: 2 ساعتان

الوسائل المساعدة:

- بعض الكتب والمراجع.
- جهاز عرض باستخدام الحاسب.
- بعض الصور والمعلقات ووسائل الإيضاح.

متطلبات الجدارة: الإطلاع على بعض الكتب والمراجع في مجال الكيمياء الحيوية والعضوية بالإضافة إلى بعض التكليفات من مدرب المقرر بعمل بعض التقارير.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

الفيتامينات في الأغذية Vitamins in foods

الفيتامينات عبارة عن مركبات عضوية تتواجد في الأنسجة النباتية والحيوانية بنسب بسيطة ولكنها تلعب دورا كبيرا في نمو الكائن الحي وتلعب دورا كبيرا في التفاعلات البيولوجية المختلفة حيث إن نقصها في الغذاء يُؤدى إلى ظهور أعراض مرضية معينة حسب كل فيتامين.

تقسيم الفيتامينات Classification of vitamins

تُقسّم الفيتامينات عموماً من حيث قابليتها للذوبان إلى قسمين هما:

أ- فيتامينات ذائبة في الماء Water soluble vitamins

ومنها فيتامين C ومجموعة B-complex وتمتاز هذه المجموعة بأنها لا تُخزّن داخل الجسم حيث يأخذ الجسم ما يحتاجه منها ويُخرج الزائد عن طريق البول ولذلك فإنها لا يُسبب أي مشاكل عند استهلاكها بكميات كبيرة.

ب- فيتامينات ذائبة في الدهون Fat soluble vitamins

ومنها فيتامين A, D, E, K وكذلك بعض المواد المولدة لفيتامين A مثل صبغة الكاروتين، والزيادة من هذه الفيتامينات عن حاجة الجسم يصعب التخلص منها ولذلك قد يُسبب في بعض الأحيان مشاكل صحية عند استخدامها أو استهلاكها بكميات زائدة عن الحاجة.

أهمية تقدير الفيتامينات في الأغذية

ترجع أهمية تقدير الفيتامينات في الأغذية إلى:

1- معرفة محتوى الأغذية من الفيتامينات المختلفة.
2- تأثير التصنيع والمعاملات التصنيعية على المحتوى الفيتاميني للأغذية.
3- معرفة الاحتياجات اليومية من الفيتامينات للأشخاص والتي يُمكن الحصول عليها من الوجبات الغذائية المقدمة له.
4- يُمكن معرفة كمية الفيتامينات القابلة للاستفادة أو التمثيل داخل الجسم.
5- عن طريق تقدير الفيتامينات يُمكن تقييم الأغذية وبالتالي سعرها.

ويُعبر عن محتوى الفيتامينات على أساس مليجرامات أو ميكروجرامات أو الوحدة الدولية International Unit، وتختلف الاحتياجات اليومية من الفيتامين حسب العمر والجنس وحالة الحمل والرضاعة في الأنثى.

تُعتبر الفيتامينات مركبات حساسة جداً للضوء والهواء والحرارة لذلك عند استخلاص الفيتامينات من الأغذية وتقديرها كمياً يجب مراعاة عدم تعرضها لمثل هذه العوامل حتى يكون التقدير سليماً.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

الطرق العامة لتقدير الفيتامينات Determination methods of vitamins

هناك عدة طرق تُستخدم في تقدير الفيتامينات وهى:

أولاً: الطرق الحيوية Bioassay methods (Biological assays)

وتعتمد هذه الطرق أساساً على ظاهرتين هما:

1- ظاهرة الاستجابة في صورة النمو العام وذلك في صورة الزيادة في الوزن نتيجة لاستهلاك الفيتامين ، وتُستخدم في تقدير بعض الفيتامينات مثل A ، C.

2- ظاهرة الاستجابة في علاج بعض أعراض النقص المتولدة عن غياب الفيتامينات، حيث تُقاس كمية الفيتامين على أساس مدى الاستجابة لاختفاء مرض معين ينتج عن نقص الفيتامين المراد تقديره مثل التكلس في الطيور الذي ينتج عن نقص فيتامين D.

وفى هذه الطريقة يتم تقدير العليقة للحيوانات حتى يبدأ ظهور أعراض نقص الفيتامين ومن المعلوم أن هذه العليقة تحتوي على جميع عناصر النمو ما عدا الفيتامين المراد تقديره ، وبعد ذلك تُقسم هذه الحيوانات إلى مجموعتين، المجموعة الأولى تُغذى على مستخلص العينة أو المادة الغذائية المراد تقدير الفيتامين بها والمجموعة الثانية تُغذى على عليقة تحتوي على كميات متزايدة من الفيتامين النقي وتُعتبر المجموعة الثانية أساسا لرسم المنحنى القياسي، حيث يتم رسم العلاقة ما بين الزيادة في الوزن (أو الزيادة في نسبة الرماد في حالة فيتامين D) مع نسبة الفيتامين النقي ومن هذا المنحنى القياسي يُمكن معرفة تركيز الفيتامين في العينة.

ومن مميزات هذه الطريقة أنها دقيقة في النتائج المتحصل عليها كما أنها تُعطى مؤشرا على كمية الفيتامين القابل للاستفادة بواسطة الحيوان، إلا أن من عيوبها صعوبة الحصول على الحيوانات وطول الوقت اللازم للتجربة حيث تأخذ حوالي 28 يوماً بالإضافة إلى احتمال موت الحيوانات أثناء إجراء التجربة.

ثانياً: الطرق الميكروبيولوجية Microbiological methods

وهى تُشبه الطرق السابقة ولكن يُستخدم فيها ميكروب *Lactobacillus arabinosus* بدلاً من الحيوانات وهذا الميكروب يخمر السكر وينتج حامض اللاكتيك وفيها ينمى الميكروب على بيئة أساسية تحتوى على جميع العناصر المطلوبة للنمو في أنابيب اختبار وتُضاف إلى بعضها مستخلصات المادة المراد تقدير الفيتامين فيها وفى البعض الآخر كميات متزايدة من الفيتامين النقي ثم تُجرى مقارنة نمو البكتريا في الأنابيب المختلفة ويُقاس النمو بإحدى الطرق الآتية:

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

الطرق العامة لتقدير الفيتامينات Determination methods of vitamins

هناك عدة طرق تُستخدم في تقدير الفيتامينات وهى:

أولاً: الطرق الحيوية Bioassay methods (Biological assays)

وتعتمد هذه الطرق أساساً على ظاهرتين هما:

1- ظاهرة الاستجابة في صورة النمو العام وذلك في صورة الزيادة في الوزن نتيجة لاستهلاك الفيتامين ، وتُستخدم في تقدير بعض الفيتامينات مثل A، C.

2- ظاهرة الاستجابة في علاج بعض أعراض النقص المتولدة عن غياب الفيتامينات، حيث تُقاس كمية الفيتامين على أساس مدى الاستجابة لاختفاء مرض معين ينتج عن نقص الفيتامين المراد تقديره مثل التكلس في الطيور الذي ينتج عن نقص فيتامين D.

وفى هذه الطريقة يتم تقدير العليقة للحيوانات حتى يبدأ ظهور أعراض نقص الفيتامين ومن المعلوم أن هذه العليقة تحتوي على جميع عناصر النمو ما عدا الفيتامين المراد تقديره ، وبعد ذلك تُقسم هذه الحيوانات إلى مجموعتين، المجموعة الأولى تُغذى على مستخلص العينة أو المادة الغذائية المراد تقدير الفيتامين بها والمجموعة الثانية تُغذى على عليقة تحتوي على كميات متزايدة من الفيتامين النقي وتُعتبر المجموعة الثانية أساسا لرسم المنحنى القياسي، حيث يتم رسم العلاقة ما بين الزيادة في الوزن (أو الزيادة في نسبة الرماد في حالة فيتامين D) مع نسبة الفيتامين النقي ومن هذا المنحنى القياسي يُمكن معرفة تركيز الفيتامين في العينة.

ومن مميزات هذه الطريقة أنها دقيقة في النتائج المتحصل عليها كما أنها تُعطى مؤشرا على كمية الفيتامين القابل للاستفادة بواسطة الحيوان، إلا أن من عيوبها صعوبة الحصول على الحيوانات وطول الوقت اللازم للتجربة حيث تأخذ حوالي 28 يوماً بالإضافة إلى احتمال موت الحيوانات أثناء إجراء التجربة.

ثانياً: الطرق الميكروبيولوجية Microbiological methods

وهى تُشبه الطرق السابقة ولكن يُستخدم فيها ميكروب *Lactobacillus arabinosus* بدلاً من الحيوانات وهذا الميكروب يخمر السكر وينتج حامض اللاكتيك وفيها ينمى الميكروب على بيئة أساسية تحتوى على جميع العناصر المطلوبة للنمو في أنابيب اختبار وتُضاف إلى بعضها مستخلصات المادة المراد تقدير الفيتامين فيها وفى البعض الآخر كميات متزايدة من الفيتامين النقي ثم تُجرى مقارنة نمو البكتريا في الأنابيب المختلفة ويُقاس النمو بإحدى الطرق الآتية:

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

1- زيادة حامض اللاكتيك دليل على زيادة الميتابولزم الناتج عن زيادة النمو وحامض اللاكتيك ناتج من تخمر الجلوكوز بواسطة البكتريا منتجاً حامض اللاكتيك الذي يُمكن تنقيطه بواسطة قلوي معلوم العيارية ومن المنحنى القياسي بين كمية الفيتامين النقي وحجم القلوي المستخدم في المعايرة يُمكن معرفة تركيز الفيتامين في العينة.

2- بزيادة حمض اللاكتيك يتغير رقم الحموضة بالنقصان تجاه الوسط الحامضي وعليه يُستخدم تقدير رقم حموضة البيئة والتغير فيه مع الكميات المتزايدة من الفيتامين النقي كدليل على معرفة تركيز الفيتامين في العينة.

3- يُمكن معرفة النمو وتقديره عن طريق تقدير العكارة الناتجة في البيئة حيث تزداد العكارة بزيادة النمو.

وتمتاز هذه الطرق عن السابقة بما يلي:

أ- سرعة إجراء الاختبار.

ب- إمكانية إعادة الاختبار أكثر من مرة.

جـ- سهولة الحصول على الكائن الحي ورخص التكاليف.

ثالثاً: الطرق الطبيعية Physical methods

وفيها تُستغل إحدى الخواص الطبيعية للفيتامين ويُقدر عن طريق تقدير هذه الخاصية مثلاً خاصية امتصاص الضوء في مجال الأشعة فوق البنفسجية لفيتامين A والبيرودكسين حيث وجد أن أقصى امتصاص ضوئي لهما ما بين 325- 328 مليمكرون، أما الريبوفلافين وهو من مجموعة B المركبة ذو لون أصفر مخضر فيمتص الضوء في المنطقة المرئية على طول موجي 450 مليمكرون.

وقد تُستخدم خاصية الوميض الفلوري (الفلورسنتي) Fluorescence لبعض الفيتامينات كأساس للتقدير، وظاهرة الفلورسنت ترجع أساساً إلى احتواء المركب على بعض المجاميع غير الثابتة أو التركيب الحلقي حيث تكون هذه المركبات في وضع غير مستقر وبالتالي تفقد بعض الطاقة من إلكتروناتها أو تخرج في صورة وميض فلوري، وأحياناً قد يتم تحويل بعض الفيتامينات عن طريق بعض التفاعلات الكيماوية إلى مركبات جديدة يكون من خاصيتها إعطاء الوميض الفلوري، وفى هذه الحالة يتم قياس الكثافة الضوئية أو شدة الوميض الفلوري لتركيزات مختلفة من الفيتامين النقي وبالتالي نحصل على منحنى قياسي وبمعرفة الكثافة الضوئية للعينة والرجوع إلى المنحنى القياسي يُمكن معرفة تركيز الفيتامين.

رابعاً: الطرق الفسيولوجية Physiological methods

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

تُعتبر طرق حديثة نوعاً ما في تقدير الفيتامينات وهي تعتمد على تقدير مدى الاستفادة Availability من مصدر الفيتامين وهي عادةً تُستخدم مع الفيتامينات الذائبة في الماء حيث يتم قياس المفروز منه مع البول كيماوياً وذلك بإعطاء الفيتامين المراد تقديره في حالة نقية والمواد الغذائية المراد تقدير الفيتامين فيها عن طريق الفم.

ويجب أن تُجرى التجربة على أشخاص أصحّاء أو في حالة غذائية جيدة لأنه إذا كان الفرد يُعاني من نقص التغذية فإن كمية الفيتامين المفروزة في البول تكون أقل حيث يحتفظ الجسم بجزء منها لتعويض النقص الذي يُعانيه أما في حالة الأشخاص الأصحّاء وذوي التغذية المتوازنة فإن كمية الفيتامين المفروزة في البول عادةً ما تكون كبيرة.

خامساً: الطرق الكيماوية Chemical methods

وتُعتبر هذه الطرق الآن أكثر شيوعاً لتقدير عدد كبير من الفيتامينات وخاصةً بعد أن تم معرفة التركيب الكيماوي والخواص الكيماوية الهامة لمعظم الفيتامينات وهذه الطرق تعتمد أساساً على استخدام التفاعلات النوعية المتخصصة لكل فيتامين مثل:

1- تكون لون مميز ثابت للفيتامين مع بعض المركبات الكيماوية وعلى أساس شدة اللون يُمكن قياسه في الأجهزة اللونية وبالتالي معرفة تركيز الفيتامين مثل فيتامين A.

2- المعايرة بواسطة محاليل مؤكسدة مثل عند تقدير فيتامين C حيث يُستخدم صبغة 2, 6 Dichlorophenol- endophenol.

3- تكوين مركب جديد عن طريق بعض التفاعلات الكيماوية ويكون لهذا المركب الداخل فيه الفيتامين المراد تقديره خاصية الوميض الفلوري Fluorescence مثل فيتامين ب1 الذي تتم أكسدته في وسط قلوي بواسطة حديدي سياتور البوتاسيوم وفيها يتحول الفيتامين إلى مركب الثيوكروم Thiochrome وهو له خاصية الوميض الفلوري في المنطقة فوق البنفسجية.

الاعتبارات الواجب مراعاتها للحصول على نتائج دقيقة عند تقدير الفيتامينات

يوجد العديد من الاحتياطات من الواجب أخذها في الاعتبار عند تقدير الفيتامينات هي:

1- العناية في تحضير المستخلصات من العينات فقد يستلزم ذلك إجراء الاستخلاص في جو مظلم لحماية الفيتامينات من الأكسدة في وجود الضوء أو إجراء الاستخلاص على حرارة منخفضة إذا كان الفيتامين حساساً للحرارة أو في وجود غاز خامل وذلك تلافياً لوجود أكسجين الهواء الجوى.

2- التأكد من خلو المستخلصات من المواد الغريبة التي قد تتداخل في التقدير وتُؤثر على حساسية الاختبار.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

3- ينصح بإجراء الاختبار بأقصى سرعة بعد الحصول على المستخلص وذلك لمنع الأكسدة بواسطة الإنزيمات أو قد يحفظ المستخلص على حرارة الثلاجة إذا ما تأخر التقدير.

4- يُنصح دائماً بإجراء تجربة صفرية Blank.

5- يُنصح عادةً بإجراء الاختبار بأكثر من طريقة ومقارنة النتائج.

فيتامين ج في الأغذية Vitamin C in foods

يُعتبر نقص فيتامين C في الوجبات الغذائية سبباً لمرض الإسقربوط وتقيّح اللثة وحدوث نزف دموي، ويُسمى فيتامين C بحامض الأسكوربيك وحموضته لا ترجع إلى وجود مجموعة كربوكسيل ولكن ترجع إلى وجود التركيب الإينولي به، ويتواجد في كثير في الخضر والفاكهة مثل البقدونس والجرجير والطماطم والبطاطس والخس وكذلك في الموالح والجوافة والتفاح.

الخواص الطبيعية والكيماوية لفيتامين ج (حامض الأسكوربيك)

1- سريع الذوبان في الماء وغير قابل للذوبان في المذيبات العضوية مثل الكلوروفورم والبنزين.

2- بلوراته ذات لون أبيض.

3- نقطة انصهاره 192°م ووزنه الجزيئي 176.

4- له ثابتا تأين هما $PK_2 = 11.6$ و $PK_1 = 4.2$.

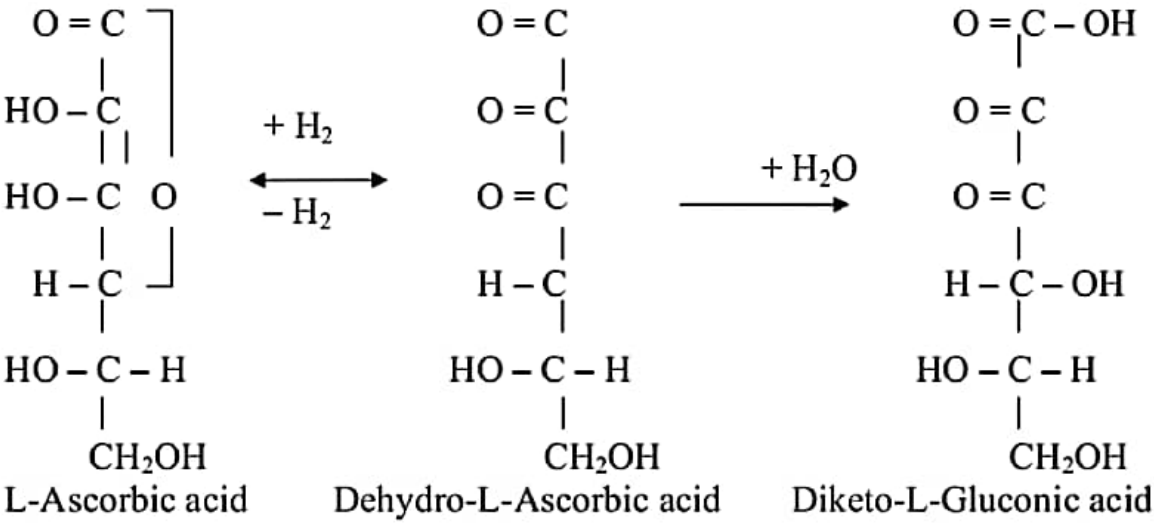
5- له أقصى امتصاص ضوئي للأشعة عند 265 مليمكرون في الماء.

6- سريع الأكسدة في الوسط القلوي والمتعادل ويشجع ذلك وجود الضوء والمعادن الثقيلة خاصةً النحاس والحرارة.

7- يُوجد في صورتين هما Dehydroascorbic acid، L-Ascorbic وهناك حالة توازن بين هاتين الصورتين (المؤكسدة والمختزلة)، وهي تتوقف على نوع النسيج وعوامل فسيولوجية أخرى وإن كانت الصورة الفعالة هي L-Ascorbic.

وعند ذوبان حامض الأسكوربيك في الماء فإن ذرة الأيدروجين الموجودة في التركيب الكيماوي على ذرة الكربون رقم 3 تتحلل أو تتأين أولاً معطيةً بذلك رقم حموضة (pH) مقداره ثلاثة وبالتالي تُعطي الطعم الحامضي لهذا الحامض حيث إن الحموضة لا ترجع هنا إلى وجود مجموعة كربوكسيل. أما في الوسط القلوي فإن ذرة الأيدروجين الموجودة على ذرة الكربون رقم اثنين تتأين ويُمكن أن يحل محلها أي معدن، ونتيجة لهذا التركيب الإينولي في حامض الأسكوربيك نجد أنه أصبح مادة سهلة الأكسدة وبذلك فهو يُعتبر عاملاً مختزلاً قوياً ونتيجة لهذه التفاعلات فإنه يتواجد في أكثر من صورة هي:

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner



مميزات التركيب الإينولي لحامض الأسكوربيك

1- ذرتا الأيدروجين الموجدتان على ذرتي الكربون 2، 3 قابلتان للأكسدة وبذلك يُعتبر هذا المركب عامل مختزل.

2- عند معاملة حامض الأسكوربيك بواسطة عامل مؤكسد قوي فإنه يفقد ذرتي أيدروجين من التركيب الإينولي معطياً بذلك حامض الأسكوربيك اللاهيدروجيني.

3- عند معاملة المركب الأخير بواسطة مادة مختزلة مثل كبريتيد الأيدروجين فإن كل جزيء من حامض الأسكوربيك يأخذ 2 ذرتا هيدروجين مكوناً حامض الأسكوربيك المختزل.

4- يُعتبر حامض الأسكوربيك حامضاً ثنائي الأيدروجين وتتأين ذرتا الأيدروجين على ذرتي الكربون رقم 3 أولاً ثم يليها الموجودة على ذرة الكربون رقم 2 وبالتالي يُعطي الطعم الحامض بالرغم من عدم وجود المجموعة الكربوكسيلية.

طرق تقدير فيتامين ج

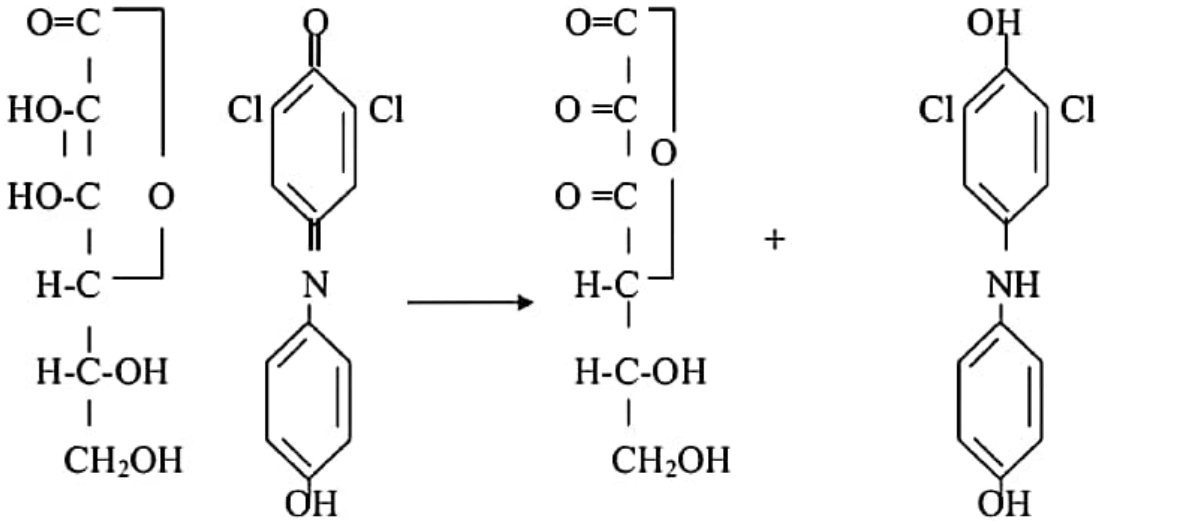
تبنى معظم الطرق الكيماوية على المقدرة الاختزالية لحامض الأسكوربيك وفيما يلي أهم الطرق المستخدمة:

1- **التقدير بواسطة المعايرة بصبغة** 2, 6 dichlorophenol endophenol

تعتمد هذه الطريقة على أن الصبغة لونها أزرق في الوسط القلوي وذات لون Pink في الوسط الحامضي، وهي تختزل بواسطة حامض الأسكوربيك إلى الصورة العديمة اللون Leuco form ويستعمل محلول مخفف من الصبغة لمعادلة حامض الأسكوربيك الموجود في المستخلص الحامضي للمادة الغذائية،

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

ويُعرف انتهاء التفاعل عند ظهور اللون الـ Pink الذي يستمر لمدة 15 ثانية عند إضافة نقطة من محلول الصبغة ويُمكن توضيح ذلك من التفاعل التالي:



L. Ascorbic (Reduced form) | 2, 6 DCPI (oxidized form) (Blue color) | Dehydro ascorbic acid (Oxidized form) | 2, 6 DCPI reduced form (Purple color)

2- **طريقة الأندوفينول الفوتومترية:**

وأساس هذه الطريقة قياس الكثافة الضوئية لمحلول الصبغة 2, 6 dichlorophenol-endophenol قبل وبعد إضافة حامض الأسكوربيك وانخفاض الكثافة الضوئية لمحلول الصبغة نتيجة إضافة حامض الأسكوربيك، ممكن استخدامه في تقدير كمية الحامض الموجودة.

يجرى التفاعل في هذه الطريقة على رقم pH 3- 4 حيث يكون مدى استجابة الصبغة أسرع على هذا الوسط، وفى حالة انخفاض رقم الـ pH عن الرقم السابق نجد أن الصبغة لونها يضعف أو يقل، أما في حالة ارتفاع رقم الـ pH عن 4 نجد أن المواد المختزلة لحامض الأسكوربيك تُصبح أكثر تأثراً، أو للوصول إلى الحالة المرغوبة في التفاعل تُضاف خلات صوديوم إلى محلول الصبغة لكي تنظم المخلوطين (حامض الميتافوسفوريك والصبغة) حيث يصل رقم الـ pH إلى حوالي 3.5.

3- **طريقة الداي نيتروفينايل هيدرازين** Di-nitrophenylhydrazine

وأساس هذه الطريقة هو أكسدة حامض الأسكوربيك بالعوامل المؤكسدة الهادئة إلى حامض Dehydro ascorbic الذي يتأكسد ذاتياً إلى حامض Diketogluconic وبالمعاملة بالمركب الآتي 2, 4 dinitrophenylhydrazine يُعطى كلاً من Dehydro ascorbic acid و Diketogluconic acid والمركب 2,4 dinitrophenylhydrazine يتصل فيه جزيئان من الهيدرازين على كل من ذرة الكربون

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

رقم 2 وذرة الكربون رقم 3 وعند معاملة المشتق بواسطة حامض الكبريتيك 85٪ يحدث للمشتق الهيدرازون تعديلات أو ترتيبات جزئياً Molecular rearrangement ويتكون ناتج ثابت Highly stable ذو لون بني محمر Reddish brown والذي يمتص الضوء بأعلى ذروة عند 500- 550 ملليمكرون ويُمكن قياس اللون المتحصل عليه بواسطة جهاز تقدير الألوان ومنه يُمكن حساب التركيز بالمقارنة بالمنحنى القياسي.

4- طريقة المعايرة باليود

تُستخدم في حالة تقدير الفيتامين النقي وفى المستحضرات الطبية وكذلك في عصير الفاكهة، الطماطم وهي طريقة سهلة وسريعة للتفرقة بين العصير الطبيعي والصناعي وذلك بالمعايرة مع محلول عياري لليود وقد ثبت أن هذه الطريقة لا تصلح في تقدير الفيتامين في المنتجات الطبيعية لأنها تحتوى على مواد ملونة تتداخل في تقدير نقطة انتهاء المعايرة.

وتُجرى معايرة الفيتامين في محلول حامضي لمنع أكسدة الفيتامين بالهواء التي تحدث بسهولة في الوسط القاعدي كما أن الوسط الحامضي عامل مهم في منع تأكسد بعض المواد مثل أملاح الحديدوز والجلوتاثيون بواسطة اليود والتي تحدث عادةً في وسط متعادل أو قلوي ومما يعمل على تلافي هذه الأكسدة أن يجرى التنقيط بسرعة حيث إن هذه المركبات تتأكسد بواسطة اليود ولكن بسرعة بطيئة.

4- تقدير فيتامين C بواسطة Folin-Ciocalteu Reagent

وتعتمد هذه الطريقة أساساً على تفاعل حامض الأسكوربيك مع محلول فولين Folin ونتيجة لهذا التفاعل يتكون لون أزرق له أقصى امتصاص ضوئي عند طول موجي 760 ملليميكرون وعن طريق المنحنى القياسي يُمكن معرفة تركيز فيتامين C. ومن أهم مميزات هذه الطريقة أنها تُستخدم مع التركيزات المنخفضة جداً من الفيتامين (5 ميكروجرام)، كذلك دقيقة جداً بالنسبة للطرق السابقة ، لا يتأثر التقدير بها بالعوامل المختزلة الموجودة في الغذاء مثل الجلوكوز، اليوريا، الأدنين ..... إلخ حيث يتم ترسيبها بواسطة حامض Trichloroacetic acid، كما أنها تُقدر الصور المختلفة لحامض الأسكوربيك وهي L-Ascorbic acid و Dehydro-L-Ascorbic.

فيتامين أ Vitamin A

يتواجد في المصادر الحيوانية مثل الزبد والبيض واللبن والأسماك في صورة الفيتامين نفسه أما المصادر النباتية فإنه يتواجد في صورة مولدات الفيتامين ومن أمثلتها مركبات الكاروتين أو ما يُطلق عليها Carotenoids وهي مجموعة عديدة من المركبات منها:

1- صبغة β-carotein

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

رقم 2 وذرة الكربون رقم 3 وعند معاملة المشتق بواسطة حامض الكبريتيك 85٪ يحدث للمشتق الهيدرازون تعديلات أو ترتيبات جزئياً Molecular rearrangement ويتكون ناتج ثابت Highly stable ذو لون بني محمر Reddish brown والذي يمتص الضوء بأعلى ذروة عند 500- 550 ملليمكرون ويُمكن قياس اللون المتحصل عليه بواسطة جهاز تقدير الألوان ومنه يُمكن حساب التركيز بالمقارنة بالمنحنى القياسي.

4- طريقة المعايرة باليود

تُستخدم في حالة تقدير الفيتامين النقي وفى المستحضرات الطبية وكذلك في عصير الفاكهة، الطماطم وهي طريقة سهلة وسريعة للتفرقة بين العصير الطبيعي والصناعي وذلك بالمعايرة مع محلول عياري لليود وقد ثبت أن هذه الطريقة لا تصلح في تقدير الفيتامين في المنتجات الطبيعية لأنها تحتوى على مواد ملونة تتداخل في تقدير نقطة انتهاء المعايرة.

وتُجرى معايرة الفيتامين في محلول حامضي لمنع أكسدة الفيتامين بالهواء التي تحدث بسهولة في الوسط القاعدي كما أن الوسط الحامضي عامل مهم في منع تأكسد بعض المواد مثل أملاح الحديدوز والجلوتاثيون بواسطة اليود والتي تحدث عادةً في وسط متعادل أو قلوي ومما يعمل على تلافي هذه الأكسدة أن يجرى التقيط بسرعة حيث إن هذه المركبات تتأكسد بواسطة اليود ولكن بسرعة بطيئة.

4- تقدير فيتامين C بواسطة Folin-Ciocalteu Reagent

وتعتمد هذه الطريقة أساساً على تفاعل حامض الأسكوربيك مع محلول فولين Folin ونتيجة لهذا التفاعل يتكون لون أزرق له أقصى امتصاص ضوئي عند طول موجي 760 ملليميكرون وعن طريق المنحنى القياسي يُمكن معرفة تركيز فيتامين C. ومن أهم مميزات هذه الطريقة أنها تُستخدم مع التركيزات المنخفضة جداً من الفيتامين (5 ميكروجرام)، كذلك دقيقة جداً بالنسبة للطرق السابقة ، لا يتأثر التقدير بها بالعوامل المختزلة الموجودة في الغذاء مثل الجلوكوز، اليوريا، الأدنين ..... إلخ حيث يتم ترسيبها بواسطة حامض Trichloroacetic acid، كما أنها تُقدر الصور المختلفة لحامض الأسكوربيك وهي L-Ascorbic acid و Dehydro-L-Ascorbic.

فيتامين أ Vitamin A

يتواجد في المصادر الحيوانية مثل الزبد والبيض واللبن والأسماك في صورة الفيتامين نفسه أما المصادر النباتية فإنه يتواجد في صورة مولدات الفيتامين ومن أمثلتها مركبات الكاروتين أو ما يُطلق عليها Carotenoids وهي مجموعة عديدة من المركبات منها:

1- صبغة β-carotein

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

2- صبغة α-carotein .

3- صبغة γ-carotein .

4- مشتقات كاروتينية أخرى ثانوية .

وهذه المشتقات أو المولدات تُعطي نفس التأثير الفسيولوجي للفيتامينات داخل الجسم.

خواص وصفات فيتامين أ

1- يذوب في مذيبات الدهون مثل الكلوروفورم- البنزين- الأثير البترولي ويذوب بصعوبة في الكحول.

2- حساس لفعل الضوء ويتأكسد بسرعة في وجوده.

3- لا يتأثر كثيراً بالحرارة خاصةً في غياب الأكسجين

4- له λ_{max} تختلف حسب نوع المذيب المستخدم في الاستخلاص

تقدير فيتامين أ Determination of vitamin A

هناك طريقة ثالث كلوريد الأنتيمون (نت كل3) حيث يتفاعل مع الكاروتين وفيتامين أ ليُعطي لوناً أزرق له شدة امتصاص قصوى عند طول موجة مقداره 620 مليمكرون. وأساس هذه الطريقة هو تقدير الكاروتين بمفرده في تجربة منفصلة ثم تقدير الفيتامين والكاروتين ثم تُطرح كمية الكاروتين لنحصل بذلك على كمية الفيتامين نفسه.

صعوبة الطريقة

ترجع صعوبة تقدير فيتامين أ بطريقة ثالث كلوريد الأنتيمون إلى:

1- حدوث زوال سريع للون الأزرق لذلك يجب تكرار التجربة عدة مرات لتحديد أنسب وقت لأخذ القراءة (3 – 5 دقائق).

2- يُعتبر ثالث كلوريد الأنتيمون مادة سريعة الاشتعال لذلك يجب الحذر عند استخدامه كذلك في تداوله.

3- يُعتبر ثالث كلوريد الأنتيمون حساساً جداً لآثار الماء ووجودها يُسبب تغيرات سريعة في اللون.

4- وجود بعض المواد مثل الأستيرولات يعوق ظهور اللون حيث تُعطي الأستيرولات مع ثالث كلوريد الأنتيمون لوناً أحمر أما الكاروتين فإنه يُعطي لوناً أزرق ثابت.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

خطوات تقدير فيتامين أ

يتم تقدير فيتامين أ في عدة خطوات هي:

1- **مرحلة التصبن** Saponification stage

الغرض منها هو إجراء تصبن للمواد الدهنية وانفراد الفيتامين في الجزء غير المتصبن وتتم بواسطة إضافة بوتاسا كاوية كحولية على العينة في دورق مخروطي ويتم التصبن لمدة 25 دقيقة على حمام مائي يغلي مع استخدام مكثف هوائي عاكس.

2- **مرحلة الاستخلاص** Extraction of vitamin

وفيها يتم الاستخلاص باستعمال قمح فصل ويُستخدم الأثير كوسط للاستخلاص وتُجرى عدة مرات ويُعاد غسيل المستخلص الأثيري عدة مرات بالقلوي المخفف وذلك للتخلص من أي آثار صابون تكون لا زالت باقية ويجب التخلص من آثار القلوي.

3- **التخلص من المذيب** Removal of solvent

ويتم التخلص من الأثير على حمام مائي ويجب أن يتم بسرعة وبعد ذلك تتم إذابة الراسب في الكلوروفورم لمنع أكسدته بالهواء.

4- **التقدير** Determination of vitamin

يتم التقدير للكاروتين في جزء من الراسب المذيب في الكلوروفورم وذلك بواسطة الكروماتوجرافي Chromatography أما الجزء الثاني فيتم تقدير فيتامين أ فيه وبالطرح يُمكن الحصول على كمية الفيتامين داخل العينة (وذلك بواسطة التفاعل مع ثالث كلوريد الأنتيمون).

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

الصبغات في الأغذية Pigments in foods

الصبغات والمواد الملونة الموجودة طبيعياً في الأغذية تُوجد منتشرة في البلاستيدات وهي عبارة عن أجسام تتواجد منتشرة في برتوبلازم الخلايا فمثلاً يتواجد الكلوروفيل في الكلوروبلاستيدات والتي يُمكن رؤيتها بوضوح بجوار جدر الخلايا بواسطة الميكروسكوب وهو عبارة عن أجسام لامعة تحتوى على صبغات الكلوروفيل الخضراء، وقد تُوجد الصبغة على هيئة بلورات في داخل البروتوبلازم كما هو الحال في صبغة الكاروتين في الجزر، وصبغة اللايكوبين في الطماطم وتوجد في صورة حمراء اللون كذلك فإن الصبغات القابلة للذوبان في الماء تُوجد ذائبة داخل الفجوة العصارية للخلية ولا تنتشر في كل الخلية.

أهمية دراسة اللون والصبغات الطبيعة في الأغذية

ترجع أهمية دراسة اللون والصبغات في الأغذية إلى ما يلي:

1- اللون معيار هام من معايير الجودة خاصة في تسويق المواد الغذائية، حيث له علاقة بأفضلية المستهلك لها بالرغم من أن اللون أو عدمه ليس من الضرورة أن يعكس القيمة الغذائية لتلك المنتجات.

2- اللون قد يتخذ كمقياس لتدريج المواد الغذائية حيث يرتبط بدرجة النضج (توحيد ثابت للمواد الغذائية ذات لون واحد).

3- يمكن الحكم من خلال اللون على درجة أو مرحلة معينة من النضج خاصة للفاكهة مثل اللون الأخضر في المشمش أو في الخضروات كما في الفواكه.

4- لون الدقيق يمكن أن يستخدم كمقياس في تقدير درجة الاستخلاص حيث كلما ارتفعت نسبة الاستخلاص كلما كان لون الدقيق غامقا.

5- تغير اللون ممكن أن يكون مقياسا لانتهاء التصنيع مثل تخليل الخيار.

6- التغير في اللون يمكن اعتباره كدلالة لحدوث فساد كتغير لون اللحم أو علامة على حدوث تحلل في القوام مثل تغير خياشيم السمك.

الصبغات الموجودة في الخضر والفاكهة

تُوجد عدة أقسام من هذه الصبغات منتشرة في الخضر والفاكهة وهي ما يلي:

1- الكاروتينويدات Carotenoides

2- الكلوروفيلات Chlorophylls

3- الأنثوزانتين Anthoxanthins

4- الأنثوسيانين Anthocyanins

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

وستُوجه الدراسة إلى تركيب وخواص وطرق تقدير الكاروتين وهو يتبع القسم الأول Carotenoids.

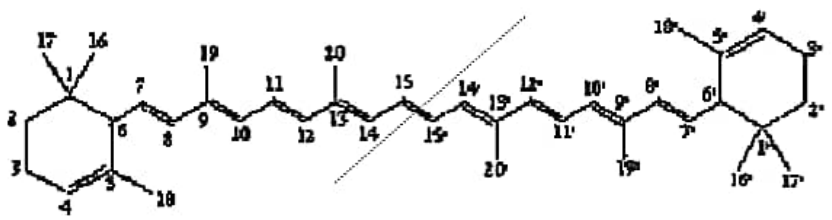
صبغة الكاروتين Carotene pigment

وهو أحد أفراد القسم الأول وهو عبارة عن مخلوط من 3 مركبات أو مشابهات هي γ-β-α- Carotene ورمز الكاروتين هو $C_{40}H_{56}$.

ويُوجد الكاروتين بكثرة في الخضر والفاكهة وبعض الأغذية الحيوانية مثل البيض واللبن والزبد وهو عبارة عن صبغة طبيعية تذوب في الدهن وغير ذائبة في الماء ولونها يتراوح بين الأصفر أو البرتقالي أو الأحمر البرتقالي وتُوجد هذه الصبغة في المادة الدهنية مع الكلوروفيل ولون الكلوروفيل الأخضر بنفس لون صبغة الكاروتين الأصفر المائل إلى الأحمر وذلك في حالة الفواكه غير الناضجة ويظهر لون الكاروتين في الأوراق الحديثة أو المحتوية على كلوروفيل بنسبة بسيطة بوضوح ويرجع اللون الأخضر المصفر البراق للأوراق لوجود الكاروتين ونسبة بسيطة من الكلوروفيل ويُوجد الكاروتين بكثرة في كل من الفاكهة والخضر (المشمش- المانجو- الخوخ- البرتقال الأصفر- الجزر- الطماطم الورد والبطاطا)، وعندما تُستهلك هذه المواد الغذائية بواسطة الإنسان أو الحيوان فإنها تتركز في الدهن وبذلك فهي تُوجد في الدم- اللبن- صفار البيض والدهن المخزن.

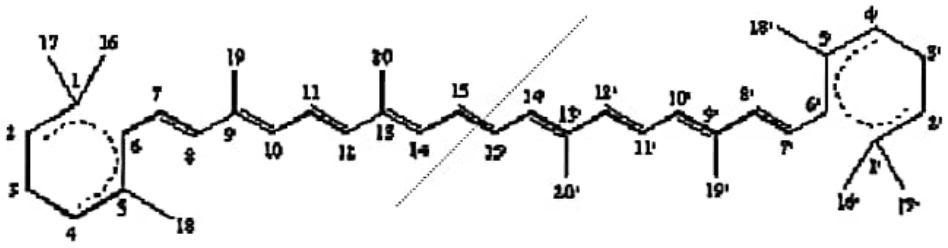
التركيب الكيماوي للكاروتين

يتركب جزيء الكاروتين من 40 ذرة كربون وتُوجد في سلسلة هيدروكربونية طويلة تحتوى على روابط مزدوجة متبادلة مع بعضها وذلك يُعطي عدم التشبع لهذه السلسلة وتنتهي بوجود حلقة بنزين في إحدى نهايتيها أو حلقة في كل طرف وتكون هذه الحلقة مفتوحة أو مغلقة وذلك يُعطي الفروق بين مركبات الكاروتين المختلفة، وبعض هذه الجزيئات قد يكون متماثلاً في التركيب وهذا معناه إذا قسم الجزيء إلى نصفين فإن النصف اليساري يكون صورة في المرآة للنصف الأيمن كما هو الحال في β- Carotene and lycopene.



β-Carotene.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner



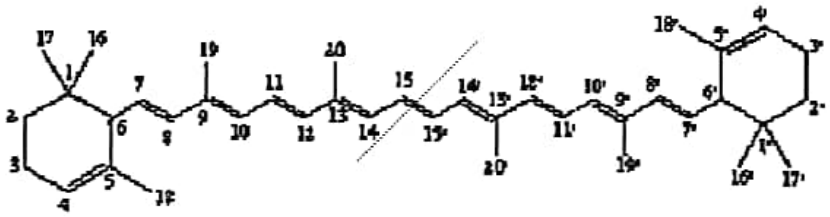
Lycopene

ويُلاحظ مما سبق ما يلي:

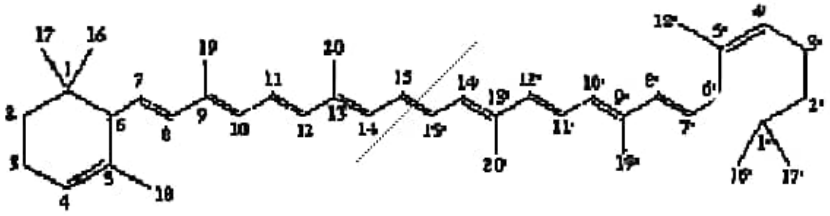
1- تماثل مجاميع $-CH_3$ على السلسلة الأيونية على الذرات أرقام 9 و13 في كلٍ من الكاروتين والليكوبين.

2- تماثل الجزيء في الحالتين وذلك عند ذرة الكربون رقم 15.

3- الاختلاف يرجع إلى الحلقة المفتوحة في جزيء الليكوبين ولكنها مغلقة في حالة الكاروتين، وهذا يُؤدي إلى اختلاف في لون كلٍ من الصنفين.



α-Carotene



γ-Carotene

ويُلاحظ مما سبق ما يلي:

1- أن الاختلاف بين كل من γ-Carotene and α-Carotene يكون في إحدى الحلقتين الطرفيتين.

2- جزيء γ-Carotene يحتوي على حلقة واحدة والأخرى مفتوحة وبذلك فإن نصفه يتماثل مع نصف جزيء β-Carotene أما النصف الآخر فيماثل نصف جزيء Lycopene .

3- يوجد كل من γ-Carotene and α-Carotene في الطبيعة منتشرة مع γ-Carotene بكميات بسيطة.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

تقدير الكاروتين

يتم تقدير صبغة الكاروتين على عدة خطوات هي:

أ- استخلاص صبغة الكاروتين وتنقيتها

يُوزن 10- 12 جم من العينة المراد تقدير نسبة الكاروتين بها ويُضاف إليها 50 مل أسيتون كمذيب حيث يُعتبر أكفأ المذيبات العضوية مقدرة على استخلاص الصبغات النباتية حيث إن فاعليته في الاتجاهين Polar and nonpolar وبذلك لا يتأثر كثيراً لوجود الماء بالبيئة وفى حالة المواد الغذائية الصلبة أو الشبه صلبة كما في المربى وخلاف ذلك يُجرى الاستخلاص باستعمال الخلاط الكهربي، وإن كان ذلك له عيبان هما:

1- احتمال اشتعال الأسيتون في حالة زيادة مدة الخلط.

2- أكسدة المركبات غير المشبعة وتكسيرها وذلك لوجود الهواء الجوى في الطرف العلوي من الخلاط، وتلافياً لذلك يُفضل استخدام خلاط ذي جدار مزدوج يبرد بمرور ماء ذي درجة حرارة منخفضة وكذلك في وجود غاز النيتروجين داخل الخلاط أثناء الاستخلاص.

2- بعد عملية الاستخلاص التي قد تستمر لمدة 3 دقائق وتُعاد مرة أو مرتين حسب الحالة وذلك حتى يُصبح لون الأسيتون المستخلص خال من الصبغات دليل على تمام الاستخلاص ننقل كميات المستخلص إلى قمع فصل أما في حالة الأغذية السائلة مثل العصائر فإنه يُستخدم بها قمع فصل مع الأسيتون ويتم ذلك بالرج مع ملاحظة إخراج الغاز المتكون أثناء الرج بعد كل فترة ويُجرى أيضاً الاستخلاص أكثر من مرة.

3- يُنقل المستخلص الكلي إلى قمع فصل سعة 500 مل ثم يُضاف إليه محلول مكون من 2 جزء ماء + 3 أجزاء هكسان ويُرج المخلوط لمدة دقيقة ويُترك القمع فترة من الزمن حتى يتم انفصال المحتويات إلى طبقتين وهما طبقة الماء والأسيتون وبها قليل من الصبغات وطبقة الهكسان وتحتوى على معظم الصبغة.

4- تُنقل طبقة الماء والأسيتون إلى قمع فصل آخر وتُستخلص هذه الطبقة مرة أخرى بواسطة 50 مل من الهكسان ويستمر ذلك حوالي 2- 4 مرات حتى يظهر لون الهكسان عديم اللون.

5- يتم جمع مستخلص الهكسان الكلى مع المستخلص الأول ويتم غسله مرة أو مرتين بواسطة 100 مل من الماء المقطر ثم يُستغنى عن الطبقة المائية.

يتم تجفيف مستخلص الهكسان وبه الصبغة بواسطة كبريتات الصوديوم اللامائية ثم يُبخر تحت تفريغ إلى حوالي 10- 15 مل مستخلص نهائي بحيث لا تزيد درجة الحرارة عن 40°م وذلك بعد الترشيح من كبريتات الصوديوم اللامائية وتُسمى هذه العملية بالتنقية.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

ب- الفصل الكروماتوجرافي في صبغة الكاروتين

يتم ملء العمود الزجاجي بواسطة مادة الادمصاص أو الوسط الثابت الذي يجرى عليه الفصل وهي أكسيد الألمونيوم Al_2O_3 ويغطى بواسطة طبقة رقيقة من كبريتات الصوديوم اللامائية وتُوضع العينة (5- 10 °م) السابق تحضيرها على قمة العمود وتُترك لكي تتخلل مادة أكسيد الألمونيوم وذلك عن طريق ضبط فتحة العمود من أسفل بمعدل 20 مل في الساعة مثلاً ثم يُغسل العمود باستخدام مخلوط من الأسيتون والهكسان 1: 9 ويستمر في عملية الغسيل هذه حتى يختفي لون الصبغة من داخل أكسيد الألمونيوم الموجود بالعمود ويُستقبل المستخلص من العمود ويُنقل إلى دورق معياري سعة 100 مل ويُكمل إلى العلامة بنفس المحلول ويكون جاهزاً للتقدير.

يُخفف الراشح المستقبل إذا لزم الأمر بواسطة نفس مخلوط الاستخلاص (1 : 9) أسيتون + هكسان وتؤخذ قراءة اللون أو الكثافة الضوئية له على موجة ضوئية طولها 440 نانوميتر وذلك باستخدام جهاز مقارنة الألوان Colorimeter.

جـ- حساب التركيز

يتم تحضير تركيزات مختلفة باستخدام صبغة β-Carotene النقية في نفس المحلول المستخدم وهو أسيتون + هكسان (1 : 9) وتقرأ الكثافة الضوئية المقابلة لكل تركيز وترسم العلاقة بين التركيز (مجم/ مل) مع الكثافة الضوئية على المحور الرأسي وبذلك نحصل على خط مستقيم ماراً بنقطة الأصل ثم قراءة الكثافة الضوئية المقابلة للعينة ومن المنحنى القياسي المستخدم فيه صبغة نقية يُمكن معرفة تركيز الصبغة فئ العينة وعادةً تحسب على أساس ملليجرام صبغة β-Carotene لكل 100 جم عينة.

الخواص الكيماوية لصبغة الكاروتين

1- **نقطة الانصهار** Melting point

تتراوح نقطة الانصهار بين 181- 187.5°م وتتوقف على درجة النقاوة من المشابهات الأخرى.

2- **الذوبان** Solubility

لا يذوب في الماء ولكنه يذوب في الدهن ومذيباتها فهو يذوب بسهولة في ثاني كبريتيد الكربون البنزين والكلوروفورم والإثير والإثير البترولي ولكنه لا يذوب في الإيثانول أو الميثانول.

3- **تفاعلات اللون** Color reactions

عند إضافة حامض الكبريتيك المركز إلى محلول صبغة β-Carotene في الكلوروفورم يُلاحظ تحول لون طبقة الحامض إلى اللون الأزرق.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

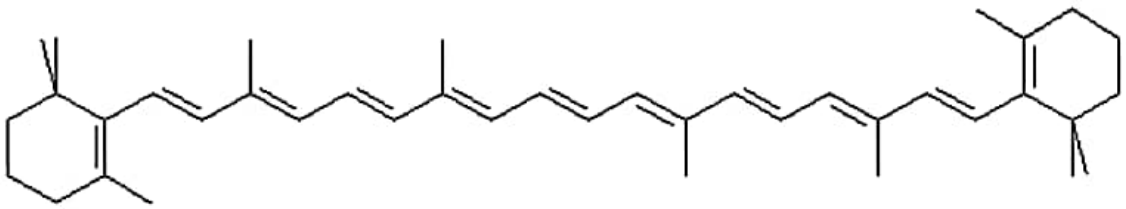
كذلك عند إضافة حامض النيتريك المركز نقطة منه إلى محلول الكاروتين في الكلوروفورم يُلاحظ ظهور اللون الأزرق أولاً و الذي يتحول في الحال إلى الأخضر ثم إلى اللون الأصفر الباهت.

4- التفاعل مع الأكسجين

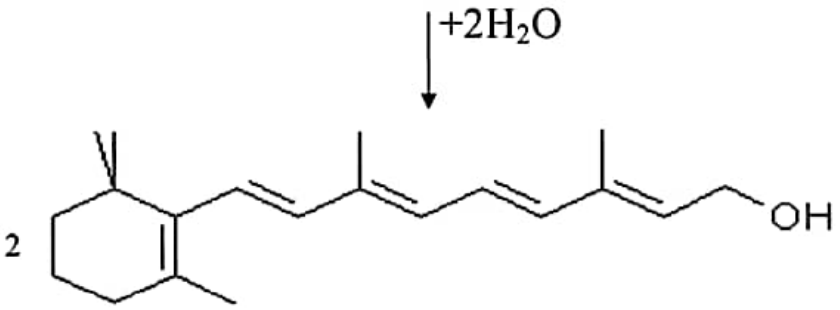
عند تعريض الكاروتين لأوكسجين الهواء الجوى نجد أنه يمتص الأكسجين ويُصبح عديم اللون وذلك حسب درجة امتصاص الأكسجين.

5- الخواص الفسيولوجية

تُعتبر صبغة β-Carotene هامة في التغذية لأنها تُعتبر المولد الأساسي لفيتامين أ داخل الجسم حيث إن Vitamin A يُساوى نصف جزيء الـ β-Carotene، وداخل جسم الحيوان يتحول الجزيء الواحد من صبغة الـ β-Carotene إلى جزيئين من Vitamin A بواسطة التحلل كما هو واضح في المعادلة التالية.



β-Carotene.



Vitamin A

وتحول صبغة β-Carotene إلى فيتامين أ كانت مجال كثير من الدراسات والأبحاث وتختلف تبعاً لما يلي من العوامل:

1- درجة تشبع الوسط ومدى احتوائه على فيتامين أ مخزن، فقد وجد في حالة الحيوانات التي تحتاج إلى فيتامين أ أن نسبة التحول تكون كبيرة وتصل إلى حوالي 70- 80٪، أما في حالة الحيوانات المحتوية على كميات كبيرة من Vitamin A في أنسجتها أو بمعنى آخر تكون في حالة تشبع نجد أن كميات قليلة من صبغة الكاروتين تتحول إلى Vitamin A وفى هذه الحالة يخرج جزء كبير من الفيتامين والصبغة في الفضلات.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner

2- نوع المذيب الموجود به الكاروتين فمثلاً لو كان مصدر الكاروتين في التغذية هو زيت نباتي فإنه يُمتص بسهولة فيتحول إلى Vitamin A ولكن إذا كان الكاروتين ذائباً في زيت معدني فإنه لا يُمتص ويخرج مع الفضلات. والكاروتينات الأخرى التي تعتبر مولدات لـ Vitamin A ها α and γ Carotene وهي ليست مهمة أو في نفس الأهمية والقيمة كما هو الحال في صبغة β-Carotene لتخليق Vitamin A حيث إنها تكون قادرة فقط على تكوين جزيئين كما هو الحال في صبغة الـ β-Carotene.

الممسوحة ضوئيا بـ CamScanner