



منشورات جامعة دمشق

كلية الزراعة

قسم علوم الأغذية

عملي

المواد المضافة للأغذية

"مضادات الغذاء"

الدكتورة لينا المغربي

مدرسة في قسم علوم الأغذية

الدكتور غيث سميّنه

أستاذ في قسم علوم الأغذية

المهندس عبده العبد الله

قائم بالأعمال في قسم علوم الأغذية

المهندسة راما عتمة

قائمة بالأعمال في قسم علوم الأغذية

١٤٣٤-١٤٣٣ هـ

٢٠١٣-٢٠١٢ م

جامعة دمشق



الفهرس

الصفحة	الموضوع
9	المقدمة
13	الفصل الأول: ملونات الأغذية
13	-1- مقدمة في دراسة الملونات الاصطناعية
17	-2- الطرق العامة لتمييز الملونات الاصطناعية في الأغذية
19	-1-2-1 المعالجة الأولية للغذاء ومستخلص الملونات
21	-2-2-1 فصل وتمييز الملون أو الملونات
22	-1-2-2-1 تمييز وتعيين ملون صنعي واحد
23	-2-2-2-1 تمييز وتعيين مزيج من الملونات
24	-1-2-2-2-1 التمييز والفصل بألواح الطبقة الرقيقة
26	-2-2-2-2-1 التمييز والتعيين بالعمود الكروماتوغرافي
27	-3-2-1 ملاحظات على استخلاص الملونات في الغذاء
29	-3-1 تمييز مستحضرات الملونات الصناعية وخصائصها
39	-4-1 مزج الملونات الأولية
44	-5-1 تعيين اللون الكلي لملونات الغذاء
49	-6-1 كشف وتحري وجود الملونات الصناعية
51	-7-1 كشف وتمييز وتعيين الملونات في مستخلص قشرة العنب
53	-8-1 فصل وتعيين الأنثوسيلانيات
61	الفصل الثاني: المواد الحافظة للأغذية
61	-1-2 مقدمة حول المواد الحافظة للأغذية
68	-2-2 تعيين ثنائي أكسيد الكبريت بالمعايرة باليود
72	-3-2 تعيين حمض بنزويك في الأغذية

75	4-2- كشف وتعيين حمض سوربيك والسوربات
83	4-1- تحليل حمض سوربيك بطريقة AOAC التي تعتمد على الكروماتوغرافيا الغازية
85	4-2- طريقة HPLC لتعيين حمض سوربيك
90	5-2- تعيين النترات والنتريت في الأغذية
99	الفصل الثالث: مضادات الأكسدة
99	1-3- مقدمة حول مضادات الأكسدة
100	2-3- مضادات الأكسدة الصناعية
106	3-3- استخلاص مضادات الأكسدة من الأغذية
107	4-3- طرق تعيين الغالات بوتيل هيدروكسي أنيسول وبوتيل هيدروكسي تولوين في الزيوت والدهون
107	4-1- تعيين الغالات في مستخلص الميثانول
110	4-2- تعيين بوتيل هيدروكسي أنيسول في مستخلص الميثانول
111	4-3- تعيين بوتيل هيدروكسي تولوين في مستخلص الميثانول
113	4-4-3- تعيين سبعة مضادات أكسدة فينولية باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة (HPLC) عالية الأداء
117	الفصل الرابع: تحليل مواد النكهة والطعم
117	1-4- مقدمة حول تحليل مواد النكهة والطعم
119	2-4- تعيين الفانيلين بالمطياف فوق البنفسجي
122	3-4- تعيين المالتول وإتيل مالتول
127	4-4-4- تعيين الكافيين في المشروبات الغازية بالكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء

133	الفصل الخامس: المحليات شديدة الحلاوة قليلة السعرات
133	1-5 مقدمة حول المحليات شديدة الحلاوة قليلة السعرات
136	2-5 كشف السكارين في الأغذية
141	3-5 تعيين الأسيبارتام في المجال فوق البنفسجي
151	الفصل السادس: بعثرة المادة
151	1-6 مقدمة حول بعثرة المادة
152	2-6 تجربة على المستحلبات
154	3-6 تجربة على الخواص الرغوية للبروتينات
155	4-6 تجارب على دراسة تأثير عوامل متعددة على هلام الجيلاتين
162	5-6 تجارب على أصماع الأغذية من الكربوهيدرات
166	6-6 هلامات الألبينات
167	الفصل السابع: المكملات الغذائية
167	1-7 مقدمة حول المكملات الغذائية
168	2-7 تعيين العناصر المعدنية في منتجات الغذاء المعلبة
174	3-7 تعيين ألياف القوت في الأغذية بطريقة AOAC الأنزيمية الوزنية
179	4-7 تعيين فيتامين C، حمض أسكوربيك
182	5-7 تعيين الحموض الدهنية (أميغا 3، أميغا 6، أميغا 9) بالكروماتوغرافيا الغازية
185	6-7 تعيين فيتامين E، التوكوفيرولات
195	المراجع
199	المصطلحات العلمية
200	المختصرات والرموز
201	الملحق



بسم الله الرحمن الرحيم

المقدمة

يتطلب إنتاج الأغذية وتحضيرها وتصنيعها وتوزيعها، وهي عمليات صناعية تزداد تعقيداً مع توسيع حجم العمل فيها، إلى الكفاءة في استخدام المصادر الازمة في جميع المراحل السابقة، من أسمدة ومبادات ومنظمات نمو، وذلك للمساعدة في إنتاج وتخزين المنتجات الزراعية من فاكهة وخضار ومحاصيل. وبالإضافة إلى ما سبق فإن معالجة المنتجات الغذائية المصنعة بطرق متنوعة وتصنيعها وتخزينها وتوزيعها، يتطلب استعمال مضادات كيميائية، وعوامل مساعدة في التصنيع، بالإضافة إلى مواد التعبئة، وكل ذلك يترك أثراً من متبقيات يمكن قياسه وتعيينه. وهكذا فإن المنتج الغذائي النهائي قد يحوي متبقيات مختلفة من مواد لا تمت بصلة إلى الغذاء. وهذه الآثار من المتبقيات قد توجد ضمن الغذاء إما عن سابق تصميم، أي أضيفت مباشرة، أو أنها تأتي عرضاً إلى الغذاء، دون رغبة القائمين عليه، فالمتبقيات الأولى يشملها مفهوم مضادات الغذاء، في حين أن الثانية تقع ضمن ملوثات الغذاء، ولها مقام آخر غير هذا الكتاب، الذي يقتصر فقط على تتبع ومعرفة المضادات الغذائية.

إذا بسطنا تعريف المضادات الغذائية نقول إنها أي مادة، لا تعد ولا تستعمل عادة كغذاء، وتضاف إليه أو عليه، في أي مرحلة، لتأثير في الغذاء، مزيدة فترة حفظه وجودته، ومحافظة على قوامه، وتماسكه، ومظهره، ورائحته،

وحموسته، أي أنها تقوم بتحقيق وظيفة تكنولوجية فيه، وتشمل مساعدات التصنيع أيضاً.

تصنف مضادات الأغذية وفق استعمالها الوظيفي، ولذلك تجمع في

مجموعات من المضافات، أهمها الآتي:

- الملونات.
- الحافظات (المواد الحافظة).
- مضادات الأكسدة.
- عوامل الاستحلاب.
- المثخنات، عوامل التهلم، المثبتات.
- المنكهات ومعززاتها.
- الحموضة ومنظمات الحموضة.
- عوامل مضادة للتكتل.
- النشاء المعدل.
- المحليات.
- عوامل رفع المخبوزات وعوامل معالجة الدقيق.
- عوامل مضادة للرغوة، ومثبتات الرغوة.
- عوامل التثبيت.
- المرطبات.
- المحليات.
- الأنزيمات..... وغيرها.

نرى من خلال التقدم الذي نلاحظه في أنواع الأغذية المصنعة اليوم وال الموجودة في الأسواق وإقبال المستهلك عليها أن مضادات الغذاء مستخدمة وتضاف إلى الغذاء لإنجاز وإعطاء نتيجة تكنولوجية محددة في المنتج. وعملياً لا يوجد تصنيع للأغذية دون مضادات غذائية. ومن هنا وجوب ضبطها بتشريعات وتعليمات موجودة في دول عدّة، ومن ضمنها سورية، حيث تحدد هذه التشريعات اسمها ونوعها وكميته والأغذية التي تضاف إليها. ولمراقبة مدى نفاذ هذه التشريعات، والموجودة على هيئة مواصفات، لا بد من إجراء اختبارات لمعرفة وكشف المضاف الغذائي، وتعيين كميته في الأغذية المطروحة في الأسواق للاستهلاك. ومن هنا نشأت الحاجة لتمرن طلاب علوم الأغذية وتدريبهم على تقنيات مخبرية للوقوف على سويات مضادات الغذاء في المنتجات الغذائية السورية أو المستوردة، وكشفها في مجموعات الأغذية، ولذلك احتوى هذا الكتاب تجارب مخبرية وتجارب عملية لكشف وتحليل المضافات الغذائية المهمة في حياتنا اليومية، فجاء شاملاً تجارب على ملونات الغذاء والمواد الحافظة، والمواد المضادة للأكسدة، والمواد المضافة من المحليات، وبعض الغرويات المائية، إضافة لفصل منوع لموضوعات هامة وضرورية لفهمها طالب في قسم علوم الأغذية.

المؤلفون



الفصل الأول

ملونات الأغذية

FOOD COLORANTS

١-١- مقدمة في دراسة الملونات الاصطناعية:

تؤدي الملونات في الأغذية دوراً مهماً في قبول الغذاء من قبل المستهلكين وخاصة الأغذية المصنعة، ومن هنا نشأت الحاجة إلى مراقبة المركبات المستعملة كملونات غذائية، ولذا صدرت التعليمات الوطنية، والتي تعد تشريعاً على مصنعي الأغذية الأخذ بها، ومنه المواصفة السورية للملونات رقم 770 لعام 2007، بجزئها الأول الذي يضم الملونات المسموح بإضافتها إلى الأغذية سواء أكانت طبيعية أم صناعية أو مماثلة للطبيعي، وبجزئها الثاني الذي يضم مجموعات الأغذية التي يسمح بإضافة ملونات إليها مع الحدود العظمى لإضافتها كما هو موضح في الجدولين (1-1) (2-1).

جدول (١-١) المواد الملونة الاصطناعية المسموح باستعمالها في الأغذية وفق المعاصفة
السورية ٧٧٠ لعام ٢٠٠٧

الجرعة اليومية المقبولة ADI mg/Kg(bw)	رقم النظام الدولي (INS)	رقم الدليل اللوني	الاسم الشائع للملون
7	129	16035	أحمر أورا (أ. سي)
4	122	14720	أزوربين
1	151	28440	أسود براق (بي. إ)
1	133	42090	أزرق براق (إف. سي إف)
0.1	127	45430	أريثروزين
25	143	42053	أخضر ثابت (إف. سي. إف)
5	132	73015	إنديغوتين
4	124	16255	بونسو ٤ آر
2.5	110	15985	أصفر غروب الشمس (إف. سي. إف)
7.5	102	19140	ترترازين
غير محددة	171	77891	ثنائي أكسيد التيتانيوم

جدول (1-2) الملونات المسموح إضافتها إلى مجموعات غذائية معينة و حدودها القصوى

وفق المواصفة السورية 770 لعام 2007

الحدود القصوى (ملغ/ل)	الأرقام الدولية للملونات المسموح بها	اسم المجموعة الغذائية
100 GMP 100	129 161 g 110	الشرابات الغازية المنكهة
100 5 100	129 161 g 110	الشرابات المنكهة غير الغازية
100 100 100	129 161 g 110	الشرابات المنكهة المركزية (سائل أو مسحوق)
GMP GMP GMP GMP	150 a 150b 150c 150d	القهوة والشاي ومنقوع الأعشاب وشرابات الحبوب الساخنة الأخرى باستثناء الكاكاو
GMP GMP GMP	150b 150c 150d	المشروبات الكحولية، تتضمن المشروبات خالية أو منخفضة الكحول
100 10 5 GMP GMP 100 600 200 GMP 100	129 133 161 g 150c 150d 120 160 aii 100i 163ii 102	البييرة وشرابات المالت

GMP: تعني ضمن حدود الممارسات الجيدة للتصنيع

لمعرفة الملونات المطابقة للأرقام الدولية الواردة أعلاه راجع الجزء النظري والمواصفة السورية.

كما تضم المواصفة السورية لملونات الغذاء قوائم بالخصائص التي تدل على نقاوة الملونات، وهذه الخصائص هي: الحدود العليا من العناصر المعدنية الثقيلة، درجة النقاوة للصبغة، المواد المتبايرة عند الدرجة 135°م، المواد غير الذائبة في الماء، مستخلصات الإيتير الذائبة، الصبغة الثانوية المرافقة للصبغة الأساسية وخاصة الأمينات العطرية الحرة. ويوضح الجدول (1-3) خواص الملونات الصناعية.

الجدول (1-3) خصائص الملونات الصناعية وحدودها العليا كما وردت في المواصفة السورية (770/2007) الجزء الأول.

الحدود العليا	الخصائص
%87-85	درجة النقاوة للصبغة
%20-15	المواد المتبايرة عند الدرجة 135°م
%0.5-0.2	المواد غير الذائبة في الماء
%0.4-0.2	مستخلصات الإيتير الذائبة
%6-1	الصبغة الثانوية

يحتاج تعين الصبغات الثانوية، وهي المركبات الصبغية التي تتشاكمركبات وسطية في إنشاء الاصطناع الكيميائي، إلى مهارات تقنية وخاصة في استعمال جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC، وجملها تعتمد على استخدام الطور العكوس لتقنية HPLC أو تقنية الزوج الأيوني (Ion-pair). وبهاتين التقنيتين تم تعين الأصبغة الوسطى في الأريثروزين، تارترازين، أمارات، أصفر غروب الشمس، الأخضر السريع، الأزرق البراق، أنديكوكارمن.

1-2- الطرق العامة لتمييز الملونات الصناعية في الأغذية:
تشمل الطرق العامة لمعرفة وتمييز أنواع الملونات الصناعية الموجودة

في الأغذية المراحل الآتية:

1- المعالجة الأولية للغذاء.

2- استخلاص و تنقية الملون من محلول المحضر من الغذاء.

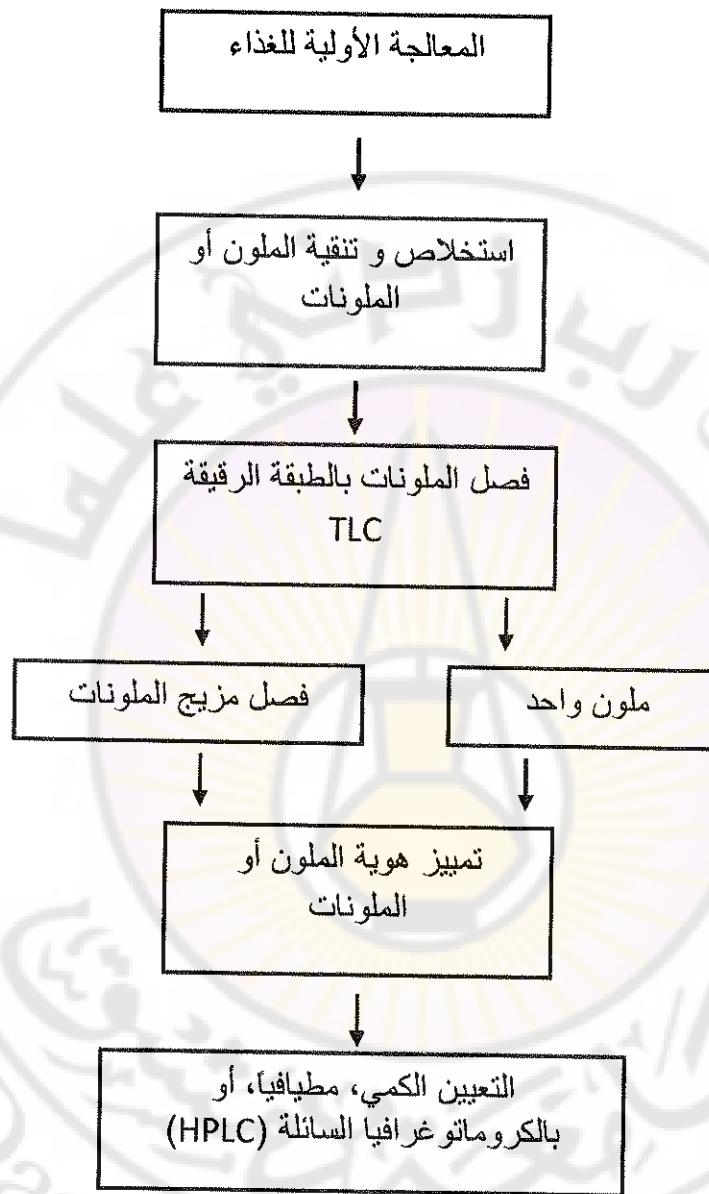
3- فصل مزيج الملونات إذا وجدت في الغذاء.

4- تمييز هوية الملونات المفصولة.

5- تعبيئها كمياً.

ويوضح الشكل (1-1) مخططاً لخطوات العمل عند تعبيين الملونات الصناعية في الأغذية.

هذا ولا بد من الإشارة إلى أن هناك العديد من الطرق المنشورة في المجالات العلمية لتعبيين الملونات في الأغذية. ومن أولها استعمال الكروماتوغرافيا الورقية ثم الطبقة الرقيقة TLC. وفي السنوات الأخيرة تطور استعمال HPLC، والمطياف الضوئي وقياس الفولتاج Voltametric، وأكثر حداثةً استعمال الرحلان الكهربائي المنطقي الشعري (Capillary Zone Electrophoresis).



الشكل (1-1) مخطط طريقة العمل لكشف وتعيين الملونات في الأغذية

١-٢-١ - المعالجة الأولية للماء واستخلاص الملونات:

يعتمد مبدأ استخلاص الملونات من الأغذية الحامضية على الامتزاز ثم على عكسه بوجود البولي أميد الذي يمتاز جميع الملونات الحامضية، ثم نزع الملونات الممتازة بالغليان في الماء بوجود محلول أمونيا مخفف. ويمكن استعمال الصوف الصافي والمغسول بالمذيبات العضوية بدلاً من البولي أميد، إلا أن هناك بعض المؤلفين يقولون أن الامتزاز على الصوف قد يجلب بعض التغيرات على الملون مما يؤثر على الاختبارات اللاحقة، التي تعتمد على الكروماتوغرافيا أو المطحافية.

وعلى غرار المبدأ السابق يمكن استخلاص الملونات القلوية، إن وجدت، بالصوف أيضاً، ولكن بوجود محلول الأمونيا، ثم تزال من الصوف بوجود حمض الخل الممدد.

المحاليل اللازمة:

- 1 - قطعة خيط صوف (20 سم) منقوعة ومغسولة جيداً بمذيب عضوي ومجففة.
- 2 - محلول أمونيا (1:99).
- 3 - محلول حمض خل ممدد (1:3).
- 4 - محلول HCl (2 M).

طريقة العمل:

(1) يجب أن يكون الغذاء حامضياً قبل الغلي مع خيط الصوف. ولأجل ذلك أذب 10 غ غذاء في 90 مل ماء وسخن، أو استعمل 10 مل من الغذاء السائل.

حدد pH محلول الغذاء وعلمه إلى $pH = 2.5$ بإضافة HCl (2 M).

2) ضع في ببisher خيط الصوف وأضف 35 مل من محلول الغذاء الحامضي، اغلِ لمدة بضع دقائق حتى يتلون خيط الصوف، خذ الخيط بملقط واغسله تحت ماء الصنبور وضعه في ببisher صغير يحوي ماء مقطر وسخن الببisher.

3) إذا استمر تلون خيط الصوف بلون الصبغة الغذائية فهذا دليل على احتواء المادة الغذائية على الملون الصناعي.

4) لنزع الملون من على خيط الصوف خذ الخيط وسخنه في محلول ماءات الأمونيوم الممدة. لاحظ انتقال الملون من خيط الصوف إلى محلول.

5) خذ خيط الصوف بعيداً وحمض قليلاً محلول الملون، ثم أضف خيطاً صوفياً جديداً، اغل المحتويات حتى يتمتر اللون بالخيط الجديد، استخلص الملون من الخيط كالسابق بالتسخين بوجود محلول الأمونيا الممدة، رشح و خذ ناتج الترشيح إلى حمام مائي لنركيزه.

6) جميع الملونات الاصطناعية المستعملة حالياً هي حامضية في طبيعتها وإذا وجدت صبغة قلوية فهذا دليل على استعمال ملون غير مسموح وهذا تأكيد من أن الملون هو صبغة صناعية.

تستخلص الملونات القلوية بجعل الغذاء قلوياً بالأمونيا وغليتها مع خيط الصوف، ونزع الملون من الخيط بالتسخين بوجود محلول حمض الخل.

ملاحظة: الطريقة التي وردت تعطى ملوناً صافياً مع بعض الاستثناءات وهي أن الملونات الطبيعية قد تقوم بالامتزاز على خيط الصوف في المرحلة الأولى لاستخلاص الملون، ولكن هذا اللون الطبيعي لا يزول من الخيط الصوفي عند معاملته بالأمونيا.

١-٢-٢- فصل وتمييز الملون أو الملونات:

استعملت في البداية الكروماتوغرافيا الورقية لفصل وتمييز الملونات، إلا أن استعمالها الآن توقف واستعيض عنها بالعمود الكروماتوغرافي أو الطبقة الرقيقة أو HPLC، إضافة إلى الطرق المطابقية.

استعملت كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة المكونة من السيليكاجل لتمييز وفصل الملونات وخاصة إذا كانت مزيجاً وذلك باستعمال مذيب مكون من بروبانول/أمونيا (٤:١). ويستعمل آخرون نظامين من المذيبات لفصل الملونات، الأول مكون من سيلفات ثلاثية الصوديوم (٢غ)/ماء (٨٥ مل) / أمونيا مركز (١٥ مل). والنظام الثاني مكون من بروبانول / حمض الخل / ماء (٦:١:٣) على أن تكون الألواح مطلية بالسيلوز.

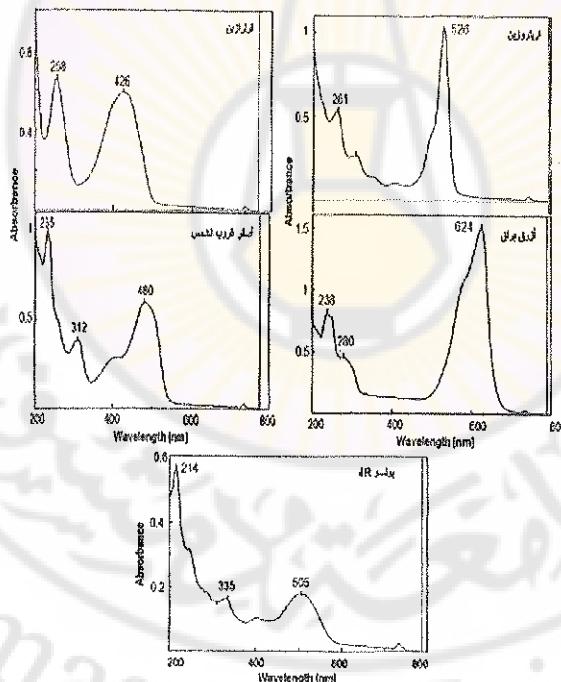
كما قام بحاثة بفصل الملونات الذّابة في الماء باستخدام الطبقة الرقيقة التي فرشت بطبقة من بولي أميد سماكتها ٢مم وبوضع الألواح في مزيج مكون من أمونيا، ميثانول، ماء (٥.١٥:٨٠)، وحصلوا على النتائج الآتية:

Rf	الملون
0.77	أمارانت
0.78	أزوريبين
0.21	أريثروزين
0.72	أصفر غروب الشمس
0.88	تارترازين
0.70	أنديكونين

1-2-2-1 - تمييز وتعيين الملون الصناعي الأحادي:

يمكن بالمطياف الضوئي تمييز وتعيين تركيز ملون أحادي موجود في الأغذية.

تمييز الملون بالمطياف: يؤخذ الملون المستخلص والمخفف، ويذاب جزء بسيط منه في وسط حمضي ممدد ($\text{HCl}-0.1\text{M}$) أو في وسط معندي (خلات الأمونيوم 0.02 M) أو وسط قلوي ممدد ($\text{NaOH}-0.1\text{M}$). للتأكد من هوية الملون يسجل طيف امتصاص الملون من الموجة 350 نانومتر حتى 800 نانومتر ويتم مقارنة طيفه مع طيف ملونات معروفة. يفضل تحضير حجم 100 مل من التحضيرات السابقة. ويبيّن الشكل (1-2) مسح طيفي لمحاليل بعض الملونات المرجعية ذات تركيز 10 ppm.



شكل (1-2) مسح طيفي لمحاليل بعض الملونات المرجعية

تعيين تركيز الملون بالمطیاف:

- تحضیر المنحني المعياري:

- أ- محلول المركز: خذ 100مغ من الملون المرجعي وأنبها في (0.1M-HCl) في دوّارق معياري 100مل، وأكمل إلى الحجم.
- ب- محلول العمل: خذ 0.25، 0.5، 0.75، 1.0، 1.5 مل من محلول المركز في أ- إلى دوّارق معيارية 100مل وأكمل إلى الحجم بمحلول (0.1 M-HCl).
- ت- خذ قراءات الامتصاص لكل محلول سابق في طول الموجة العظمى التي تقابل اللون المرجعي. ارسم العلاقة بين التركيز والامتصاصية.

ث- تعين تركيز الملون:

خذ محلول ملون العينة الخامضي الذي حضرته في الفقرة 1 الموجودة في الصفحة 18، وسجل امتصاصيته ثم احسب تركيز اللون فيه بمقارنته مع المنحني المعياري.

1-2-2-1- تمییز وتعین مزیج من الملونات:

تستخلص الملونات من الغذاء وفق ما ورد في 1-2-1، ثم تفصل عن بعضها باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة أو العمود الكروماتوغرافي، ويمكن بالتقنيتين السابقتين فصل وتمییز مزیج من الملونات، ويبقى التعین الكمي متاحاً باستخدام المطیافية.

١- التمييز والفصل بالألوان الطبقية الورقية:

تحضير الصفائح:

يؤخذ 50 مل من محلول النشا (600 مل نشا ذواب مبعثر في 100 مل ماء مقطر ومسخن حتى تهلم النشا) مع 50 مل محلول 1.25% Na₂-EDTA، ويضافان إلى 50 غ سيليكون دون أي مادة لاصقة.

تمزج وتخلط الروبة جيداً ثم تفرش على ألواح زجاجية (20×20، 10×10، 5×5 سم) حتى سماكة 0.5 - 3 ملم، تجفف الألواح هوائياً ثم بالفرن على الدرجة 120°C لمدة ساعتين.

تحضير العينة:

قبل البدء بتحضير العينة ندرس طبيعتها (سائلة، مكثفة، صلبة، مسحوق، غنية بالبروتين و الدسم، تحوي كحول...).

بشكل عام هناك خطوات واحدة تستخدم في جميع العينات بعد معاملتها كلاً حسب طبيعتها، يؤخذ حوالي 30 مل (غ) من العينة المراد اختبارها في كأس بيشر، توضع قطعة من الصوف النظيف باستخدام ملقط مغسول، دون مسك قطعة الصوف، في كأس البيشر وتحمض العينة باستخدام حمض الخل الثاجي، ثم تسخن بدرجة حرارة 30-40 مئوي تحت الساحبة، وذلك للسماح لقطعة الصوف بسحب اللون من العينة، ويجب عدم ترك قطعة الصوف مع العينة بحمض الخل الثاجي مدة طويلة، وتحوذ قطعة الصوف بعد سحبها اللون (امتزاز) وتغسل جيداً بالماء.

توضع قطعة الصوف المغسولة في كأس بيشر وتحمس بمزيج من المذيبات التالية، أسيتون: كحول إتيلي: أمونيا بحجم متساوية، وترك مدة 24 ساعة، ترفع قطعة الصوف بعد مرور الوقت المحدد بمسكها بملقط نظيف وت bxر محتويات كأس البيشر على حرارة 50 - 60 مئوية وبهدوء حتى لا تتكرمل العينة.

يمكن الاستعاضة عن الطريقة السابقة، وخاصة عند عدم توافر بعض موادها، بتحضير ألواح زجاجية مطلية بطبقة من سيليكا جل - G وفق الطريقة الآتية:

تحضير ألواح سلسكا جل - G: خذ 50 غ من المادة واخلطها مع ضعف وزنها بالماء وانشرها فوق ألواح زجاجية (20×20 سم)، بصورة تعطي طبقة سماكتها 250 ميكرومتر، سخن الألواح المطلية في الدرجة 160°C لمدة 1-2 ساعة، بردها، احفظها في مجف زجاجي.

وجد بالتجربة أن أفضل نظم المذيبات لفصل معظم الملوثات عن بعضها هي:

- ايزوبروبانول، أمونيا (كثافتها 0.88)، ماء (100:10:10)
- محلول مائي مشبع من نترات البوتاسيوم
- أسيتون أسيتات، ميثانول، أمونيا (كثافتها 0.88) (50:20:10)

ينصح في حال عدم وجود فصل واضح للملوثات، أي عندما تكون البقع متراكبة مع بعضها، وغير معزولة عن بعضها، وغير واضحة المعالم، وخاصة في عينات الغذاء التي أضيف إليها مزيج من الملوثات، إجراء فصل كروماتوغرافي ثان. ويتم هذا باستخلاص البقع من الألواح بالأسيتون (70%)

ثم التقيل أو الترشيح، والتركيز وإعادة إجراء الفصل مرة ثانية على ألواح جديدة.

تطبيق العينة على اللوح الزجاجي:

توضع نقطة على اللوح الزجاجي، وتفصل الملونات بوجود مذيب مكون من كحول أميلي: حمض خل مركز: ماء (40:20:40). بانتهاء فصل الملونات يؤخذ اللوح الزجاجي ويجف، تؤخذ بقع الملونات من على اللوح وتوضع كل بقعة وحدها في أنبوب زجاجي وتغسل الملونات باستعمال (0.1M-HCl). تؤخذ عينة شاهدة من مادة اللوح الزجاجي وتعامل كما بقع الملونات. يمدد محلول الملونات بنفس الحمض إلى 50-100 مل، ويتم تعين تركيزها باستعمال المطیاف كما ورد في السابق.

2- التمييز والتعيين بطريقة العمود الكروماتوغرافي:

المبدأ: تعتمد هذه الطريقة على استخلاص الملونات من الأغذية بالأسبتون وإثير البتروال للتخلص من الملونات الطبيعية الموجودة مع الملونات الصناعية، ثم إمرار مستخلص الأسبتون الصافي على عمود طويل يحوي Al_2O_3 ، وشطف الملونات بأمونيا ممدة. بعدها يبخر مستخلص الملونات إلى قرب الجفاف على حمام مائي، وتذاب الملونات الجافة بمحلول HCl ممدد. ويسجل الامتصاص لكل ملون حسب طول موجته العظمى الموجودة في الجدول (4-1).

طريقة العمل: خذ نحو 5 غ من الغذاء، ضعها في قمع فصل، أضف محلول أسبتون 70%， واستخلص الملونات من الغذاء. بعدها خذ محلول الأسبتون وأضف إليه إثير البتروال (40-60°م) واستخلص ما يرافق الملونات الصناعية من ملونات طبيعية مثل الكروتينات وغيرها، وكرر الاستخلاص بإثير البتروال

حتى يبقى عديم اللون. خذ محلول الملونات في الأسيتون وأمرره خلال عمود (2.1 × 45 سم) محشو بأكسيد الألومنيوم (Al_2O_3).

اشطف الملونات بإمرار محلول أمونيا (1%). اجمع الشطفات وجففها على حمام مائي، وأذب الراسب في محلول 0.1N-HCl، وانقلها إلى دورق معياري 100 مل أو أقل، واقرأ الامتصاص في طول الموجة العظمى الموجودة في الجدول (4-1). يتم تعين تركيز الصبغة من المقارنة مع المنحني المعياري أو استخدام ثابت الامتصاص.

جدول (4-1) وزن الملون اللازم لإذابة في لتر ماء، مع ثابت الامتصاص و طول الموجة العظمى بكل ملون.

ثابت الامتصاص (مغ/لتر/سم)	طول الموجة العظمى (ن م)	وزن الملون (مغ)	اسم الملون
0.054	484	225-200	أصفر غروب الشمس
0.053	428	250-175	تاريزين
0.052	502	225-175	أحمر أورا
0.11	527	100-75	أريثروزين
0.156	625	75-50	الأخضر السريع (FCF)
0.0478	610	225-175	أنديوكارمن
0.164	630	75-50	الأزرق اللامع

1-2-3- ملاحظات على استخلاص الملونات من الأغذية:

1- الطرق الواردة هنا مبنية على الملونات الصناعية الذوابة في الماء والحامضية، وهي غالبية الملونات المستعملة، الملونات الذوابة في الزيت قليلة الاستعمال جداً. هذه الملونات تصبح الصوف (تمترز) في الوسط الحمضي، وتفصل بالطبقة الرقيقة، ويتم التأكد منها مطيافياً.

- 2- بعض المواد التي توجد بكمية في الغذاء، مثل النشا، الدهون، تعيق فصل الملونات وعزلها، ولذلك يلجأ إلى استعمال كحول (70%) أو أسيتون (70%) لاستخلاص الملونات كما هي واردة ضمن الفقرة 2 من الصفحة 20.
- 3- يمكن إجراء اختبار أولي لمعرفة طبيعة الملون الموجود في غذاء العينة، هل هو مزيج من الملونات أم ملون واحد، وذلك بوضع بقعة على ورقة ترشيح وتجفيفها، ثم إضافة نقطة ماء، وملحوظة إن كان الملون ينفصل إلى لوبيتين أو أكثر، مثل اللون الأزرق، الأصفر، الأحمر...
- 4- جميع الملونات الذواقة في الماء والمسموح بإضافتها إلى الغذاء حمضية، أما الملونات ذات الطبيعة القلوية، التي قد توجد في الغذاء، فتفصل عن الأغذية في وسط قلوي من الأمونيا الممدة.
- 5- بعض الملونات وخاصة القلوية منها لها صفة الفلورة ولذلك يعد فحص البقع الكروماتوغرافية تحت الضوء فوق البنفسجي اختباراً تأكيدياً جيداً.
- 6- الملونات الذواقة في الزيت تفصل باستخدام كروماتوغرافية الطور العكوس.
- 7- يمكن استخدام السيلولوز MN300 كطبقة لطلي لواح الطبقة الرقيقة (TLC)، وعندها ينصح بفصل البقع بالمذيب بروپانول نظامي، حمض الخل، ماء بنسبة 3:1:6.

٣-١ تمييز مستحضرات الملونات الصناعية والتعرف على خصائصها وفق دستور كيماويات الأغذية:

تستخدم هذه الطرق في دستور كيماويات الأغذية، ويمكن بها التعرف على اسم الملون الصناعي، وتصلح إذا كان الملون مفرداً، أي وحده، فإذا وجد مزيج من الملونات الصناعية لإعطاء الغذاء لوناً معيناً فلابد من استعمال طريقة الألواح الرقيقة (TLC) أو طريقة العمود الكروماتوغرافي المحسو بأكسيد الألومنيوم النشيط لفصل مزيج الملونات والتعرف عليها وفق ما سبق.

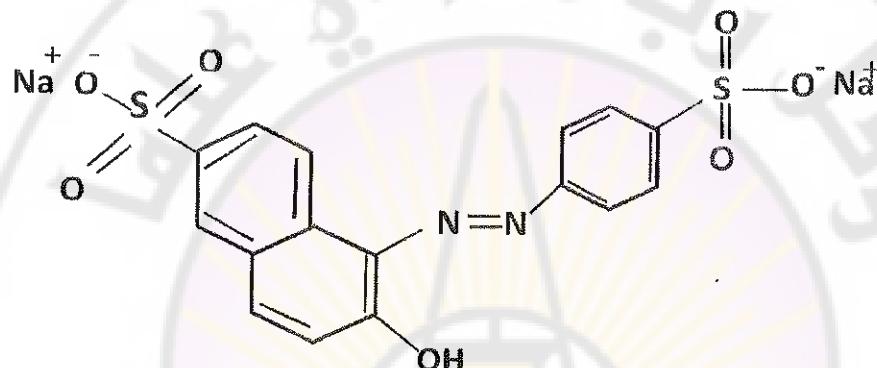
و ضمن هذه الدراسة نعرض الموصفات الأساسية لبعض الملونات الصناعية الرئيسية الواسعة الاستعمال التي يمكن أن تساعد على تمييز الملون المجهول وذلك بقياس طيفه في أطوال أمواج معينة و ضمن رقم حموضة (p^H) محدد أيضاً.

نعود دائماً إلى الجدول (٤-٤) لتقدير قوة اللون الكلي وحساب نسبة الملون المئوية الوزنية في مستحضر تجاري منه، وخاصة وزن الملون اللازم وطول الموجة العظمى لقياس امتصاص الملون الصناعي.

وفيما يلي تفاصيل لكيفية تمييز وتعيين مستحضرات بعض الملونات الصناعية شديدة الاستعمال، ونبداً بأصفر غروب الشمس، فالأزرق البراق، أنديجوتين، أحمر الوراء، ترترازين، أريثروزين، الأخضر السريع،

أصفر غروب الشمس :Sunset Yellow FCF

يسمى أيضاً الأصفر رقم 6، رقمه في الدليل اللوني 15985، ويعرف بالرقم 110 في نظام الترقيم الدولي INS، وزنه المولى 452.36، وله صيغة مجملة $C_{16}H_{10}N_2O_7S_2Na_2$. شكل (3-1).



شكل (3-1)

وصفه: مسحوق برتقالي، يذوب في الماء، ويعطي محلولاً برتقالي - أصفر في الوسط المعتدل والوسط الحمضي، ومحولاً بني - أحمر في الوسط القلوي. وعند إذابته في حمض الكبريت المركز يعطي محلولاً برتقالي اللون يتحول إلى الأصفر عند تتميده بالماء، وضئيل الذوبان في الإيثanol 95%.

تمييزه: يقاس طيف امتصاصه الضوئي الذي يتميز بأطوال أمواج عظمى وبامتصاصية محددة كما في الجدول التالي. ويحضر لهذه الغالية محلول مائي تركيزه (18,5 ملغم/لتر).

الامتصاصية	طول الموجة العظمى (نانومتر)	رقم الحموضة
1.1	480	1
0.146	443	13
يلاحظ وجود عتبة حول الموجة 500		13

تقدر قوة اللون الكلي باستعمال طريقة القياس الطيفي أو المعايرة بكلوريد التيتانيوم. يعبر عن النتيجة كمتوسط مكررين، ويحسب كنسبة مئوية وزنية ويجب أن لا تقل عن 85%.

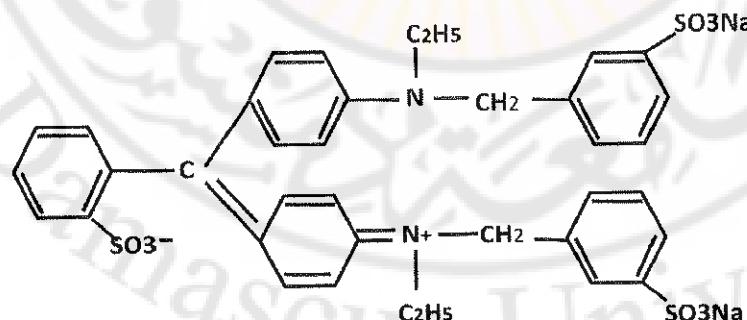
إعداد العينة لطريقة قياس الطيف:

يوزن بدقة (200-225 ملخ) وتوضع في دورق معياري سعة ليتر، وتداب في الماء ثم يكمل الحجم بالماء.

يبلغ مقدار الجزء الممتص من هذا الملون (0.054 ملخ) في الليتر في سم في الموجة 484 نانومتر.

الأزرق البراق ,Brilliant blue ,FCF :

ويشار إليه أيضاً باسم الأزرق رقم 1، رقمه في الدليل اللوني 42090، ويعرف بالرقم 133 في نظام الترقيم الدولي (INS) شكل (4-1)



شكل (4-1)

تمييزه: يميز هذا الملون بقياس امتصاص محلوله المائي (10 ملغم/لتر) وفق الجدول الآتي:

الامتصاصية	طول الموجة العظمى (نانومتر)	رقم الحموضة
1.11	630	7
0.95	629	1
0.2	410	1
1.29	630	13
0.15	408	13

تحضير العينة لقياس اللون الكلي:

يقدر اللون الكلي لهذا الملون باستعمال طريقة القياس الطيفي والمعايير بكلوريد التيتانيوم ويعبر عن النتيجة كمتوسط مكررين.

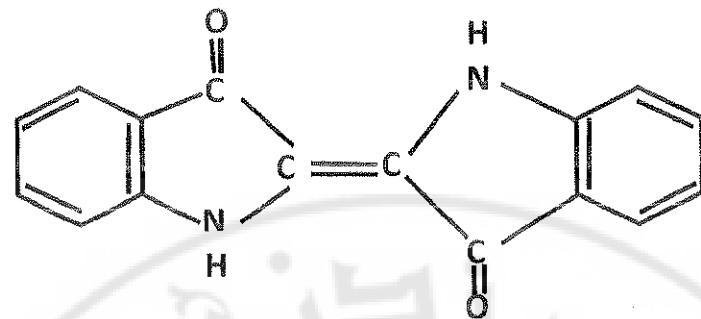
إعداد العينة لطريقة قياس الطيف:

زن بدقة (50-75ملغم) من الملون وضعه في دورق معياري سعة لتر، أذب الملون في الماء وأكمل إلى الحجم.

يبلغ مقدار الجزء الممتص من الأزرق رقم 1 (a) 0.164 ملغم في الليتر/سم في الموجة 630 نانومتر.

:Indigotin أنديجوتين

يعرف باسم الأزرق رقم 2، رقمه في الدليل اللوني 73015، ورقمه في نظام الترقيم الدولي 132. شكل (5-1)



شكل (5-1)

تمييزه: يميز هذا الملون بقياس امتصاص محلول المائي (20 ملغرام/لتر) وفق الجدول:

رقم الحموضة	طول الموجة العظمى (نانومتر)	الامتصاصية
7	610	0.82
1	610	0.81
13	610	0.2
13	442	0.31

تحضير العينة لقياس اللون الكلي:

يقدر اللون مكررين وتحسب على أساس النسبة المئوية الوزنية للمادة الملونة

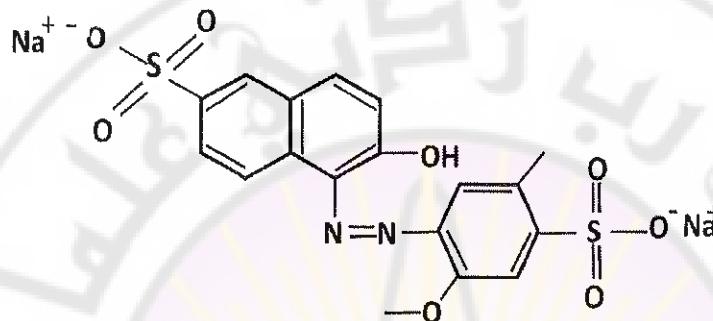
إعداد العينة لطريقة قياس اللون:

يوزن بدقة (175-225ملغ) من الملون ويوضع في دورق معياري سعته ليتر ويمدد بالماء إلى الحجم.

يبلغ مقدار الجزء الممتص للون من هذا الملون (0.0478) في الليتر / في سم في الموجة 610 نانومتر.

أحمر ألورا Allora Red

يعرف باسم الأحمر رقم 40، رقمه في الدليل اللوني 16035، ويشار إليه في نظام الترقيم الدولي بالرقم 129، صيغته المجملة $C_{18}H_{14}N_2S_2Na_2$ وزنه المولى 496.42. شكل (6-1)



شكل (6-1)

وصفه: مسحوق أحمر، يذوب في الماء ويعطي لوناً أحمر في الوسط المعتمد والوسط الحمضي، ولوناً داكناً في الوسط القلوي، ويدبّب قليلاً في الكحول الأميلي 95%.

تمييزه: يتميز بقياس الامتصاص الضوئي لمحلوله المائي (16.4 ملخ/لتر) وفق الجدول:

الامتصاصية	رقم الحموضة	طول الموجة العظمى (نانومتر)
0.87	500	7
0.83	490	1
0.37	500	13
0.41	450	13

ويلاحظ وجود عتبة حول الموجة 410 نانومتر في الوسطين المعتمد والحمضي.

تحضير العينة لقياس اللون الكلي:

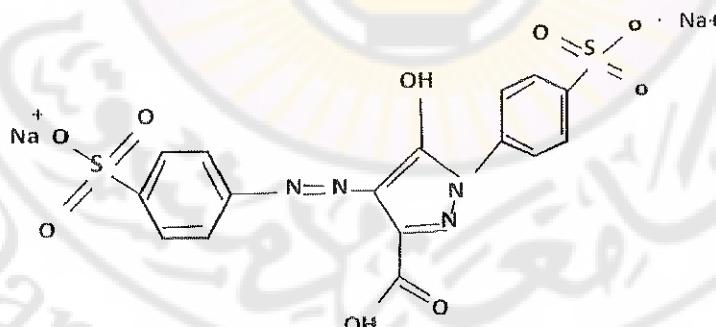
تقدر قوة اللون الكلي وفق طريقة القياس الطيفي وطريقة المعايرة بكلوريد التيتانيوم. ويعبر عن النتيجة كمتوسط لمكررين، ويجب أن لا يقل اللون الكلي عن 85%.

إعداد العينة لطريقة قياس الطيف:

يوزن بدقة (175-225 ملغم)، وتوضع في دورق معياري سعته ليتر، وتذاب بالماء ثم يكمل بالماء إلى الحجم. يبلغ مقدار الجزء الممتص من هذا الملون (0.052 ملغم) في الليتر/سم في الموجة (502) نانومتر.

ترترازين Tertrazine :

يعرف أيضاً باسم الأصفر رقم 5، ورقمه في الدليل اللوني 19140، ورقمه في نظام الترقيم الدولي 102، وزنه المولى 534,36، له صيغة مجملة $C_{16}H_9N_4O_9S_2Na_3$. شكل (7-1)



شكل (7-1)

وصفه: مسحوق برتقالي - أصفر، يذوب في الماء ويعطي محلولاً لونه أصفر ذهبي في الوسط المعتدل والوسط الحمضي، وعند إذابته في حمض الكبريت المركز يعطي محلولاً لونه أصفر برتقالي، يتتحول إلى الأخضر عند تمديده بالماء.

تمييزه: يعتمد تمييز هذا الملون على قياس امتصاص محلوله المائي (19,9 ملغم/الليتر) وفق الجدول:

الامتصاصية	رقم الحموضة	طول الموجة العظمى (نانومتر)
1.4	425	7
1.1	426	1
يتناقص امتصاصه الأعظمي للضوء بعد الموجة 400 نانومتر .		13

تحضير العينة لقياس اللون الكلي:

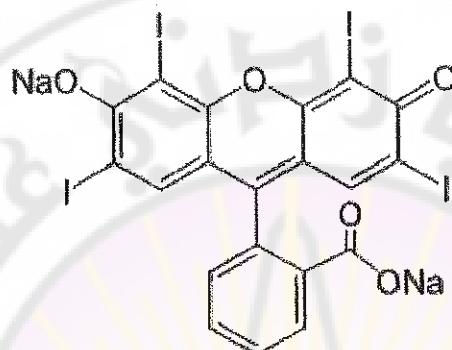
تقدر قوة اللون الكلي باستعمال طريقة قياس الطيف وطريقة المعايرة بكلوريد التيتانيوم، ويعبر عن النتيجة كمتوسط مكررين وتحسب على أساس النسبة المئوية الوزنية، يجب أن لا يقل اللون الكلي عن 87%.

إعداد العينة لطريقة قياس الطيف:

يوزن بدقة (175-225ملغم) ملون وتوضع في دورق معياري سعته ليتر وتذاب بالماء، ثم يكمل بالماء إلى الحجم.
يبلغ مقدار الجزء الممتص للون لهذا الملون (0.053ملغم) في الليتر/سم في الموجة 428 نانومتر.

الأريثروزين Erythrozine

يسمى أيضاً بالأحمر رقم 3، رقمه في الدليل اللوني 45340، ورقمه في النظام الرقمي الدولي 127، صيغته المجملة $C_20H_6O_5I_4Na_2$ ، وزنه المولى 879.86. شكل (8-1)



شكل (8-1)

وصفه: مسحوق بني، ينحل في الماء، ويعطي لوناً أحمر في الوسط المعن德尔، وتترسبات بنية - صفراء مع الحمض، وتترسبات حمراء مع القلوي، وعندما يذاب في حمض الكبريت المركب يعطي محلولاً أصفر - بني ناتج من تحرر اليود، وعند تسخينه يتربّض حمض حر.

تمييزه: يميز بقياس الامتصاص الضوئي لمحلوله المائي (2.8 ملغ / لیتر) وفق الجدول:

رقم الحموضة	طول الموجة العظمى (نانومتر)	الامتصاصية
0.32	527	7
0.132	527	13

ويلاحظ وجود عنبة بالموجة 490، ويتشكل راسب في محلول الحمضي لونه بني - أصفر.

تحضير العينة لقياس اللون الكلي:

تقدر قوة اللون الكلي لهذا الملون باستعمال طريقة قياس الطيف والطريقة الوزنية، ويعبر عن النتيجة كمتوسط مكررين، ويجب أن لا يقل اللون الكلي عن 96%.

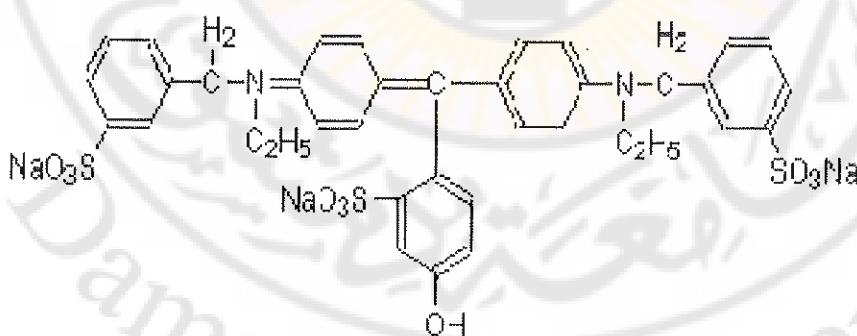
إعداد العينة لطريقة قياس الطيف:

يوزن بدقة (75-100ملغ) وتوضع في دورق معياري سعته ليتر، وتنذاب بالماء ثم يكمل إلى الحجم.

يبلغ مقدار الجزء الممتص للون لهذا الملون (0.110) في الليتر في سم في الموجة 527 نانومتر.

الأخضر السريع :Fast green , FCF

يعرف باسم الأخضر رقم 3، رقمه في الدليل اللوني 42053، وفي النظام الرقمي الدولي 143، صيغته المجملة $C_{37}H_{34}N_2O_{10}S_3Na$ ، وزنه المولى 808.84. شكل (9-1)



شكل (9-1)

تمييزه: يميز هذا الملون من غيره من الملونات بقياس الامتصاص الضوئي لمحلوله المائي (5 ملغر/ليتر) وفق الجدول:

الامتصاص الضوئي	طول الموجة العظمى (نانومتر)	رقم الحموضة
0.8	624	7
0.08	423	7
0.83	625	1
0.09	423	1
0.74	610	13

٤-٤- مزج الملونات الأولية للحصول على ألوان متعددة:

تعطي الملونات الصناعية المسموح استعمالها في الغذاء، وبالذات في المواصفة السورية، ألواناً أساسية هي الأحمر والأخضر والأسود والأصفر والأزرق، لكن هذه الألوان السابقة تبتعد عن الألوان الطبيعية التي تعطيها الخضار والثمار والأغذية الأخرى. يضاف إلى ذلك أن في الأغذية تنوع لوني يصعب في الواقع حصره من الألوان الأساسية للملونات الصناعية المواقف على استعمالها في الغذاء. ومن هنا كان من الضروري مزج الملونات الصناعية مع بعضها، وفق نسب محددة، لإعطاء خليط لوني مرغوب. ومن الأمثلة على تنوع ألوان الأغذية اللون الأخضر الزيتوني، ولون أحمر البندوره، ولون التوت الشامي وغير ذلك. في الواقع لا نجد أن أيّاً من الملونات الصناعية يعطي وهذه اللون الأخضر الزيتوني، فلا يعطيه الملون الأخضر الثابت (E143) وهو الملون الوحيد الأخضر المواقف عليه في المواصفة السورية الخاصة بملونات

الغذاء (2007/770) وفق آخر تعديل لها. و لذلك لا بد من تكوين مزيج من الملونات لإعطاء اللون الأخضر الزيتوني.

تسمح المواصفة السورية باستعمال الملونات الصناعية الآتية:

الأصفر-برتقالي

-ترترازين E102

-أصفر غروب الشمس E110

الأحمر

-أريثروزين E127

-أزوربيين (كارموسین) E122

-بونسو 4 آر E124

-أحمر أورا E129

الأزرق

-أنديجوتين E132

-أزرق براق E133

الأخضر

-أخضر ثابت E134 FCF

الأبيض

-ثنائي أكسيد التيتانيوم E171

الأسود

-الأسود البراق E151 PN

تهدف هذه التجربة إلى تحضير ألوان لـأغذية اعتماداً على الملونات الصناعية الأساسية المسموح استعمالها في المواصفة السورية، لكن قبل تحضير لون الغذاء المطلوب، على الطالب التمرن للحصول على الألوان المركبة التي يعطيها الجدول (5-1).

الجدول (١-٥) نسب الملوّنات الأساسية للحصول على الألوان المشتقة

الملوّنات الأولية		اللون الناتج	
أصفر شروب الشمس	E110	أصفر شروب الشمس	E102
بيونسو ٤ آر	E124	أريشوزين	E127
ترترائين	-	أمارانت	E123
الأزرق اللمع	-	أديوكارمن	E133
الأسود	-	الأسود	E132
أزرق غامق	-	أزرق غامق	-
بني	-	-	-
كرييلا	-	-	-
شووكولا	-	-	-
أخضر - وسط	-	-	-
أخضر نفيعي	-	-	-
أخضر ليموني	-	-	-
برتقالي - وسط	-	-	-
شامق	-	-	-
ميرنالي غروب الشمس	-	-	-

	—	—	—	—	—	غبني
—	—	—	—	—	—	مزرق
—	—	—	—	85	15	—
30	—	—	—	90	10	محمر
—	—	—	—	58	12	حمراء عديبي
—	—	—	—	—	—	أحمر
—	—	—	—	—	—	كرزي
14	—	40	—	—	60	—
5	—	3	—	—	83	قرمزى فريلز
14	—	—	—	95	—	أصفر
—	85	—	—	1	—	صغار البيض
—	100	—	—	—	—	ليمونى

المحاليل والأدوات الازمة:

1- تحضير المحاليل المائية للملونات:

زن 100مغ من كل ملون باستعمال ميزان تحليل حساس، وأذب كل ملون في كمية 500مل ماء موضوعة في دورق مخروطي سعته 500مل، وهذه المحاليل المحضررة من الملونات هي التي تستعمل لإعداد خلائط الملونات.

2- الأدوات الزجاجية الازمة:

أسطوانات زجاجية سعة 100مل، العدد 6.

دوراق مخروطية سعة 250مل، العدد 12.

ماسنات سعة 10مل مدرجة، العدد 8.

أوراق ترشيح.

طريقة العمل:

يعلم كل طالبين مع بعضهما في إعداد خلائط الملونات. ويقوم الطلاب أولاً بتحضير الألوان الموجودة في الجدول (1-5)، والتعرف على ناتج مزج الملونات ومناقشة ذلك مع الأستاذ المشرف لتكوين فكرة عن كيفية تداخل الألوان الأساسية لإعطاء اللون المرغوب.

يقوم الطالب بتحضير الألوان الآتية استناداً إلى ما اكتسبه من معرفة وتمرین في مزج الملونات وفق الجدول المعطى سابقاً.

والألوان المطلوب تحضيرها هي: الأخضر الزيتوني، أحمر البندوره،

التوت الشامي، الأسود الزيتوني، الكرز، الفريز.

والمطلوب هو الحصول على أقرب لون من الألوان الطبيعية السابقة، وتسجيل النسب من الملونات الأساسية التي تم بها الحصول على اللون القريب من اللون الطبيعي، وإبداء الرأي في مدى قرب اللون من النقاط التالية: ذوبان

الملون، اعتمام اللون، ثبات اللون للحرارة وأشعة الشمس وللأحياء الدقيقة ولعوامل الأكسدة والحموض والقلويات.

ويجدر بالطالب قبل خلط الألوان الأساسية فهم الملاحظات الآتية:

- إن الحصول على اللون الأسود ليس سهلاً، لذا يجب الحذر الشديد عند مزج الألوان للحصول على اللون الأسود.

- إن مزج اللون الأزرق مع اللون الأصفر يعطي مجالاً من اللون الأخضر.

- إن مزج اللون الأصفر مع اللون الأحمر يعطي مجالاً من اللون البرتقالي.

ويمكن الحصول على تلون برتقالي بمزج أصفر غروب الشمس وترترازين مع بونسو 4 آر.

- إن مزج اللون الأزرق مع اللون الأحمر يعطي تلونًا بنفسجيًا ذا مدى لوني واسع.

- إن خلط الأمارنت مع الأريثروزين مع بونسو 4 آر، مع إضافة تعديل بسيط مع ترترازين وأصفر غروب الشمس وأنديكوكارمن يعطي أي تلون من الأحمر.

- يعطي مزج الأمارانت وبونسو 4 آر وأصفر غروب الشمس وترترازين تغيرات متعددة من اللون الأصفر الذي يستعمل بكثرة.

5-5- تعين اللون الكلي لملونات الغذاء الصناعية Total Color

:assay

المبدأ: ملونات الأغذية التي تباع في الأسواق هي في معظمها ملونات مصنعة كيميائية، أي بطرق التخليق الكيميائي العضوي، ونادرًا ما نجد ملونات أغذية طبيعية أو حتى مماثلة للطبيعي مثل بيتا كاروتين وهي لذلك تعرض بتراكيز

مختلفة، أي مخففة بمواد أخرى غير الملون الأصلي وذلك بإضافة مسحوق ناعم جداً من ملح الطعام أو الديكسترين، أو غير ذلك من مواد التخفيف.

جاء في كتاب دستور كيماويات الأغذية ثلاثة طرق معتمدة لتعيين اللون

الكلي في الملونات الصناعية المستخدمة في الغذاء.

الطريقة المطيافية:

تعتمد على استخدام المطياف اللوني لقياس شدة امتصاص محلول الملون في محلول خلات الأمونيوم في موجة معينة خاصة بكل ملون.

طريقة المعايرة بكلوريد التيتانيوم ($TiCl_3$):

تحتاج هذه الطريقة إلى جهاز معايرة خاص معقد، كما تحتاج إلى مصدر لغاز الهيدروجين وإلى مصدر لغاز خامل من CO_2 أو N_2 لتأمين جو خامل خالي من الأكسجين.

طريقة الترسيب:

تعتمد على غلي محلول مخفف من الملون مع محلول حمض كلور الماء، ثم ترسيب الملون النقي وغسله ووزنه. يستعمل في الحساب عامل ترسيب خاص بكل ملون.

يستعمل هنا الطريقة المطيافية لسهولتها وتوفر تجهيزاتها.

الطريقة المطيافية في تعيين اللون الكلي لملون غذائي:

تتضمن هذه الطريقة ثلاثة مراحل، الأولى تحضير الملون للفياس بالمطياف، والثانية إجراءات قياس اللون، والثالثة طريقة العمل عند وجود ملون معياري.

أولاً- تحضير الملون لقياس الطيفي:

اتبع ما هو موجود في الجدول (4-1)، الموجود في الفقرة 2 من تمييز وتعيين مزيج من الملونات، سواء أكان ذلك في العمود الخاص بوزن الملون المطلوب، أو استعمال طول الموجة العظمى، أو إدخال ثابت الامتصاص في الحساب.

تحضير الملون:

خذ بدقة وزناً معيناً من ضمن المجال الوزني المذكور لكل ملون في الجدول (4-1)، أذبه في ليتر ماء مقطر، امزج جيداً حتى يختلط اللون، خذ 10مل واتبع الفقرة ثانياً.

ثانياً- قياس امتصاص اللون:

خذ 10مل من محلول الملون المحضر في الفقرة أولاً، وضعه في دورق مخروطي 250مل يحوي 90مل محلول 0.04 عياري خلات الأمونيوم، امزج جيداً.

اقرأ الامتصاص الصافي للمحلول السابق في طول الموجة العظمى المعطى لكل ملون في الجدول (4-1)، مستعملاً الماء المقطر كشاهد. خذ القياس بخلية زجاجية عرضها 1سم.

احسب النسبة المئوية للملون في المسحوق المعطى لك باستعمال المعادلة:

$$\text{اللون الكلي (\%)} = \frac{A}{W \times a} \times 100 \times \text{عامل التخفيض}$$

= امتصاص محلول الملون في طول موجته العظمى.

= امتصاص الملون الصافي، وهو ثابت لكل ملون، ويعطى في الجدول (4-1).

= وزن العينة (مغ).

ثالثاً- قياس نقاوة الملونات التجارية : Purity of Colorants

توجد موصفة أوربية رقمها 95/45/EC تنص على قياس النقاوة في الملونات التجارية المتاحة في الأسواق. وتتلخص هذه الطريقة بأخذ وزن 10 مغ من المادة الملونة ثم إذابتها في ليتر من الماء وبعد ذلك قياس الامتصاصية بالمطياف الضوئي وفق طول الموجة العظمى لكل ملون لوحده والواردة في الجدول (4-1) كما تتضمن المعلومات المعادلة التالية لحساب نقاوة الملون:

$$\% \text{ النقاوة} = \frac{DF \times A}{A^{1\%}_{1\text{Cm}} \times C} \times 10^5$$

DF: عامل التمدد للمحلول المقاس والمحضر عادةً من محلول أساسي أكثر تركيزاً.

A: امتصاصية محلول المقاس على أن تكون A أقل من 1 مع استعمال الماء كشاهد.

$A^{1\%}_{1\text{Cm}}$: الامتصاصية النوعية لمحلول مائي تركيزه 1% (10 ملخ/ليتر) للمادة الملونة على أن يستعمل مسار ضوئي 1 سم. ويتم القياس في الدرجة $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ$.

C: تركيز محلول الأساسي معبراً عنه مغ من الملون النقي في 100 مل ماء (مغ/100 مل).

رابعاً- في وجود ملون معياري :

عند توافر ملون معياري مرجعي معروف التركيز ونسبة المادة الملونة فيه واضحة يتم مقارنة امتصاص العينة المختبرة مع الملون المرجعي، وضمن الشروط القياسية نفسها، ثم تحسب النسبة المئوية للون الكلي فيها بالتناسب الطردي.

طريقة العمل:

(1) أذب كمية معينة بدقة من ضمن المجال الوزني العائد لكل ملون، والموجود في الجدول (4-1)، في ليتر ماء مقطر وامزج جيداً.

(2) خذ 10 مل من محلول الملون وأضفه إلى 90 مل خلات الأمونيوم (0.04 معياري).

(3) حضر بنفس الخطوات السابقة محلولاً من الملون المعياري المرجعي.

(4) اقرأ بالمطياف وفي طول الموجة العظمى (من الجدول (4-1)) الامتصاص اللوني لمحلول العينة A1 وللمحلول المعياري المرجعي A2.

الحساب: نحسب النسبة المئوية للمادة الملونة في العينة المفحوصة من المعادلة:

$$\text{اللون الكلي في العينة} (\%) = \frac{A_1}{A_2} \times \text{اللون الكلي في العينة المرجعية} (\%).$$

الأدوات اللازمة:

دوارق مخروطية 250 مل، ماصات 10 مل، دوارق معيارية سعة ليتر، ميزان تحليل حساس، مطياف ضوئي.

الكيماويات اللازمة:

- مسحوق ملونات غذائية بتراكيز مختلفة.

- محلول خلات الأمونيوم (0.04 معياري). حضر ليتراً واحداً من هذا محلول بإذابة 3.08 غ خلات أمونيوم لا مائية في ليتر ماء مقطر.

١-٦- كشف وتحري وجود الملونات الصناعية في منتجات الفاكهة والخضروات:

يعتبر إضافة مادة ملونة صناعية أو طبيعية غشاً إذا لم تسمح الموصفات الخاصة بإضافتها إلى المنتج الغذائي. وكذلك يعتبر غشاً إذا سمحت الموصفات بإضافتها ولم تذكر على بطاقة البيان الخاصة بالمنتج. يصعب في الواقع تحري وجود مواد ملونة مضافة طبيعية كالكاروتينات، والكلوروفيل، والليكوبين وخاصة في المنتجات الغذائية التي تضم هذه الملونات بصورة طبيعية. ولكن يمكن تحري وجود الملونات الاصطناعية الذوابة في الماء بالطريقة الواردة هنا والتي تعرف ضمن الطرق السريعة المستعملة في ضمان الجودة.

طريقة كشف سريعة تعطي فكرة عن وجود ملون صنعي في عينة من عدم وجوده:

طريقة العمل:

- ١- خف بالماء (20-40غ) عينة غذاء بمعدل ٣-١ حجمها من الماء، مع إضافة ٣-٤ نقاط حمض كلور الماء، امزج جيداً، وضع قطعة صغيرة من الصوف الأبيض طولها ٣٠ سم. سخن حتى الغليان ثم برد.
- ٢- اغسل قطعة الصوف المصبوغة تحت الماء واعصرها واقطعها إلى قطع متساوية.
- ٣- ضع كل قطعة في طبق بورسان وأضيف إلى القطعة الأولى كمية قليلة من HCl المركز وإلى الثانية H_2SO_4 المركز، وإلى القطعة الثالثة NaOH ١٠ %، وإلى القطعة الرابعة NH₄OH المركز.

4- قارن اللون المتتطور في كل قطعة مع عينة من صبغة معروفة كثافتها الضوئية مماثلة للعينة واستعن بالجدول الآتي في استنتاج نتيجة هذا الاختبار.

نضع عينة معيارية كشاهد للعينات ونلاحظ التطور باللون ثم نعود إلى الجدول (1-6) والعينة الشاهد لحكم إذا ما تم إضافة لون أو لا.

جدول (1-6) نتائج تفاعل الملونات الموجودة على الصوف بتأثير الكواشف المختلفة

ماءات الأمونيوم	10 % ماءات الصوديوم	حمض الكبريت المركز	حمض كلور الماء المركز	المادة الملونة
تغير قليل	بني معتم إلى بني برتقالي محمر	بنفسجي إلى بني	دكانة خفيفة	أمارانت
لا يوجد تغير	لا يوجد تغير	برتقالي-أصفر	برتقالي-أصفر	اريثروزين
برتقالي-أصفر	برتقالي-أصفر	أحمر داكن	أحمر داكن	بونسو - SX
تغير قليل	برتقالي داكن	تغير قليل	تغير قليل	بونسو - 3R
تغير ضئيل	تغير قليل	دكانة قليلة	دكانة قليلة	ترترازين
زوال اللون	بني مصفر	بني مصفر	برتقالي-أصفر فاتح	الأخضر اللمع
لا يوجد تغير	لا يوجد تغير	أصفر	أصفر	SF المصفر
لا تغير	لا تغير	بني معتم شديد الشحوب	يزول اللون تقريباً	الأزرق اللمع
				نافثول الأصفر

١-٧- كشف وتمييز وتعيين الملونات في مستخلص قشرة العنب:

التعريف:

مستخلص قشرة العنب مادة ملونة جاهزة للاستعمال كمادة مضافة ومتاحة تجاريًا، وتأخذ وضعاً قانونياً كمادة مسموح استعمالها في أي غذاء فيه وظيفة تقنية تحتاج هذا الملون، أي تعد مادة Gras. وهي بالطبع ملون غذائي طبيعي، توجد على هيئة مسحوق وردي، أو سائل مركز. تحضر مما يتبقى من العنب بعد عصره، حيث يستخلص هذا الملون بالماء ويركز تحت التفريغ، ويزال السكر منه بالاختمار يليه إزالة الكحول بالتقطر، يتأثر هذا المستخلص بما يوجد في الماء من ثانوي أكسيد الكبريت.

التركيب:

يوجد في مستخلص قشرة العنب ألوان أولية من الأثنوسينيات على هيئة غليكوزيدات لمكونات مثل مالفيديين، بونيديين، بتونيديين، دلفينيديين، سيانيديين، كما يوجد فيه مركبات طبيعية أخرى كالسكرات والطرطرات والمالات والتانينات والأملاح المعدنية، وقد يضاف إلى المكونات الأخرى إذا كان المستخلص سائلاً كحول وثنائي أكسيد الكبريت وقد يحوي المسحوق منها مادة حاملة مثل مالتوديكسترين أو نشاء معدل أو أحد الأصباغ.

يعطي مستخلص قشرة العنب في الوسط الحمضي ثلثاناً أحمر، ولوناً بنفسجياً إلى الأزرق في الوسط المعتدل إلى القلوي.

الكشف والتمييز:

يعتمد كشف وتمييز هذا الملون الطبيعي على فكرة أن اللون الأحمر الذي تعطيه مركبات الأثنوسينات في الوسط الحمضي يزول عند إضافة مركب يعطي SO_2 في الوسط الحمضي.

الطريقة:

خذ 1 غ من العينة وضعها في دورق معياري حجمي 100 مل وأنبئها بإضافة نحو 50 مل محلول واقي من حمض الليمون - السيترات ذو $\text{pH} = 3$ ثم مدد إلى الحجم بالمحلول الواقي نفسه، أضف 1 غ مينا باي سلفيت البوتاسيوم، انتظر قليلاً، ولاحظ زوال اللون الأحمر للأثنوسينات، وهي صفة مميزة لهذا المستخلص.

تعيين القوة اللونية لمحلول العينة :Color assay

المبدأ: يستخلص اللون الأحمر العائد للأثنوسينات بمحلول واقي من السيترات في $\text{pH} = 3$. وتناس شدة الامتصاص في الموجة 525 نانومتر في خلايا 1 سم، ويحصل على القوة اللونية للمحلول بقسمة الامتصاص على وزن العينة بالغرام. طريقة العمل: ضع 0.2 غ مستخلص قشرة العنبر أو مسحوقه في دورق معياري حجمي 100 مل. أذب اللون بإضافة 25 مل محلول واقي من السيترات - حمض سيفيريك ذو $\text{pH} = 3$ ، مدد إلى الحجم بنفس المحلول.

يحضر هذا المحلول الواقي بإضافة محلول سيترات الصوديوم (0.1 مolar) إلى محلول حمض سيفيريك (0.1 مolar) للحصول على محلول له

pH=3. يفضل تحضير هذا المحلول الواقي باستعمال جهاز قياس رقم الحموضة (pH meter).

دع المحلول المقاس في الظلام لمدة نصف ساعة، ثم أبعد أي مواد غير ذوابة بالترشيح أو بکليهما، والمهم أن تحصل على محلول رائق شفاف (غير عكر)، عدل pH إلى 3 إذا لزم، اقرأ امتصاص المحلول الرائق في الموجة 525 نانومتر في خلايا عرضها 1 سم.

يعبر عن قوة اللون على أساس امتصاص محلول 1% في خلايا 1 سم.
القوة اللونية للمحلول = الامتصاص بالموجة 525 نانومتر / وزن العينة بالغرام.

8-1- فصل وتعيين الأنسوسيانينات:

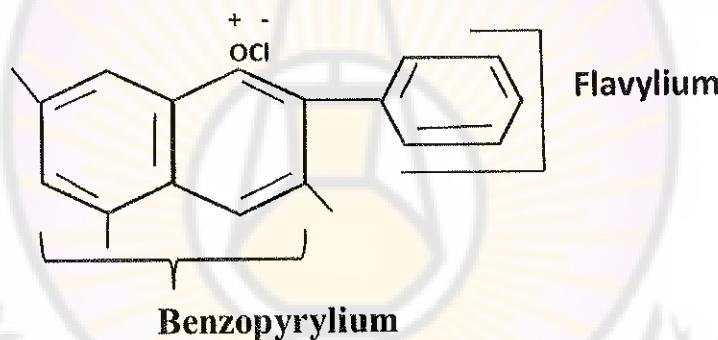
الأنسوسيانينات ملونات طبيعية مهمة، توجد في غالبية النباتات، ذوابة في الجزء السائل من السيتوبلاسما، وتتحدد مع سكريات أحادية فهي توجد في الخلية بهيئة غلوكوزيدات، يشكل الأغلوكون فيها أحد أنواع الأنسوسيانينات.

تعطي هذه الملونات ألواناً عديدة في الفاكهة والأزهار والخضار، من اللون الأحمر إلى الأزرق مروراً بطيف مختلف منها إلى اللون القشدي، وتعد أحد مجموعات الفلافونيدات.

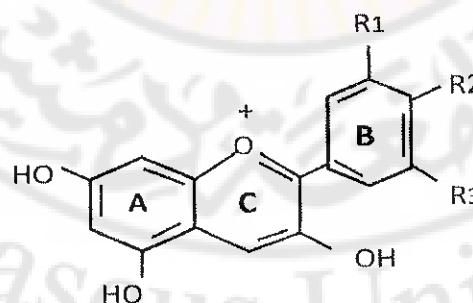
يتكون الهيكل الرئيسي للأنسوسيانينات من هيكل فلافلونيدي كربوني شكل (10-1)، يضم خمسة عشر ذرة كربون، مكون من نواة أساسية تسمى بنزوبيريليوم، التي ينضم إليها حلقة بنزينية في الموقع 2 حيث تسمى عندها 2-فينيل بنزوبيريليوم أو فلافليليوم.

جميع ما هو موجود من أنتوسينيانات وأنثوسيانيدينات مشتقات لمركب 3،5،7-ثلاثي هيدروكسي فلافيليوم كلوريد، حيث تختلف عن بعضها بعدد وموضع المجموعات الهيدروكسيلية الموجودة على الهيكل الأساسي وبنوع السكريات الأحادية المتصل بها والتي من أهمها سكر الغلوكوز، أرابينوز، رامنوز، غالاكتوز.

توجد ستة أنواع أساسية من الأنثوسينيانات يوضحها الشكل (11-1). ثمرة الرمان أحد المصادر الغنية بالأنثوسينيانات، ويعتمد اللون الأحمر لعصيره على تركيز ونوع الأنثوسينين الموجود، حيث أشار الباحثون أن ديلفيندين 3،5-ثنائي غликوزيد هو الملون الرئيسي في عصير الرمان.



شكل (10-1) الهيكل الأساسي للأنثوسينيدينات



شكل (11-1) الهيكل الكيميائي الأساسي للأنثوسينيانات الستة الأكثر انتشاراً

Anthocyanidin	R1	R2	R3
Pelargonidin(Pg)	H	OH	H
Cyanidin(Cy)	OH	OH	H
Delphindin(Dp)	OH	OH	OH
Peonidin(Pn)	OMe	OH	H
Petunidin(Pt)	OMe	OH	OH
Malvidin(Mv)	OMe	OH	OMe

بين بعض الباحثين أن مشتقات البيلارغونيدين مسؤولة عن اللون البرتقالي والأحمر، ومشتقات السبيانيدين مسؤولة عن الألوان الأحمر والبنفسجي الفاتح، في حين أن مشتقات الدلفينيدين مسؤولة عن البنفسجي والأزرق، وألوان المشتقات السابقة تعتمد على pH، والتركيز، والمركبات الأخرى الموجودة في الوسط المحيط بها.

استخلاص الأنثوسيانيدينات:

تعتمد إجراءات استخلاص الأنثوسيانيدينات على المصدر النباتي. وعادةً ما تجرى بعد تجفيف بتلات النبات حيث يتم استخلاص الأنثوسيانيدينات من المسحوق بالكحول المحمض بحمض كلور الماء. تتحول الأنثوسيانيدينات عندها إلى أملاحها الكلورية الذواقة.

فيما يلي أهم المذيبات المستخدمة في استخلاص الأنثوسيانيدينات من العصائر أو المركزات أو الفاكهة أو غيرها من النباتات:

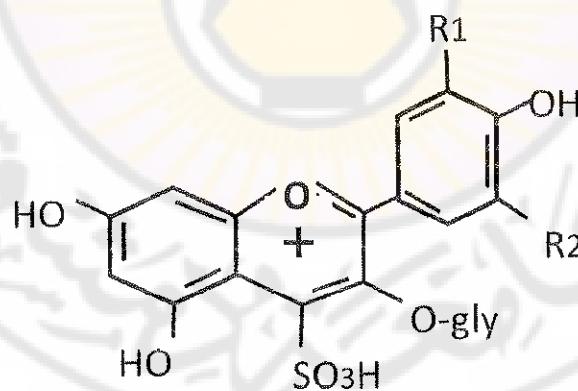
- الميثanol المضاف إليه حمض كلور الماء 1%
- الميثanol المضاف إليه حمض كلور الماء 0.1%
- مزيج إيثانول 95% مع HCl (N1.5) بنسبة 85:15 حجماً.

تمييز الأنثوسيانينات:

يعتمد المبدأ على التأثير القاصر للون لمركبات الكبريتيت التي تطلق غاز SO_2 في الوسط الحمضي.

يتم إزالة لون الأنثوسيانينات بإضافة مادة تعطي SO_2 ، وهذه العملية لا يدخل فيها حلمة الرابطة الغلوكوزيدية، وهي عملية عكوسية، ويتم فيها إرجاع الصيغة المكونة للون، أو يضاف إلى هذه الصيغة مجموعة باي سلفيت. كما في الشكل (12-1).

ويتم تشكيل المركب عديم اللون بتفاعل الأنثوسيانين (أيون الكربونيوم R^+) مع أيون الباي سلفيت SO_3^- ليعطي مركباً عديم اللون هو كرومان -2- أو كرومان -4- حمض سلفوني ورمزه العام RSO_3H ، شكل (12-1)، ويشبه المركب الناتج في بنيته الكيميائية وخصائصه أساس الكربانال لأنثوسيانينات أي المشتق الكحولي لأنثوسيانين حيث يشار إليه بصيغة مختصرة R-OH .



شكل (12-1) المركب عديم اللون لأنثوسيانينات

طريقة العمل:

ضع 1غ مستخلص العينة مع 1غ ميتا باي سلفيت الصوديوم في دورق مخروطي 100مل، أضف 50مل محلول موقى من السبيترات ذو $\text{pH}=3$ ، حرك لإذابة السلفيت وانتظر قليلاً ولاحظ زوال لون العينة الأحمر أي زوال لون الأنثوسيانينات.

يمكن بهذه الطريقة البرهنة على أن المادة الملونة هي الأنثوسيانينات، أي تحوي العينة ملونات طبيعية. وهذه الطريقة تميز أيضاً الملونات الطبيعية عن الملونات الصناعية، لأن الأخيرة لا يزول لونها بإضافة الكبريتيت في الوسط الحمضي.

عزل الأنثوسيانينات:

المبدأ: تشكل الأنثوسيانينات مركبات ضم مع راتنجيات بولي فينيل بولي بيروليدين (PVPP) عبر الرابطة الهيدروجينية التي تنشأ من اتصال الراتنج مع بروتون مجموعة هيدروكسيل الفينول في الأنثوسيانينات.

طريقة العمل:

- خذ 150مل عصير وأضف إليها 15غ PVPP في دورق مخروطي.
- اخلط جيداً باستخدام محرك مغناطيسي لمدة 15 د.
- افصل الراتنج عن العصير بالتنقيل بسرعة 400 د ف د لمدة 4 د.
- أهمل الرشاحة وخذ الراسب من الراتنج الذي امتر عليه الأنثوسيانينات.
- أغسل الراسب بالماء المقطر (100مل) لإزالة السكريات.

- اشطف الأنثوسينيات عن سطح حبيبات الراتنج بإضافة ميثانول محمض بـ HCl واترك المذيب بتناس مع الراتنج لمدة 24 سا في البراد.
- استخدم المثلجة للحصول على الراتنج الخالي من الأنثوسينيين والميثانول المحمض الذي يحوي الملون.
- تخلص من الميثانول واحصل على الملون المركز باستعمال المبخر الدوراني الموضوع في حمام مائي في الدرجة 30°.

تقدير تركيز الأنثوسينيات بالمطياف:

- 1- خذ الملون المعزول وأدبه في محلول ميثانول محمض بحمض HCl 0.1% حتى يصل الحجم إلى 50 مل.
- 2- خذ 1 مل وأكمل إلى 25 مل بالمذيب السابق.
- 3- اقرأ الامتصاص بالمطياف في الموجة 516 نانومتر ضد شاهد من المذيب.

الحساب:

يعتمد الحساب على تطبيق قانون بير ولامبير، وعلى الأخذ بالحسبان أن السيانيدين هو السائد في المادة الغذائية المقاسة. ففي حالة الرمان وعصير البرتقال الماوري فإن الأنثوسينيين السائد هو السيانيدين - 3 - غلوكونوزيد، وله التوابيت الآتية:

- الوزن الجزيئي (MW)= 445.2

- = معامل الامتصاص الجزيئي في خلية عرضها 1 سم

$$(M^{-1}Cm^{-1}L^{-1}) \quad 29600 = a$$

- طول الموجة العظمى 516 nm

$$A = a_{m516} \cdot b \cdot c_{(mol^{-1} \cdot l^{-1})}$$

$$C_{(mol^{-1} \cdot l^{-1})} = A / (a_{m516} \cdot b)$$

$$C(g^{-1} \cdot l^{-1}) = \frac{A}{(29600) \times (1cm)} \times 445.2 \times$$

مثال: نفرض أن امتصاص العينة هو 0.5، وأننا بدأنا ب 150 مل عصير وفق السابق، ينتج لدينا أن هذا العصير يحوي 6.267 مغ/100مل.

$$C_{(mg/100ml)} = \frac{0.5}{(29600)} \times 445.2 \times \frac{25}{1} \times 100 \times \frac{50}{150}$$

$$= 6.267(mg\%)$$

الفصل الثاني

المواد الحافظة للأغذية

FOOD PRESERVATIVES

2-1- مقدمة حول المواد الحافظة للأغذية:

المادة الحافظة هي مواد تضاف بنساب محددة إلى الغذاء، تعمل على تثبيط أو إيقاف نمو الأحياء الدقيقة، بهدف حفظ الغذاء لأطول فترة ممكنة ومنع فساده، أو تأخيره أي أنها تثبط أو تعيق عملية الاختمار أو تشكل الحموضة أو التدهورات الأخرى المرتبطة بها. ومن المستحسن الإشارة هنا إلى أن المواد الحافظة يمكن تقسيمها إلى مجموعتين، الأولى ويدخل فيها ملح الطعام، السكر، الدكستروز، البهارات، الخل وحمض الخل، العسل، الزيوت النباتية، وكميتها المضافة غير محددة. يدخل في المجموعة الثانية: حمض البنزويك وأملاحه، حمض الكبريت وأملاحه، حمض بروبيونيك وأملاحه، حمض اللبن وأملاحه، نيسين، بارابين، وكميتها محددة مع محدودية الأغذية المسموح بإضافتها إليها والتي يفصلها مشروع المعايير السورية (ics 67.220.20) الذي يحدد أنواع المواد الحافظة المسموح باستعمالها في المواد الغذائية المعدة للاستهلاك البشري، كما تحدد متطلباتها العامة ونسب استعمالها.

ويظهر الجدولين (1-2) و (2-2) أكثر المواد الحافظة شيوعاً، المسموح باستعمالها في المواد الغذائية، والجدولين (2-3) و (2-4) الحدود القصوى المسموح وجودها في المجموعات الغذائية. ويجب الإشارة هنا أن هذه الحدود

القصوى لكميات الحافظات المسموح وجودها ضمن الأغذية عرضة وبصورة دائمة للمراجعة من قبل الجهات المسئولة، ولذلك يستحسن الرجوع إلى آخر المستجدات الصادرة عن هيئة المواصفات السورية للوقوف على النسب القصوى المطبقة قانوناً، وما ورد في الجدولين 2-3 و 2-4، ما هو إلا الدلالة والإرشاد، وعلى المنتج أن يعود إلى آخر مستجدات المعايير السورية.

الجدول (2-1) المواد الحافظة المسموح باستخدامها في المواد الغذائية

السوربات والبنزوات وبارا هيدروكسي بنزوات

النوع	رمز	اسم المادة الحافظة	رقم التصنيف الدولي INS NO
تقدر كحمض سوربيك	س	حمض سوربيك	200
		سوربات البوتاسيوم	202
		سوربات الكالسيوم	203
تقدر كحمض بنزويك	ب	حمض البنزويك	210
		بنزوات الصوديوم	211
		بنزوات البوتاسيوم	212
		بنزوات الكالسيوم	213
تقدر كحمض بنزويك	هـ	أيتيل بارا - هيدروكسي بنزوات	214
		أيتيل بارا - هيدروكسي بنزوات الصوديوم	215
		بروبيل بارا - هيدروكسي بنزوات	216
		بروبيل بارا - هيدروكسي بنزوات الصوديوم	217
		ميتيل بارا - هيدروكسي بنزوات	218
		ميتيل بارا - هيدروكسي بنزوات الصوديوم	219

**الجدول (2-2) المواد الحافظة من ثاني أكسيد الكبريت وأملاح الكبريتات المسموح
باستخدامها في بعض المواد الغذائية**

النوع	اسم المادة الحافظة	رقم التصنيف الدولي INS NO
تقدر كغ/غرام ثاني أكسيد الكبريت	ثاني أكسيد الكبريت	220
	كربونات الصوديوم	221
	كربونات الصوديوم الحامضية	222
	ميتا باي كربونات الصوديوم	223
	ميتا باي كربونات البوتاسيوم	224
	كربونات الكالسيوم	226
	كربونات الكالسيوم الحامضية	227
	كربونات البوتاسيوم الحامضية	228

الجدول (2-3) الحدود القصوى للسوربات والبنزوات والبارا هيدروكسى بنزوات فى الأغذية

الحد الأقصى (مغ/كغ أو مغ/لتر)						المادة الغذائية
س+ب+هـ	س+هـ	س+ب	هـ	ب	س	
				200		مشروبات كحولية منكهة
		250س+150ب		150	300	مشروبات منكهة خالية من الكحول
		2000				عصير العنب غير المتخمر والمعد للاستخدام الخالص
				200		النبيذ والنبيذ الخالي من الكحول، ونبيذ الفواكه، والنبيذ الصناعي
				200	500	المشروبات غير الكحولية
				200		البيرة الخالية من الكحول
		400		200	200	المشروبات الروحية باستثناء النبيذ والتي تكون نسبة الكحول فيها أقل من 15 % حاما.
		1000		500		منتجات الفاكهة منخفضة السكر من المربيات والجيلى والمرملاد.
		1000				الفاكهة والخضير المبلورة أو المغلفة بالسكر أو المصقولة
				1000		الفاكهة المجففة
				500	500	الخضار المحفوظة في الخل أو محلول الملحى أو الزيت باستثناء الزيتون.
				2000		عجائن البطاطا و شرائح البطاطا المعدة لل frie
				1000		الزيتون و مستحضراته
1000						الجيلى المستخدم في تغطية منتجات اللحوم
		2000				منتجات الأسماك شبه المحفوظة
		2000				القريش المطبوخ
				1000		الجين غير المنضج، الجين المضاف إليه بعض المواد الغذائية
				2000		الجين المطبوخ
		300				حلويات غير معاملة بالحرارة وأساسها الحليب
				1000		الحليب المخثر (قرشة)

		5000			البيض السائل (صفار - بياض - كامل)
			2000		الخبز و منتجاته بكافة أنواعها
* 1500					السكاكر (ماعدا الشوكولا)
	1500				العلكة
			2000	مستحبات دسم ذات محتوى من الدسم ٦٠ % أو أكثر (باستثناء الزبدة)	
			2000	مستحبات دسم ذات محتوى من الدسم أقل من ٦%	
			1000	صلصات مستحلبة ذات محتوى من الدسم أقل من ٦٠ %	
	1000				الخردل
	1000				التوابل والبهارات
	500			الشوربات والمرقفات السائلة (عدا المعيبة)	
2000				أغذية سائلة تكميلية خاصة بالحمية	
	1500			أغذية الحمية المعدة لأغراض طبية خاصة (ضبط الوزن) ماعدا أغذية الأطفال والرضع	
			2000	شمار البحر المطبوخة و المنقوعة في الماء المالح والخل	
	1500			المنكهات	

* ألا تزيد نسبة هـ عن 300

الجدول (2-4) الحدود القصوى لثاني أكسيد الكبريت و الكبريتيت في بعض الأغذية

الحد الأقصى (مغ/كغ أو مغ/لتر) كثاني أكسيد الكبريت	المادة الغذائية
450	الهمبرغر مع بروتين نباتي (4%) على الأقل
450	السجق
200	السمك المملح و المجفف و المدخن و المتخمر
50	البسكويت الجاف
50	النشاء مادعا النشاء المستخدم في أغذية الطعام التابعة للرضع و الأغذية التكميلية.
30	الشعير المقشور
400	حبوبات البطاطا المجففة
50	المقبلات المصنوعة من الحبوب و البطاطا
50	البطاطا المقشرة
100	البطاطا المصنعة (بما فيها البطاطا المجمدة و المجمدة بطريقة التجميد السريع)
150	زنجبيل محفف
200	البندوره المجففة
100	جميع أنواع المخللات و المكدوس مادعا الزيتون و الفاصفالة الذهبية
50	المشروم (الفطر) المصنوع و يشمل المجمد
100	المشروم (الفطر) المحفف
	الفاكهة المجففة: - المشمش والعنب والدراق والخوخ والتين - الموز - التفاح والاجاص
2000	
1000	
600	

500	- باقي الفواكه بما فيها المكسرات غير المقشورة
50	جوز الهند المجفف
100	المربي والجيلىي والمرملاد والمنتجات المشابهة وتشمل المنتجات منخفضة السعرات الحرارية
2000	مراكز عصير العنب والمعدة من أجل صناعة الخمر المنزلى
250	شرائح الليمون المعبأة
50	شراب الغلوکوز المجفف وغير المجفف
70	الدبس والمولاس
40	السكريات الأخرى
50	عصير البرتقال والكريب فروت والتفاح والأناناس
350	عصير الليمون الحلو والحامض
20	المشروبات غير الكحولية المنكهة والتي تحتوى على عصير الفاكهة
50	المشروبات المنكهة غير المركزية والتي تحتوى على شراب الغلوکوز

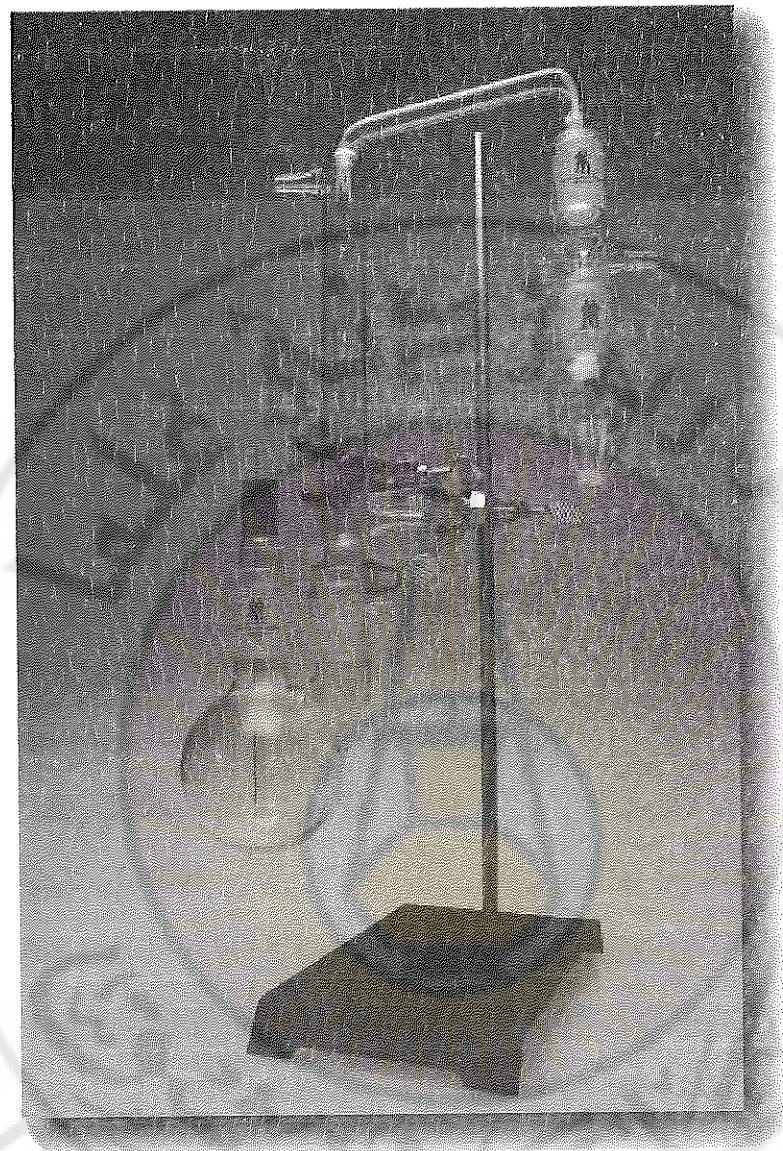
2-2- تعيين ثاني أكسيد الكبريت بالمعايرة باليود:

مقدمة:

يوجد SO_2 في المحلول المائي بأشكال أهمها، على شكل حمض كبريتني (H_2SO_3)، أيون كبريتيت (SO_3^-)، أيون باي سلفيت (HSO_3^-). يتأثر نمو البكتيريا ويزداد تثبيطه عندما يكون SO_2 بشكل غير متain H_2SO_3 . SO_2 أكثر فوة على تثبيط البكتيريا مقارنة مع الخمائير والفطور، ولهذا السبب يستخدم أساساً SO_2 وأملاحه في حفظ الخضار والفاكهة كعوامل مضادة للبكتيريا، وقد لوحظ أن 150 ± 50 مغ من SO_2 في لتر عصير العنب ضروري لتثبيط خلايا بكتيريا حمض الخل (Acetobacter).

يوجد SO_2 في الأغذية بصورةتين، حرة ومنضمة. يمكن تعيين SO_2 الحر بالمعايرة المباشرة باليود، في حين أن تعيين SO_2 الكلي يحتاج إلى تحريض SO_2 المنضم باتباع إحدى الطرق التالية:

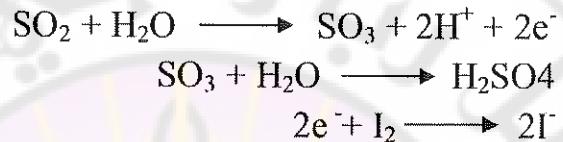
- ✓ معالجة الغذاء بزيادة من القلوي في درجة حرارة الغرفة، على أن يتبعها تحميض العينة لمنع إعادة ضم SO_2 إلى مكونات الغذاء، ثم إجراء المعايرة باليود.
- ✓ إجراء نقطير SO_2 الموجود في العينة المحمضة بشدة باستخدام جهاز النقطير المصتقر الموضح في الشكل (1-2)، ثم المعايرة .



الشكل (2-1) جهاز التقطر

المبدأ: يعين ثنائي أكسيد الكبريت في الأغذية السائلة، مثل عصائر الفاكهة، أو في الأغذية الجامدة التي تتبعثر في الماء، مثل الملفوف المجفف، بهضم الغذاء على البارد في وسط قلوي، يلي ذلك تحميض الوسط، ومعايرة ثنائي أكسيد الكبريت الموجود بمحلول اليود باستعمال النشا كمشعر.

تتلخص التفاعلات الجارية في المعادلات:



تجمع المعادلات الثلاثة السابقة في معادلة واحدة:



الكواشف:

ماءات الصوديوم الممدة (تقريباً 2M).

حمض الكبريت الممدد (تقريباً 2M).

محلول اليود N-0.02

مشعر النشا.

طريقة العمل:

خذ 25 مل ماءات الصوديوم في أسطوانة مدرجة وضعها في بيسير. استعمل الجدول (5-2) لأخذ الكمية المناسبة من الغذاء للتحليل. خذ بالماصة الأغذية السائلة وأضفها إلى البيسير. زن الكمية المناسبة من الأغذية الجامدة ووضعها في البيسير مع 25 مل ماء واتركها لمدة 5 د. بعد ذلك أضف 10 مل حمض كبريت ممدد، دعها ثانية لمدة 5 د، واتبعها بإضافة 1 مل مشعر النشا.

عالي بمحلول اليود المعياري للحصول على لون أزرق بنفسجي دائم.

أعد التجربة للحصول على نتائج متوافقة.

الحساب:

يتفاعل 1مل من N-0.02 من محلول اليود مع 0.64 مغ SO₂.

لحساب كمية SO₂ في الغذاء مقدرة على أساس مغ/كغ أو ج ب م استعمل

المعادلة التالية:

$$\frac{1000}{W} \times t \times 0.64 = \text{SO}_2 \text{ ج ب م}$$

(t) حجم اليود الذي تتطلبه معايرة عينة غذاء وزنها W (غ).

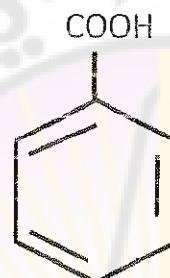
الجدول (2-5) كمية عينة الغذاء لتعيين ثانوي أكسيد الكبريت

الكمية غ أو مل	الغذاء	الكمية غ أو مل	الغذاء
20	جيلاتين	25	نقانق
25	خضراوات مجففة	25	منتجات غذائية ناعمة
200	بيرة بأنواعها	25	فاكهة مسکرة أو لب فاكهة
200	نبيذ	50	عصير فاكهة
		50	مربيات أو خشافات

2-3- تعيين حمض بنزويك في الأغذية

مقدمة:

يستخدم حمض بنزويك كمادة حافظة بشكل ملح صودي أو بوتاسي أو كلسي. يعيق حمض بنزويك نمو الخمائير والأعفان، والعامل الفعال فيه هو الحمض غير المتأين.



يعتمد مدى تأثيره على البكتيريا على رقم pH الوسط، ويصل إلى أفضل تأثير مضاد للبكتيريا ضمن وسط له pH بين 2.4 و 4.0، ويتلاشى تأثيره فوق

$$.5 = \text{pH}$$

وقد لوحظ وجود حمض بنزويك بصورة طبيعية في فاكهة التوتيات.

المبدأ: الطريقة الرسمية العامة لتحليل حمض بنزويك كما وردت في AOAC تعتمد إما على المعايرة أو القياس الطيفي بعد فصله من الغذاء بالاستخلاص بالمذيب أو بالجرف بالبخار.

طريقة العمل:

- 1 - يؤخذ 50 غ من العينة (مشروبات خفيفة، أغذية سائلة) ويضاف إليها حمض الكبريت الممدد، ثم تشبع العينة بملح الطعام.

2- يضاف إلى 25 مل من العينة المحمضنة التي رسبت فيها المواد المعيبة 25 مل إثير / إثير البترول الخفيف، أو إثير / هكسان (1:3) لاستخلاص حمض بنزويك. ويختبر المزيج في قمع الفصل. ثم تؤخذ طبقة الإثير إلى دورق مخروطي، ويعاد الاستخلاص مرة ثانية.

3- ينقى حمض بنزويك مما قد يرافقه من حموض آخر بـإضافة ماءات الصوديوم والخل، ثم تفصل الطبقة القلوية التي تحوي على الملح الصودي لحمض بنزويك الذائب في الماء وتُسخن إلى الدرجة 60°C و تعالج بمحلول برمغنت لأكسدة الحموض المعيبة.

4- تعالج الزيادة من البرمنغنت بـإضافة السلفيت في وسط حمضي.

5- يستخلص حمض بنزويك بعد التحميض بالإثير.

6- يزال المذيب بالتسخين الهادئ ثم يوزن الراسب.

7- يمكن تأكيد النتيجة بإذابة الحمض في 2 مل أسيتون، ثم إجراء معايرة بـماءات الصوديوم 0.05 M.

الحساب:

كل 1 مل ماءات الصوديوم (0.05 M) تعادل 0.0061 غ حمض بنزويك والتي تساوي 1.6 مل حمض بنزويك و 7.2 مل بنزوات الصوديوم.

الطريقة المطياافية لتعيين حمض بنزويك :

يؤخذ حمض بنزويك الذائب في الإثير (الخطوة 5 في طريقة العمل السابقة) ويقاس امتصاصه في المجال فوق البنفسجي ما بين طول الموجة 265-280 نم.

يحصل على كمية حمض بنزويك بالمقارنة مع امتصاص منحني معياري من محلول حمض بنزويك (20، 40، 60، 80، 120)، مع حمض بنزويك في ليتر إثير).

تستعمل خلايا الكوارتز في قياس الامتصاصية ويوضع غطاؤها في أثناء القياس نظراً لسرعة تبخر مذيب الإثير. يمكن استعمال الإيثانول في قياس امتصاص كميات صغيرة جداً من حمض بنزويك في المجال فوق البنفسجي.

الكاشف:

- (1) برمونغنات البوتاسيوم (5%).
- (2) كبريتات الصوديوم الجافة.
- (3) حمض كلور الماء الممدد (1:3).
- (4) ماءات الصوديوم . M0.05
- (5) مشعر فينول فتالين.
- (6) حمض كبريت ممدد (M 3).

ملاحظات:

- (1) تحتاج العينات الغذائية شبه الجامدة إلى تجفيف قبل البدء بتحليل حمض بنزويك فيها.
- (2) تحتاج عادةً ما بين 50 - 100 غ من العينة الغذائية من المشروبات الغازية أو المنتجات السائلة، أو منتجات البندورة، أو الهلامات والمربيات، ويضاف إليها كلوريد الصوديوم بهدف ترسيب المواد المعيبة وخاصة البروتينات.

2-4- كشف وتعيين حمض سوربيك والسوربات:

مقدمة: حمض سوربيك حمض دهني غير مشبع، يضم ست ذرات كربون، وفيه رابطتان غير مشبعتين، ومجموعة كربوكسيل واحدة، ويوجد تجاريًا بوضعيّة ترانس، ترانس.



بعد هذا الحمض من أفضل المواد الحافظة هو وأملاحه، لأنها تثبط نمو طيف واسع من الفطور والخمائر، إلا أنها أقل فعالية ضد البكتيريا. من خصائصه أنه يعمل كمادة حافظة في pH يمتد حتى 6.5. تزداد فعاليتها مع انخفاض pH، ففي pH = 4.5 وتركيز 0.1 % يثبط نمو جميع الخمائر والفطور.

يُستقلب حمض سوربيك في الجسم بنفس الطريقة التي تستقلب فيها الحموض الدهنية الأخرى، كما تستقلب بعض الأحياء الدقيقة.

يسمح من الناحية القانونية استعمال حمض سوربيك وأملاحه البوتاسيية، والصودية، والكلسية، ولها أرقام 200-203 في نظام الترقيم الدولي، ولها وضعية GRAS في الولايات المتحدة. وفي الاتحاد الأوروبي يسمح باستعمال الحمض مع ملحه البوتاسي في منتجات الغذاء حتى تركيز 0.2 %. وسلامته يمكن أن تستنتج من بيانات منظمة الصحة العالمية عندما وضعت 25 مغ/كغ وزن الجسم/يوم، كحد أعلى لمدخل الجسم من جميع الأغذية (أي المدخل اليومي المقبول ADI).

يأتي مدخل حمض سوربيك إلى الإنسان نتيجة وجوده في مجموعات غذائية رئيسية والسماح بإضافته بمستويات متفاوتة التركيز 200-2000 مغ/كغ. من هذه الأغذية البيض السائل (5000 مغ/كغ)، الأغذية البحرية المطبوخة (6000 مغ/كغ)، المشروبات الخفيفة (300-200 مغ/كغ)، بعض أنواع عصير العنب (2000 مغ/كغ)، مركبات الشاي السائل (600 مغ/كغ).

توجد طرق متعددة لتحليل حمض سوربيك المضاف إلى الأغذية، ويعتمد اختيار الطريقة الملائمة على نوع الوسط الغذائي الموجود فيه هذا الحمض. وإذا استعرضنا هذه الطرق المنشورة نجد أن معظمها مخصصة للأغذية السائلة، مثل المشروبات، الشوربات، الألبان السائلة، ولذلك تحتاج أحياناً إلى تعديل طريقة التحليل المنشورة حتى تصلح للتطبيق على جميع أنواع الأغذية وأوساطها.

الكشف عن حمض سوربيك:

تعتمد هذه الطريقة على تحرير الحمض وأملاحه من المادة الغذائية وإذابته في الماء، واستخلاصه بالإثير بعد تحميضه، ثم تركيز مستخلص ثنائي إتيل إثير، وإضافة كاشف شيف، حيث يدل ظهور لون أحمر لصبغة الفوكسين على وجود حمض سوربيك أو أحد أملاحه.

طريقة العمل:

- ✓ زن نحواً من 10 غ من العينة المتجانسة في دورق مخروطي 250 مل، أضف 100 مل ماء، سخن على حمام مائي لمدة 20 د مع التحريك بقضيب زجاجي.

- ✓ رشح محتويات الدورق، واغسل الدورق والقضيب الزجاجي بنحو 25 مل ماء، ثم أضفها إلى قمع الترشيح.
- ✓ خذ الرشاشة وأضف إليها 5 مل حمض كبريت (4 عياري) وحرك. يستخلص حمض سوربيك بإضافة 20 مل إيثر مع التحريك دائرياً. اجمع طبقة الإيثر في دورق مخروطي (100 مل)، أعد الاستخلاص بالإيثر، وأضفه إلى المستخلص الأول.
- ✓ أضف إلى المستخلص الإيثري 5 غ كبريتات الصوديوم اللامانية، حرك الدورق دائرياً لمدة 5 دقائق. رشح خلال ورق ترشيح إلى جفنة، ويخر الإيثر حتى يبقى منه 10 مل، خذ منها 5 مل إلى أنبوب، بخر الإيثر حتى الجفاف بغمده في حمام مائي.
- ✓ أذب المتبقي في أنبوب الاختبار في 10 مل ماء، و أضف إليه 2 مل كاشف شيف. إذا تلون محلول باللون الأحمر، خلال 15 د، كان دليلاً على وجود حمض سوربيك.

الكاشف والأدوات اللازمة:

كاشف شيف:

هو صبغة الفوكسين المزالة لونها بغاز الكبريتني. يحضر الكاشف بإذابة 0.1 غ بارا روز أنيليلين في 100 مل ماء، وإضافة 1 غ كبريتات الصوديوم مع 1 مل حمض كلور الماء المركز. يحفظ في زجاجة مغلقة جيداً، بعيداً عن الضوء. يحضر قبل يوم على الأقل من استعماله.

المواد الكيميائية:

كبريتات الصوديوم اللامائية، ثانوي إتيل إثير، حمض سوربيك، حمض
كربونات (4 عياري)، إثير البنزول.

الأدوات:

دوارق مخروطية، جفونات بوسلان، حمام مائي، قمع وورق ترشيح.

تعيين حمض سوربيك كمياً:

المبدأ: يطرد حمض سوربيك من عينة الغذاء بعد تحميضها بحمض الكربونات
الممددة وإشباعها بكبريتات المغنزيوم باستخدام بخار الماء.

الحمض المتقطر إما أن يقاس كمياً بطريقة مطیافية في المجال فوق البنفسجي،
أو بطريقة مطیافية لونية بعد أكسدة الحمض إلى مالون الدهيد، وتفاعله مع
حمض ثيوباربیتوريك.

يستخلص حمض سوربيك من العينة بمزيج من ثانوي إتيل إثير وإثير
البنزول (1:1) أو ثانوي إتيل إثير وحده.

الطريقة المطیافية في المجال فوق البنفسجي:

تؤخذ القطارة الناتجة، من استخدام جهاز التقطر المصنفر والموضحة
في الشكل (2-1) والتي تحتوي على حمض سوربيك وتمدد بحمض الكربونات
262 (0.005 M). يستعمل الماء كعينة مرجعية. يقرأ الامتصاص في الموجة
ن م والموجة 280 ن م، وإجراء تصحيح للعامل E262 بتطبيق المعادلة:

$$E262 = 1.418 E262 - 0.81 E280$$

وضعت المعادلة السابقة كصيغة لإجراء تصحيح في امتصاص حمض سوربيك في الموجة 262 ن م، وذلك لوجود نواتج تفكك السكريات في القطارة الآتية من جرف الأغذية ببخار الماء، وخاصة الفاكهة.

تؤخذ الرشاحة المارة عبر ورق ترشيح وايت مان رقم 1، ويقرأ امتصاصها بين 200-300 ن م. تؤخذ عينة صغيرة ثانية ويفكك حمض سوربيك بالبرمنغتان. وبعد عدم وجود قمة امتصاص في الموجة 250 ن م دليلاً تأكيدياً على وجود حمض سوربيك.

يمكن حساب تركيز حمض سوربيك بمقارنة امتصاصه مع امتصاص محلول معياري.

يعطي حمض سوربيك قمة عريضة من الموجة 261 إلى 264 ن م، إذا أخذت القراءات ضمن مجال pH بين 2 و 4، مع اختلاف قليل جداً في معامل الامتصاص وبإضافة حمض كبريت (0.005 M) إلى القطارة الناتجة يمكن الحصول على قيمة 2260 لامتصاص 1% حمض سوربيك في خلية عرضها سم ($E^{1\%} 1\text{Cm}$).

الطريقة المطيافية في المجال اللوني:

تؤخذ القطارة الناتجة، من استخدام جهاز التقطرير السابق، والتي تحوي على حمض سوربيك و يؤكسد الحمض فيها بمحلول ثاني كرومات البوتاسيوم بوجود حمض الكبريت واستخدام حرارة غليان الماء. بعد التبريد يضاف محلول حمض ثيوباربیتوريك ليتفاعل مع الألدهيد المتكون بالأكسدة (مالون الدهيد)، ويعطي معقداً لونياً أحمر.

نقرأ شدة الامتصاص بالمطياف في الموجة 532 ن م، ونقارن مع قراءات منحني معياري.

طريقة العمل:

خذ القطارة المحتوية على حمض سوربيك (10مل) وأضف إليها 1مل حمض كبريت و2مل ثاني كرومات البوتاسيوم. يسخن المزيج لمدة 5 د في حمام مائي بدرجة الغليان. برد محلول وأضف 2مل حمض ثيوباربیتوريك، ضع الأنبوب مرة ثانية في الحمام المائي ولمدة 15 د، اقرأ الامتصاص في الموجة 532 ن م وقارن مع منحنى معياري.

تحضير و إعداد المنحنى المعياري من حمض سوربيك:

✓ حمض الكبريت الممدد (2 عياري): مدد 14.2 مل حمض كبريت مركز إلى 250 مل ماء (أضف الحمض المركز من أسطوانة مدرجة إلى دورق معياري 250 يحوي ثلاثة ماء مقطر، وبعد الانتظار والتبريد أكمل الحجم بالماء).

✓ حمض الكبريت الممدد (0.3 عياري): مدد 15مل من حمض الكبريت 2 عياري في 100مل بالماء.

✓ محلول ثاني كرومات البوتاسيوم: يذاب 0.49 غ $K_2Cr_2O_7$ في الماء ويكمel الحجم إلى 100مل.

✓ محلول حمض ثيوباربیتوريك (0,5 % و/ح) يحضر يومياً: يذاب 500مغ حمض ثيوباربیتوريك في 10مل ماءات الصوديوم (M-0.05) في دورق معياري 100مل ويستكمل الانحلال في حمام مائي ساخن. يضاف 40مل ماء، ونعدل بإضافة 6مل حمض كلور الماء (1 عياري) ويكمel الحجم بالماء.

✓ محلول معياري من حمض سوربيك: زن بدقة 1.34 غ سوربات البوتاسيوم (تعادل 1.0 غ حمض سوربيك) وتذاب في الماء، ويكمم الحجم إلى ليتر (1.0 مل). يؤخذ 10 مل ويوضع في دورق معياري 100 مل ويكمم الحجم بالماء (0.1 غ حمض سوربيك/مل).

✓ كريات المغنيزيوم، كربيد السيليكون (إعطاء جو خامل خالي من O_2 قبل بداية التقطير).

إعداد المنحني المعياري لحمض سوربيك:

(1) ينقل بالمقاصة المعيارية 15، 10، 5 مل محلول حمض سوربيك المعياري (0.1 غ/مل) وتوسيع في دورق معيارية سعة 100 مل، وتمدد بالماء حتى العلامة.

(2) ينقل بالمقاصة 2 مل من كل دورق إلى أنبوب اختبار (15 مل) ويضاف إليه 2 مل ماء. يوضع في أنبوب رابع 4 مل ماء كشاهد.

(3) نضيف إلى كل أنبوب 1 مل حمض كبريت (0.3 عياري)، و1 مل محلول ثاني كرومات البوتاسيوم. وتسخن لمدة 5 دقائق بالضبط في حمام مائي بدرجة الغليان.

(4) تبرد الأنابيب في كأس ماء بارد. بعدها يضاف إلى كل منها 2 مل محلول حمض باربيتوريك.

(5) تنقل الأنابيب مرة ثانية إلى الحمام المائي وتعرض إلى حرارة الغليان لمدة 10 د. بعدها تبرد.

(6) يقرأ الامتصاص للأنبوب الثالث ضد الشاهد في الموجة 532 ن.م.

(7) يرسم الخط البياني لقراءات الامتصاص ضد تركيز حمض سوربيك في الأنابيب معبراً عنه ميكروغرام/مل.

تعيين حمض سوربيك في عينة الغذاء:

1. يوزن 15-20غ من العينة المتجانسة من الغذاء، وتوضع في دورق التقطير المحتوى على كربيد السيليكون.

2. يضاف إلى العينة 10مل حمض كبريت (2 عياري) و10غ كبريات المغنزيوم.

3. تجرى على العينة عملية جرف بالبخار (الآتي من جهاز توليد بخار الماء) مع وضع لهب صغير تحت دورق التقطير، على أن يراعى بقاء 20-30مل ماء في دورق التقطير وعلى أن يتم تجنب تفحيم العينة.

4. يجمع 100-125مل قطارة خلال 45 د في دورق معياري.

5. يغسل مكثف جهاز التقطير بالماء، وتضاف الغسالة إلى الدورق المعياري ويتمدد بالماء إلى العلامة ويمزج.

6. يجرى على هذه القطارة ما تم تحت المنحني المعياري بدءاً من الخطوة الثانية.

الحساب: يحسب تركيز حمض سوربيك بالمقارنة مع المنحني المعياري.

1-4-2- تحليل حمض سوربيك بطريقة AOAC التي تعتمد على الكروماتوغرافيا الغازية:

تحمل هذه الطريقة الرقم 983.6 وتصلح لتعيين حمض بنزويك وحمض سوربيك في الأغذية.

تحضير عينة الغذاء: جانس عينة الغذاء بخلط ميكانيكي وتأكد من تجانسها.
الاستخلاص: تتضمن طريقة الاستخلاص أخذ 5 غ عينة غذاء متتجانسة في أنبوب تثقيل (30 مل) من التيفلون ذي سدادة لولبية. ثم إضافة 3 مل محلول معياري داخلي، 1.5 مل H_2SO_4 (5+1)، 5 غ/مل، 15 مل إثير. أحكم إغلاق الأنبوب لتجنب التسرب. خض الأنبوب لمدة 5 دقائق، ثم نقل لمدة 10 دقائق في 1500 × g. انقل طبقة الإثير بماصة تعمل بالضغط إلى قمع فصل (250 مل).
أعد الاستخلاص مرتين بكمية 15 مل إثير.

استخلاص حمض سوربيك الموجود في الإثير بإضافة 15 مل NaOH (0.5 N) مع 25 مل محلول مشبع من NaCl وكررها مرتين، جامعاً الطبقة المائية في قمع فصل (250 مل). ثم أضاف نقطتين من كاشف برنتالي المتيل وحمض إلى pH = 1 مستعملاً HCl (1+1).

استخلاص حمض سوربيك بثنائي كلورومتيل (CH_2Cl_2), مستعملاً 75، 50 مل في كل مرة.

إذا تكون مستحلب أضاف 10 مل محلول مشبع NaCl. صب مستخلاص CH_2Cl_2 خلال ورقة ترشيح تحوي 12 غ بلا ماء Na_2SO_4 مستقلاً الرشاحة

في دورق مستدير القعر. بخر CH_2Cl_2 في مبخر دوراني بالدرجة 40°م حتى الجفاف.

تكوين مشتقات لحمض سوربيك للحقن في GC:

أضف 1مل CHCl_3 إلى الراسب في دورق مستدير القعر. أغلق الدورق واخلط لمدة دقيقةتين. انقل 1.0مل محلول CHCl_3 إلى أنبوب اختبار تفلون 8مل ذي سادة لوليبيه وأضف 0.2مل عامل مسيلن (salylating agent) ثم ضع الأنبوب لمدة 15 دقيقة في فرن أو حمام مائي بالدرجة 60°م. اضغط في جهاز الكروماتوغرافيا μl 1، وابدا البرنامج الحراري مع ظهور قمة المذيب.

قس ارتفاع القمة واحسب نسبة ارتفاع قمة حمض سوربيك إلى حمض كابرويك (Caproic). احصل على متوسط نسبتين، والتي يجب أن لا تختلفان عن بعضهما إلا بأقل من 5%.

تحضير المنحني المعياري:

انقل 1مل محلول المعياري إلى كل أنبوب من خمسة أنابيب تفلون وأضف 0.2مل عامل سيلنة لكل أنبوب، وضعها في حمام مائي بالدرجة 60°م لمدة 15 دقيقة. ثم احقن μl 1، مستعملاً الشروط نفسها التي اتبعت مع العينة.

خذ ارتفاع القمة واحسب نسبة ارتفاع قمة حمض سوربيك إلى ارتفاع قمة حمض كابرويك. يجب أن لا يزيد الفرق بين المكررين عن 5%. ارسم علاقة الوزن على المحور (x) إلى نسبة ارتفاع قمتى الحمضين. ثم احسب الميل وتقاطع الخط المعياري مع محور العينات بطريقة المرיבعات الصغرى (Least squares) وطبق المعادلة لمعرفة تركيز المادة الحافظة:

$$\frac{W}{w} \times \frac{a-y}{b} = \text{المادة الحافظة (مغ/كغ)}$$

y = متوسط نسبة ارتفاع قمة الحمض إلى ارتفاع قمة المعيار الداخلي.

a = التقاطع مع محور العينات (y).

b = الميل.

W = وزن المعيار الداخلي بالميغرام.

w = وزن العينة المختبرة بالغرام.

2-4-2 - طريقة HPLC لتعيين حمض سوربيك

مجال هذه الطريقة: يمكن بهذه الطريقة تعيين حمض سوربيك في جميع الأغذية، ولو كان في مجال 50 - 2000 مغ/كغ. كما تسمح هذه الطريقة بتعيين مواد حافظة أخرى كحمض بنزويك و أنواع البارابين.

طريقة العمل:

تحضير المنهي المعياري: احقن 20 ميكروليتر من كل محلول معياري. أوجد بالرسم العلاقة بين مساحة القمة لكل تركيز من المادة الحافظة والتركيز المعياري، واضعاً المساحة على محور Y والتركيز (مغ/ليتر) على محور X .

تحضير العينة:

جنس العينة واحرص على عدم تعریض العينة للهواء بوضعها في وعاء كتيم وخرنها بطريقة تمنع تدهورها.

• العينات السائلة التي لا يوجد فيها مادة ذائبة:

زن بدقة 10 غ من العينة المجنسة ومددها بالميثانول للحصول على حجم 100 مل. يفضل استعمال دورق معياري، امزج، ثم امرر المحلول الميثانولي عبر مرشح 0.45 ميكرون لإزالة العوالق.

تأكد من جاهزية جهاز الكروماتوغرافيا السائلة بحقن 20 ميكروليتر من المحلول المعياري الجامع لجميع التراكيز، وظهور القمم وثبات خط القاعدة. أعد الحقن مرة ثانية. كما أعد حقن المحلول المعياري الجامع مرة كل 4 عينات. وإذا كانت التراكيز في العينة مرتفعة مدد باستعمال محلول الطور المتحرك A، حتى يغدو التراكيز ضمن مجال المنحني المعياري.

• العينات الأخرى:

زن بدقة 10 غ في أنبوب مثلثة، وأضف 20 مل ميثانول، وأحكم إغلاق الأنبوب. امزج مستعملًا أنابيب (Vortex) وتأكد من الحصول على معلق متجانس، واستمر في المزج لدقيقتين، ثم ثقل لمدة 5 د في 2630 دف د وأبن طبقة الميثانول في دورق 100 مل. أعد خطوة الاستخلاص السابقة مرتين، مستعملًا في كل مرة 20 مل ميثانول، واضعاً طبقة الميثانول في الدورق، وأكمل الحجم بالميثانول. رشح خلال ورق ترشيح، وخذ 15 مل وأمررها عبر مرشح 0.45 ميكرون.

احقن الناتج من المرشح الميكروني في جهاز الكروماتوغرافيا. يجب استعمال عينة شاهدة تحوي على كل الكواشف لكل مجموعة من العينات. إذا احتوت العينة الشاهدة على 2 مغ/كغ أو أكثر يجب إعادة حقن عينة شاهدة جديدة بدءاً من كواشف جديدة.

إعادة فحص المرتجع:

يجب إعادة اختبار المرتجع مرة كل عشر عينات، وذلك بإضافة المحلول المعياري للمواد الحافظة إلى جزء العينة الذي يجري إعداده للتحليل، وهذا يتضمن التجنيس والاستخلاص وتطبيق العمل اللازم لإعداد العينة للتحليل.

الحساب:

احسب المتوسط لقعتين لكل مادة حافظة، الناتجين من حفنتين من مستخلص للعينة واستعمل المتوسط للحصول على تركيز المادة الحافظة بعد الرجوع إلى المنحني المعياري. وبعدها احسب تركيز المادة الحافظة في العينة بتطبيق المعادلة:

$$\text{المادة الحافظة (مغ/كغ)} = F \times \frac{C \times 100}{M}$$

C = تركيز المادة الحافظة في المستخلص (ملغ/ليتر)

M = كتلة العينة (غ).

F = عامل توزيع للمستخلص.

تعد الشروط الآتية شرطاً مناسباً لتعيين خمس مواد حافظة في الأغذية:

العمود: (250 × 4.6 mm) kromasil – 100 – 5 C18 أو مايكافوه.

العمود الحماية: kromasil , 5 um, (10×3.2 mm)

المكشاف: الضوء فوق البنفسجي.

طول الموجة: 223 نم لحمض بنزويك، 258 نم لحمض سوربيك، ولميتيل-4، إيتيل-4 وبروبيل-4 هيدروكسى بنزوات.

الطور المتحرك: (A) - 80 % حمض سيتريك/سيترات الصوديوم، pH=5.5
(B) - 20 % اسيتوننتريل.

pH=5.6 - 60 % حمض سيتريك/سيترات الصوديوم، pH=5.6
40 % اسيتوننتريل.

نظام حقن تدريجي: مكون من المراحل الآتية:

100% A	0 min – 26 min
go to 100% B	26 min 31 min
100% B	min 31-45 min
go to 100% A	min 45–50 min
100% A	45 min –55 min

سرعة التدفق: 1.0 مل/د

حجم الحقن: 20 ميكروليتر.

حرارة العمود: حرارة الغرفة.

بفصل تحت هذه الشروط مواد حافظة تظهر قممها وفق الترتيب الآتي:

1 - حمض بنزويك

2 - حمض سوربيك

3 - ميتيل-4-هيدروكسى بنزووات

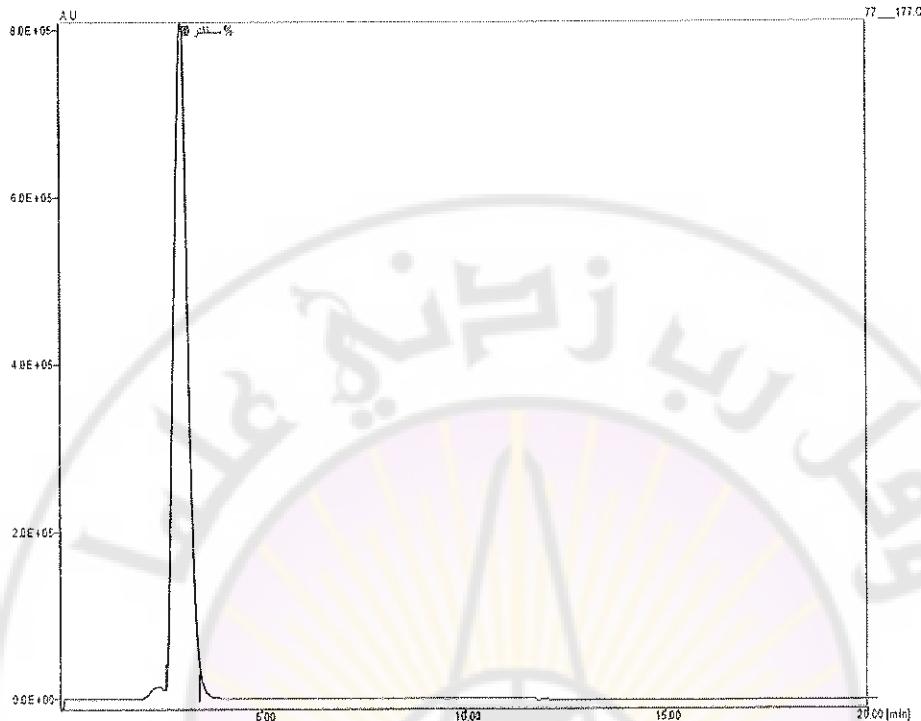
4 - إتيل-4-هيدروكسى بنزووات

5 - بروبيل-4-هيدروكسى بنزووات.

وللقم السابقة ارمان احتباس تقريرية: 13.9، 17.0، 24.2، 35.8، 49.9 د.

يوضح الشكل (2-2) كروماتوغرام فصل بنزووات الصوديوم وفق شروط طورت في مخبر الكرومتوغرافيا.

يعطي الشكل (3-2) مثال عن فصل محلول معياري وفق شروط قريبة جداً مما ذكر سابقاً.



شكل (2-2) يوضح كروماتوغرام فصل بنزواتات الصوديوم، وفق الشروط الآتية.

الطور المتحرك: ماء/أسيتونتريل (90/10) مع تحميض الوسط بحمض الفوسفور حتى $pH = 2.8$.

الكافش: فوق البنفسجي في الموجة 254 ن.م.

العمود: Nova-pak. C₁₈ (150×4.0 mm)

التدفق: 1مل/د

2-5- تعيين النترات والنتريت في الأغذية:

مقدمة حول طرق التحليل:

يعود مدخول الإنسان من النتريت إلى منتجات اللحوم الجافة أو المنضجة (50 مغ/كغ) وأنواع منتجات أخرى (100 مغ/كغ). ويبلغ المدخل اليومي المقبول (ADI) من النتريت، معبراً عنه كنتريت الصوديوم 0.1 مغ/كغ وزن الجسم.

تعتمد طرق متعددة تقليدية لتعيين النتريت على التنوّع والاختلافات الموجودة في طريقة الديازة، التي يتشكل فيها صبغة آزو، نتيجة تفاعل وضم ملح ديازونيوم مع أمين عطري أو فينول، وتعطي مركباً ملوناً يقاس لونه، وهذا أساس طرق التعيين اللوني للنتريت. وقد طورت طرق أكثر حداًثة وتعتمد على الطيف ولكن بعد إجراء إرجاع أنزيمي. كما تعد الطرق التي تعتمد على كروماتوغرافيا النبادل الأيوني والتحليل بالتدفق (Flow analysis)، والرحلان الكهربائي الشعري من الطرق الحديثة أيضاً.

يوجد في كتاب A O A C ثلاثة طرق رسمية لتعيين النتريت، وهي:

1- طريقة كزاليينول للنترات و النتريت في اللحوم.

2- الطريقة اللونية للنتريت في اللحوم المنضجة.

3- طريقة الإرجاع المعدلة لجونز للنترات و النتريت في الجبن.

وقد طورت وأسست الطرق السابقة خلال 20 سنة.

وتصف المعايير الأوروبية طريقتان لتعيين النتريت في منتجات اللحوم:

- 1- طريقة مطيفية: وتعتمد على معالجة مستخلص مائي للعينة المحللة سلفانيل أميد و N(1- نافتيل) إتيلين ثبائي أمونيوم ثبائي كلوريد لإعطاء لون أحمر يقاس بالمطيف لمعرفة كثافته في الموجة 540 نم، وهي الطريقة المتبعة هنا.
- 2- الطريقة الثانية: وتعتمد على كروماتوغرافيا التبادل الأيوني، وفيها تستخلص النترات والنتريت بالماء الساخن. ونزال المواد التي تعيق التحليل بالتنقية بالأسيتونتريل والترشيح. وينجز التحليل بالكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء وبنقنية التبادل الأيوني باستخدام مكشاف لأشعة فوق البنفسجية في الموجة 205 نم. وقد تم إجراء دراسة على هذه الطريقة ضمن برنامج تعاوني وتبين أن هذه الطريقة المعيارية الأوروبية (ENN12014-4) مناسبة تماماً لتعيين النتريت والنترات في مختلف أنواع الغذاء، (مثل منتجات اللحوم، والخضار، وأغذية الأطفال والأجبان).

تعيين النترات والنتريت بالقياس اللوني:

المبدأ:

إن مجال هذه الطريقة واسع، ويمكن تطبيقها على أغذية متعددة شريطة إيجاد طريقة فعالة لاستخلاص النتريت والنترات من العينة الغذائية. وفي هذه الطريقة المذكورة هنا ذكرت تفاصيل استخلاص النتريت والنترات من اللحوم ومن المحاليل الملحية التي تستخدم للإنضاج. والطريقة الواردة هنا هي تعديل لطريقة الديازرة لغريس Griess التي يولد فيها صباغ آزو من تفاعل ملح

ديازونيوم مع أمين عطري أو فينول. يتولد مركب الديازو من تفاعل سلفانيل أميد مع N-1-نافتيل إتيلين ثائي أمين (NED).

ترجع النترات سواء كانت في محلول الملحي أو في مستخلصات عينات اللحوم إلى النتريت بوجود الكادميوم. يقدر النتريت المتشكل لونيّاً بعد تحويلها إلى صباغ آزو كما ذكر أعلاه. ويعطي الفرق في تحديد النتريت قبل وبعد إرجاع النترات كمية النترات الموجودة بعد ضربها بعامل مناسب.

الكاشف:

1. أذب 10.6 غ فروسيانيد البوتاسيوم ثلاثة التمية في الماء ومدد حتى 100 مل (كاشف كاريز رقم -1).
 2. أذب 21.9 غ خلات الزنك ثائي التمية في الماء، وأضف 2 مل حمض خل تنجي ومدد إلى 100 مل بالماء (كاشف كاريز رقم -2).
 3. أذب 50 غ رباعي بورات ثائي الصوديوم عشاري التمية في 1 ليتر ماء.
 4. أذب 2 غ سلفانيل أميد في 800 مل ماء ساخن، رشح، وأضف 100 مل حمض كلور الماء المركز مع التحريك المستمر ومدد إلى 1 ليتر بالماء.
 5. أذب 0.25 غ N-1-نافتيل إتيلين ثائي أمين ثائي هيدروكلوريك في الماء، ومدد إلى 250 مل بالماء. احفظ في زجاجة بنية محكمة الإغلاق في البراد.
- أعد تحضير الكاشف أسبوعياً.
6. مدد 445 مل حمض كلور الماء المركز إلى 1 ليتر بالماء.
 7. محلول 20% كبريتات الزنك.

8. محلول عياري رئيسي من نتریت الصودیوم. أذب 1 غ نتریت الصودیوم في الماء و مدد إلى 100 مل.

9. محلول عياري من نتریت الصودیوم (يحضر يومياً). و يحضر بتمديد 5 مل من المحلول الرئيسي (في الرقم 8) إلى ليتر ماء.

10. مدد 20 مل حمض كلور الماء المركز إلى 500 مل ماء مقطر وأضف 10 غ ثانوي صودیوم ثانوي هیدروجين إتيلين ثانوي أمین $-N(NH_2)_2$ رباعي خلات ثانوي هیدرات مع 55 مل محلول أمونيا مركز. أكمل إلى ليتر بالماء وحافظ على $pH = 9.7 - 9.6$.

11. معدن الكادميوم.

الأجهزة:

- فرامة لحم
- كؤوس زجاجية
- دوارق حجمية
- مطیاف ضوئي في طول موجة 538 نم أو مقياس لوني مع مرشح أخضر هزار ميكانيكي.

أ- استخلاص النترات والنتریت من منتجات اللحوم:

خذ عينة مماثلة 200 غ من المنتج وجانسها بإمرارها في فرامة اللحم، زن بدقة 9-10 غ من العينة المتجلسة في كأس زجاجي واعجنها مع 5 مل محلول بوراكس (الكافش 3)، و 50 مل ماء مقطر ساخن (أعلى من 70°C). سخن على حمام مائي بدرجة الغليان مدة 30 دقيقة وبرد. انقل إلى دورق

حجمي 250 مل، وأضف بالتتابع مع المزج، 2 مل كاشف 1 أو 2 مل كاشف 2، وأكمل إلى العلامة بالماء المقطر. انتظر لمدة 30 دقيقة. أزل الطبقة السائلة الطوبية خلال ورق ترشيح خالية النترات للحصول على رشاحة صافية.

بـ-استخلاص النترات والنتريت من محلول الملحي:

(i) المحاليل خالية البروتين (محاليل الضغخ والغمر الملحبة): مدد 2 مل من محلول الملحي إلى 100 مل بالماء المقطر في دورق حجمي.

(ii) المحاليل الملحية المحتوية على بروتين: ضع 10 مل محلول ملحي في دورق حجمي 100 مل. وأضف 5 مل محلول بوراكس (كاشف 3) و1 مل محلول كبريتات الزنك 20% (كاشف 7). مدد إلى 100 مل بالماء المقطر في دورق حجمي.

جـ-التعبير: مدد 0، 5، 10، 15، 20 مل من الكاشف رقم 9 إلى 100 مل بالماء المقطر في دوارق حجمية، لتعطي محاليل تحوي على 0، 2.5، 5، 7.5، 10، 15، 20 مل نتريت الصوديوم. استعمل المحاليل السابقة في إنشاء منحنى معياري على الشكل التالي: انقل 10 مل من كل محلول سابق إلى دوارق حجمية سعة 100 مل منفصلة وأضف إلى كل منها نحو 50 مل ماء مقطر و10 مل كاشف 4 و6 مل كاشف 6. دع المحاليل في الظلام مدة 5 دقائق، وأضف 2 مل كاشف 5. دعها في الظلام مدة 3 دقائق. مدد إلى العلامة بالماء المقطر، وامزج جيداً، وقس الامتصاصية عند طول الموجة 538 ن.م.

دـ-تقدير النتريت: انقل 10 مل من الرشاحة الناتجة من منتجات اللحوم أو 10 مل من محلول الملحي الممدد إلى دورق حجمي سعة 100 مل. أضف نحو 50 مل

ماء مقطر و2مل كاشف 5 واتركه في الظلام مدة 3 دقائق. مدد إلى العلامة بالماء المقطر، وامزج جيداً، وقس الامتصاصية عند طول الموجة 538 ن.م.

٥- إرجاع النترات وتقديرها: ضع 5مل كاشف 10 مع القليل من الكادميوم الرطب (نحو 1غ) في دورق حجمي سعة 100مل. أدخل الكادميوم إلى الدورق عبر فم مع قليل من الماء وأضف 25مل من الرشاحة الناتجة من منتجات اللحوم أو من مستخلص محلول الملح في الفقرة بـ. أحكم الإغلاق وامزج لمدة 10 دقائق في الهزاز الميكانيكي. مدد بالماء المقطر إلى دورق حجمي سعة 100مل، واتبع خطوات الحصول على لون كما في حالة تقدير النترات في الفقرة دـ.

الحساب:

رسم المنحنى المعياري برسم الامتصاصية مقابل تركيز النترات (مخ/100مل) المبين بالجدول (2-6).

اقرأ من هذا المنحنى المعياري كمية النترات المقابلة لامتصاصية العينة المختبرة. إذا تجاوزت قراءة العينة امتصاصية محلول المعياري الأعلى تركيزاً استعمل حجماً أصغر من محلول النترات وأعد القياس (وعدل الحسابات وفق التمديد).

احسب محتوى النترات في منتجات اللحوم أو محلول الملح باستعمال المعادلات التالية وبافتراض أن:

A = التركيز الحاصل عليه من المنحنى المعياري، مقدراً مع نترات في 100مل.

W = وزن العينة المستخلصة بالغرام.

(أ) النتريت في اللحوم:

$$\text{جزء بالمليون نتريت في اللحوم} = \frac{25000}{W} \times A$$

(ب) النتريت في المحاليل الملحية الخالية من البروتين:

$$\text{جزء بالمليون نتريت في محلول الملح} = \frac{10000}{2} \times A$$

(ج) النتريت في المحاليل الملحية الحاوية على البروتين:

$$\text{جزء بالمليون نتريت في محلول الملح} = 1000 \times A$$

(د) النترات في اللحوم:

$$\text{nitrat total (جزء بالمليون) في اللحوم بعد إرجاع النترات} = \frac{50000}{W} \times A$$

$$\text{nitrates في اللحوم (جزء بالمليون)} = [(\text{nitrat total (جزء بالمليون)}) \text{ بعد إرجاع النترات}] - (\text{nitrat قبل إرجاع النترات (جزء بالمليون)}) \times \frac{62}{46}$$

(هـ) النترات في المحاليل الملحية الخالية من البروتين:

$$\text{nitrat total (جزء بالمليون) في محلول الملح بعد إرجاع النترات} = \frac{20000}{2} \times A$$

$$\text{nitrates (جزء بالمليون) في محلول الملح} = [(\text{nitrat total (جزء بالمليون)}) \text{ بعد إرجاع النترات}] - (\text{nitrat قبل الإرجاع (جزء بالمليون)}) \times \frac{62}{46}$$

(و) النترات في المحاليل الملحية المحتوية على البروتين:

$$\text{nitrat total (جزء بالمليون) في محلول الملح بعد إرجاع النترات} = 2000 \times A$$

النترات (جزء بالمليون) في محلول الملحي = [(النتريت الكلي (جزء بالمليون)

$$\frac{62}{46} \times (\text{nitrat before dilution (ppm)})$$

جدول (6-2). العلاقة بين عدد الميلي ليترات من محليل النتريت المعيارية وتركيزها في

المحلول النهائي وذلك لتقدير النتريت والنترات بالطريقة اللونية

عدد ملغرمات النتريت في 100 مل	عدد ميليلترات محلول الممدة إلى 100 مل
0	0
0.01	2
0.025	5
0.05	10
0.075	15
0.10	20

(استخدم 10 مل من كل محلول)



الفصل الثالث

مضادات الأكسدة

ANTIOXIDANTS

٣-١- مقدمة حول مضادات الأكسدة:

مضادات الأكسدة مواد مضافة تضاف خاصة إلى الزيوت والدهون لإعاقة حدوث الترذخ التأكسدي. توجد مضادات أكسدة طبيعية في الأغذية ولكنها غير كافية لتأخير حدوث الأكسدة وبالتالي الترذخ لفقد جزء كبير منها خلال عمليات التكرير والتصنيع. ومن أهم مضادات الأكسدة الطبيعية توکوفيرولات وحمض اسکوربیک واللیستین ومرکبات الفینول المتعددة. تتضم التعليمات الخاصة بالغذاء إضافة مضادات الأكسدة الصناعية إلى أنواع الأغذية.

تحدد معظم الدول أنواع وكميات مضادات الأكسدة الصناعية، وتتفق معظمها أن الحدود العظمى لمضادات الأكسدة الصناعية سواء أكانت منفردة أو على هيئة مزيج يجب أن لا تزيد على 200 ج ب.م.

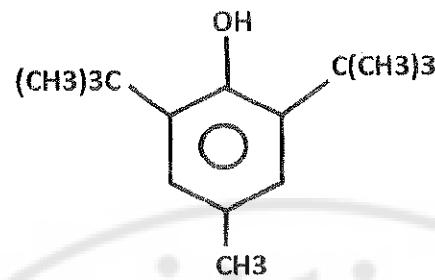
من المهم أولاً للإمام بتعريف واضح لمضادات الأكسدة وذلك للتمييز بينها وبين المضافات الأخرى التي تستخدم في الأغذية عامة، وبصفة خاصة المواد الحافظة. وتنبعاً للوائح الغذائية البريطانية التي صدرت عام 1987 فإن التعريف القانوني لمضادات الأكسدة هو: مضاد الأكسدة عبارة عن آية مادة

قادرة على منع أو تأخير أو وقف ترנخ الغذاء وكذا تدهور نكهة الغذاء نتيجة الأكسدة.

وعلى الرغم من أن تعريف مضاد الأكسدة السابق يتضمن قدرة مضاد الأكسدة على منع الأكسدة إلا أن جميع مضادات الأكسدة المتاحة لا تمنع الأكسدة ولكنها تؤخرها فقط، أي أن استخدام مضادات الأكسدة تطيل من فترة تداول الغذاء دون أن تعيده مظاهر الترنخ التأكسدي. ويتحدد هذا التأثير بعدها عوامل أهمها: تركيب الغذاء، المعاملات التصنيعية المستخدمة، نوع وتركيز مضادات الأكسدة في الغذاء، ونوع العبوة المعبأ فيها، وظروف تخزين الغذاء، فإذا أمكن التحكم في هذه الظروف فإنه يمكن إطالة فترة تداول الغذاء بشكل يبدو معه وأن الأكسدة قد منعت.

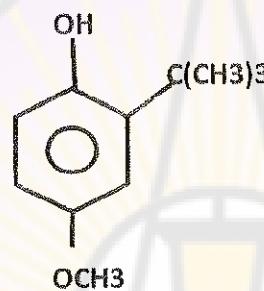
3-2- مضادات الأكسدة الصناعية:

مضادات الأكسدة الصناعية المسموح إضافتها عادةً إلى الغذاء في معظم الدول هي الغلات، بوتيل هيدروكسي أنيسول (BHA)، بوتيل هيدروكسي تولوين (BHT)، رباعي بوتيل هيدروكوبينون (TBHQ)، اسكوربيل بالميتات. أحد الخصائص المهمة لمضادات الأكسدة هي فعاليتها في الزيوت وهي بتركيز ضئيلة إلا أن تكرير الزيوت يزيل جزءاً من مضادات الأكسدة الطبيعية مما يعرض الزيوت النباتية المكررة للأكسدة والترنخ، وهذا ما يدعو إلى إضافة مضادات الأكسدة الصناعية. ويمكن القول عامةً أن ما يبقى في الزيوت المكررة من مضادات الأكسدة الطبيعية مثل التوكوفيرولات لا يتجاوز 100 جزء بالمليون.



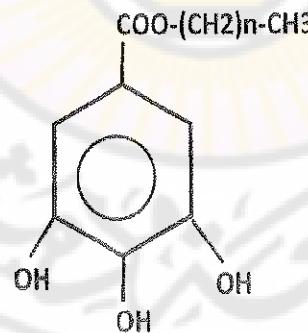
بوتيل هيدروكسي تولوين BHT
(C₁₅H₂₄O)

الوزن الجزيئي 220.35



بوتيل هيدروكسي أنيسول BHA
(C₁₁H₁₆O₂)

الوزن الجزيئي 180.25

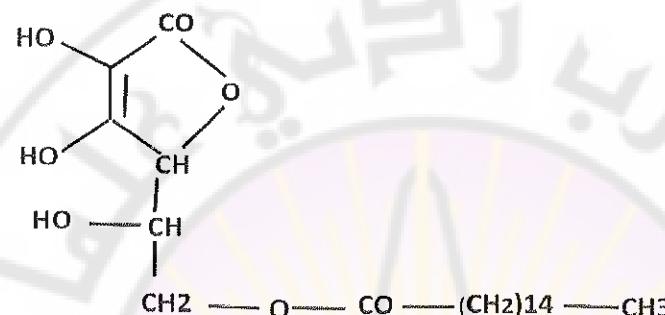


الصيغة العامة للغازات

n=2 بروبيل غازات

n=7 أوكتيل غازات

n=11 دوديسيل غازات



أسكوربيل بالميتاب

: (BHA) Butylated Hydroxy Anisole

يتميز مركب BHA بذوبانه العالية في الدهون الحيوانية والنباتية وهو من مضادات الأكسدة ذات الكفاءة العالية جداً مع الدهون الحيوانية. ويؤخذ على هذا المركب نطايره بدرجة قلي الزيت. ولذلك قد يفقد في أثناء عمليات تصنيع الأغذية أو تخزينها. وعادةً ما يكون تأثير BHA في الزيوت النباتية أقل وضوحاً وذلك لاحتواء هذه الزيوت على كميات مناسبة من التوكوفيرولات الطبيعية. وتتطبق هذه الظاهرة على الزيوت التي يتم تخزينها دون إجراء أية معاملات لاحقة، بيد أن الزيوت إذا ما استخدمت في العمليات التصنيعية كعملية القلي العميق فإن كفاءة BHA تعتمد على ظروف القلي، ولكنه يؤدي دوراً في ثبات الناتج النهائي.

بوتيل هيدروكسي تولوين (BHT) Butylated Hydroxy Toluene

يتشابه هذا المركب BHT مع BHA بدرجة كبيرة جداً من حيث الفعل المضاد للأكسدة في الزيوت والدهون غير أن BHT لا يماثل BHA في ذوبانه.

ويعتبر BHT كمضاد أكسدة ذي كفاءة عالية في الدهون الحيوانية ولكن كفاءته تقل كثيراً في الزيوت النباتية. وفي مقدور BHT تحمل درجات الحرارة العالية التي تستخدم في عمليات التصنيع الغذائي ولكنه لا يضاهي في هذا التأثير مركب BHA ولا يظهر BHT أي فعل تآزر مع الحالات ولكنه يظهر هذا الفعل مع BHA. يتطاير BHT في البخار بمعدل يفوق BHA، وعادةً ما يضاف BHT في مزيج مع BHA.

استرات الغالات Gallate Esters

تسمح اللوائح الانجليزية باستخدام كل من بروبيل، أوكتيل، ودوبيسيل غالات، ولكن تفرد بروبيل غالات بانتشار استعمالها، وتعد مضادات أكسدة فعالة جداً لكل من الدهون الحيوانية والزيوت النباتية على السواء.

ويعبّر على مشتقات الغالات أنها أقل ذوباناً في الدهون والزيوت وذلك مقارنةً مع BHT و BHA، كما يعبّر عليها حساسيتها لدرجات الحرارة فلا تحمل درجات الحرارة المستخدمة في معظم عمليات الطهي ولكن ثباتها الحراري يزداد بزيادة وزنها الجزيئي، ولذلك نرى أن البروبيل غالات أقل مشتقات الغالات تحملأً للحرارة، في حين أن دوبيسيل غالات أكثرها تحملأً للحرارة.

وعادةً يتم استخدام الغالات في مزيج مع BHA، حيث تعطي الغالات ثباتاً ابتدائياً جيداً للزيوت النباتية، في حين أن BHA يضمن فترة تخزينية جيدة للناتج المطبوخ.

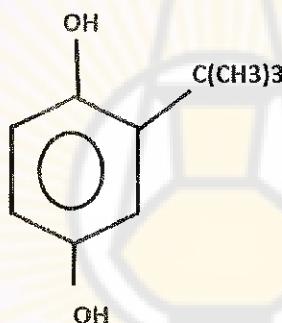
وطبقاً للوائح الغذائية يسمح عادةً باستخدام تركيز من استر الغالات أقصاه 100 جزء بالمليون بالإضافة إلى تركيز أقصاه 200 جزء بالمليون من BHA. من الشائع استخدام بروبيل غالات في صورة محلول وذلك للتغلب على مشكلة انخفاض الذوبانية.

ومن عيوب استخدام جميع مشتقات الغالات أنها تكون مركبات زرقاء مسودة مع الحديد وفي وجود الماء. تعتبر مشتقات الغالات منخفضة الوزن الجزيئي الأسوأ من هذه الوجهة مقارنة بالمشتقات ذات الأوزان الجزيئية الأعلى ويمكن الحد من تكوين مثل هذه المركبات الملونة عن طريق استخدام مواد مخلبية مناسبة مثل حمض سترريك، وظاهرة تكوين مركبات ملونة في وجود الغالات تعتبر من المشاكل الخطيرة في تخزين الزيوت ولاسيما إذا تم التخزين في براميل معدنية اعترافها التآكل حيث تترسب الغالات إلى القاع وتتفاعل مع الحديد مكونة مركبات ملونة، وعندها ينصح باستخدام مضادات أكسدة أخرى عوضاً عن الغالات لحماية الزيوت في أثناء التخزين.

بيوتيل هيدروكينون (TBHQ) Tert -Butyl Hydro Quinone

مركب TBHQ آخر مضادات الأكسدة المصنعة كيميائياً التي سمح باستخدامها في الولايات المتحدة الأمريكية، غير أنه لم يسمح باستخدامها بعد في كثير من الدول الأخرى.

يعد TBHQ من مضادات الأكسدة عالية الفعالية بالنسبة للزيوت النباتية بما فيها غير المشبعة. مركب TBHQ أكثر فعالية من الحالات، ويتفوق عليها أيضاً بذوبانه في الزيوت والدهون وبأنه لا يكون مركبات ملونة في وجود الحديد في الوسط المائي، أضف إلى ذلك قدرته على تحمل درجات حرارة عالية كما أنه أقل تطايرًا من BHA و BHT.



TBHQ

يماثل TBHQ مركب BHA في فعله المضاد للأكسدة بالنسبة للمنتجات المعرضة للقلي الجائر (المحمرة). وقد تبين أن تأثير TBHQ كمضاد أكسدة يكون أكثر وضوحاً في حالة تخزين الزيوت الخام كما أنه يحسن من جودة الزيوت خلال عمليات التكرير وإزالة الرائحة.

وننوه إلى أن مضادات الأكسدة الأربع التي جاء شرحها هنا تعتبر أهم مضادات الأكسدة الصناعية وهناك غيرها من مضادات الأكسدة الأخرى التي تداولتها البحوث المنشورة، ولكنها لم تصل بعد إلى مرحلة الموافقة على استعمالها في غذاء الإنسان.

3-3- استخلاص مضادات الأكسدة من الأغذية:

خذ 10 غ زيت أو مصهور الدهن أو الأغذية الأخرى إلى دورق مخروطي سعة 100 مل. أضف 25 مل ميثanol (95%) وامزج العينة بشدة، ارفعها إلى حمام مائي بالدرجة 45°س.

لاحظ انفصال الطبقات. صب الطبقة العليا في دورق معياري 50 مل، ثم أضف 20 مل ميثanol (95%) إلى الدورق المخروطي واستخلص ثانية مضادات الأكسدة وفق الأسلوب السابق. خذ الطبقة العليا وأضعفها إلى الدورق المعياري وأكمل الحجم بالميثanol إلى العلامة. أضف 1 غ كربونات الكالسيوم إلى الخلacea الميثانولية لمضادات الأكسدة، وخض الدورق ورشح المزيج، مهملاً الدفعـة الأولى من الرشاحة.

تستعمل بقية الرشاحة لتميـز وتعـين مضـادات الأـكسـدة الرئـيسـية (ثلاثـة أنـواع منـ الغـالـات + TBHQ + BHT + BHA). لا يستخلص بوتيل هيدروكسي تولوين بالطريقة السابقة بـكاملـه بل يستخلص حوالي نصف الكمية الموجودة منه في الزيـت.

3-4- طرق تعين الغالات وبوتيل هيدروكسي أنيسول وبوتيل هيدروكسي تولوين في الزيوت و الدهون:

توجد طرق مطابقة تعتمد على تشكيل معقد لوني مع مضاد الأكسدة المستخلص من الزيوت أو الدهون. منها طريقة تقدير BHA التي تعتمد على تفاعل جليس مع حلقة الكوينون الناتجة من أكسدة مضاد الأكسدة. أما تقدير BHT فيعتمد على التفاعل مع ثنائي أنيسيدين. وتبقى الغالات التي تعطي بسهولة ثلوناً أزرق عند تفاعಲها مع كبريتات الحديد الشادية أو مع طرطرات الحديد.

اعتمدت هذه الطرق اللونية في فترة سابقة كطرق رسمية، إلا أنها الآن قد استبدل معظمها بالطرق الكرومانتوجرافية، سواء أكانت تعتمد على تحضير مشتقات لمضادات الأكسدة لحقنها في الكرومانتوجرافيا الغازية أو الحقن المباشر لمستخلص العينة الغذائية بعد تنظيفها وتركيزها باستخدام تقنية الاستخلاص في الطور الصلب (SPE) في جهاز الكرومانتوجرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC).

3-4-1- تعين الغالات في مستخلص الميثانول:

المبدأ: إن حلقة الفينول الموجودة في مضاد الأكسدة تتآكسد إلى حلقة كويينون، التي تتحدد بدورها مع أيون الحديد (III) معطيةً معقداً أزرق اللون. في هذا التحليل اللوني يقوم مضاد الأكسدة بدور عامل مرجع، كعادته دائمًا، حيث يقوم بإرجاع أيون الحديد الثلاثي إلى أيون حديد ثنائي، وفي المقابل تتآكسد حلقة

الفينول في مضاد الأكسدة إلى كوبالتون (شرح مفصل مع المعادلات في الملحق .(5)

الковاشف: كبريتات الحديد (II) النشادية $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. أو طرطرات الحديد، أسيتون.

طريقة العمل:

خذ 10 مل من مستخلص العينة الميثانولي في أنبوب اختبار ثم أضف 1 مل أسيتون و 10 مل كبريتات الحديد النشادية، امزج لمدة دقيقة، دع جانب المزيج لمدة نصف ساعة، اقرأ الامتصاصية في الموجة 580 نم مستعملًا شاهدة مكونة من 10 مل مستخلص عينة مع 1 مل أسيتون.

الحساب:

$$\text{الامتصاصية} \times K = \text{مغ غلالات في 2 غ عينة}$$

حيث $K = 0.622$ عند وجود بروبيل غالات

$= 0.758$ عند وجود أوكتيل غالات

$= 0.952$ عند وجود دوديسيل غالات

يمكن بدلاً من استعمال الثوابت السابقة في حساب كمية الغلالات في العينة الغذائية اللجوء إلى الاستفادة من إنشاء منحنٍ معياري للغالات ثم مقارنة الامتصاصية التي تعطيها العينة مع نتائج المنحنى المعياري. والفقرة التالية تبين كيف يمكن إنشاء منحنٍ معياري.

إنشاء منحنٍ معياري للغالات:

نحضر محلولين معياريين، الأول يحضر بإذابة 10 مل من أحد مشتقات الغالات في 100 مل ميثانول، أما المحلول الثاني فيحضر بتمديد 5 مل من المحلول الأول إلى 100 مل بالميثانول.

طريقة العمل:

خذ خمسة أنابيب ورقمها من الواحد حتى الخامسة وضع في الأنابيب الأول 1 مل من المحلول المعياري الثاني للجالات وفي الأنابيب الثاني 2 مل وفي الثالث 3 مل وفي الرابع 4 مل والأنبوب الخامس يترك كشاهد دون إضافة الغالات. ثم أضاف إلى الأنابيب من الأول إلى الخامس الكميات الآتية من الميثانول 8، 7، 6، 5، 9 مل، وبعدها أضاف إلى جميع الأنابيب 1 مل أسيتون. أضاف ما يعادل 10 مل من كل أنبوب من كبريتات الحديد النشارية، خض الأنابيب لمدة دقيقة وضعها جانباً لمدة نصف ساعة حتى يتطور اللون، واقرأ شدة اللون بالمطياف الضوئي على الموجة 580 نانومتر مستعملاً الشاهد لضبط الجهاز على الصفر وعلى المئة.

ويلخص الجدول التالي طريقة عمل المنحنى المعياري:

قراءة المطياف	5	4	3	2	1	
	-	4	3	2	1	محلول معياري (مل)
	9	5	6	7	8	ميثانول (مل)
	1	1	1	1	1	أسيتون (مل)
	10	10	10	10	10	كبريتات الحديد النشارية (مل)
	0.4	0.3	0.2	0.1		تركيز الحالات (مل/مل)

رسم الخط البياني الذي يربط العلاقة بين الامتصاصية وتركيز الغالات.

يمكن رسم العلاقة السابقة إما باستعمال الأوراق الميليمترية، و اختيار محور السينات (المحور الأفقي) للتركيز ومحور العينات (المحور العمودي) لقراءات الامتصاص، أو باستعمال برنامج اكسل في الحاسوب، الذي يقوم بعد إدخال كل قراءة وما يقابلها من امتصاص برسم المنحني الذي يربط العلاقة بين الامتصاص والتركيز، كما يمكن بهذا البرنامج حساب معادلة الخط المستقيم للمنحني البياني بالإضافة إلى حساب ثوابت المعادلة وخاصة R^2 معامل التعيين والميل ونقطة التقاطع.

3-4-2- تعين بوتيل هيدروكسى أنيسول في مستخلص الميثانول:

الكافش:

1. كافش جليس: مكون من إذابة 10 مل من 2،6-ثنائي كلورو - بارا بنزرو كويون 4- كلورو ايمين في 100 مل ميثانول 95%.
2. محلول بوراكس: 0.5 غ بوراكس في 100 مل ماء.
3. حضر محلول معياري من بوتيل هيدروكسى أنيسول في الميثانول 95% تركيزه 250 ميكروغرام في 10 مل.

طريقة العمل:

خذ إلى دورق مخروطي صغير (50 مل) 2 مل من مستخلص الميثانول (الموجود في الفقرة 3-3) مستعملاً الماصة مع 2 مل ميثانول 95% ثم أضف 8 مل محلول بوراكس. بعدها أضف 2 مل كافش جليس، امزج واترك المزيج جانباً لمدة 15 د. أكمل الحجم إلى 20 مل بالميثانول، امزج واقرأ امتصاصية

اللون الأزرق المكون مستعملاً الماء لضبط صفر الجهاز في الموجة 610 نم
. (A)

حضر شاهدة من الكواشف المستعملة على أن تضع الميثانول بدلاً من
مستخلص العينة واقرأ الامتصاصية (B).

خذ 2 مل من محلول المعياري BHA، وأضف إليه جميع الكواشف
السابقة التي أضافتها لمستخلص العينة حتى يتطور اللون الأزرق فيه، ثم سجل
الامتصاصية (C).

احسب تركيز BHA في 2 مل مستخلص ميثانول من المعادلة:

$$\frac{A-B}{C-B} \times 50 = \mu\text{g BHA / 2 ml extract}$$

3-4-3- تعين بوتيل هيدروكسي تولوين في مستخلص الميثانول:

كافش ثائي أنيسيدين:

أذب 250 ملخ أورثو ثائي أنيسيدين في 50 مل ميثانول. خض المزيج
لمدة 5 دقائق مع 100 ملخ كربون فعال ثم رشح وأضف إلى 40 مل من الرشاحة
الصافية 60 مل حمض كلور الماء عياري. حضر شاهد من الكواشف المستعملة
ولتكن حديثة التحضير واحمها من الضوء.

طريقة العمل:

أضف إلى قمع استخلاص حجمه 100 مل، 5 مل مستخلص الميثانول
(خذه بالماصة) و 5 مل كافش ثائي أنيسيدين،أغلق قمع الاستخلاص وامزج
محتوياته بحذر ثم أضف 0.8 مل محلول نتريت الصوديوم 0.8% ثم امزج ثانية
وبعد 5 دقائق أضف 4 مل كلوروفورم واستخلص بوتيل هيدروكسي تولوين

باللحسن لمدة 30 ثانية. دع المحلول جانبياً لمدة بضع دقائق حتى يتم انفصال الطبقتين. خذ مقياساً مدرجاً 10 مل وضع فيه 2 مل ميثانول نقى ثم أضف إليه من قمع الاستخلاص (الطبقة السفلية في قمع الاستخلاص) 4 مل كلوروفورم وأمزج جيداً. اقرأ بسرعة الامتصاصية للمحلول الوردي بالمواجة 520 نانومتر مستعملاً اسم خلية زجاجية وحضر مزيجاً مؤلفاً من 2 مل ميثانول و8 مل كلوروفورم واستعمله كعينة شاهدة. قارن النتيجة مع الطريقة المعتمدة واضرب ناتج قراءة الامتصاصية بـ 2.

المحاليل المعيارية - طريقة تحضيرها:

حضر محلولاً يحتوي على 50 مغ بوتيل هيدروكسي تولوين في 100 مل ميثانول. خفف حجم المحلول المحضر 100 مرة بالميثانول ليعطى محلولاً قياسياً تركيزه 5 ميكروغرام/مل. ثم خفف مرة أخرى باستعمال 50% ميثانول حتى تحصل على سلسلة من المحاليل القياسية تركيزها بين 1-5 ميكروغرام/مل، ثم خذ 10 مل من كل محلول قياسي مع 2 مل كاشف ثنائي أنيسيدين وتابع طريقة العمل بدءاً من سد قمع الاستخلاص وحتى نهاية طريقة العمل.

ملاحظات:

(1) يجب أن تكون جميع الأدوات الزجاجية عائمة اللون أو أن تحمى من الضوء.

(2) من الضروري ضرب قراءة الامتصاصية بـ 2 لأن نصف كمية بوتيل هيدروكسي تولوين الموجودة في العينة قد استخلصت بالميثانول 95%.

يمكن التأكيد من النتائج المشكوك فيها بفصل مضادات الأكسدة بالجرف بالبخار.

3-4-4- تعين سبعة مضادات أكسدة فينولية باستخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC) :
مجال الطريقة:

تشمح هذه الطريقة بتعيين سبعة من مضادات الأكسدة الفينولية في الزيت أو الدهن، ومركبات الفينول التي يمكن فصلها بهذه الطريقة هي :

- 1- مشقات الغالات (DG, OG, PG).
- 2- ثلاثي هيدروكسي بوتيروفينول (THBP).
- 3- رباعي بوتيل هيدروكوبينون (TBHQ).
- 4- حمض نورهيدروغواربيتك (NDGA).
- 5- بوتيل هيدروكسي أنيسول (BHA).
- 6- ثائي بوتيل-4- هيدروكسي ميتيل فينول (IONOX-100).
- 7- بوتيل -4-هيدروكسي تولوين (BHT).

المبدأ:

يذاب الزيت أو الدهن في الهكسان، وتفصل مضادات الأكسدة بإضافة أسيتونتريل، ثم بعدها يجري تركيز مستخلص الأسيتونتريل تحت التفريغ، ينقل ويمد بالإيزوبروبيل ليعطي نسبة إيزوبروبيل-أسيتونتريل (1:1 ح/ح) بعدها تحقن عينة إلى العمود التحليلي، وتفصل مضادات الأكسدة السبعة بتمرير طور

سائل بتنقية تدريجية، تبدأ 30% ماء في الأسيتونتريل إلى 100% أسيتونتريل على أن يحويان 5% حمض خل.

العمود: الحشوة Lichrosorb R P – 18 , 10 um

(250 × 4.2 mm)

الطور المتحرك: A. %5 AC + %30 H₂O + %65 Acetonitrile

B. %5 AC + %95 Acetonitrile

تدفق الطور السائل: 2 ml / min

يوضح الشكل (1-3) كروماتوغرام فصل محلول معياري من مضادات

الأكسدة، تركيز كل مضاد أكسدة 0.2 ميكروغرام.

القمة 1 PG=1

القمة 2 THBP=2

القمة 3 TBHQ=3

القمة 4 NDGA=4

القمة 5 BHA=5

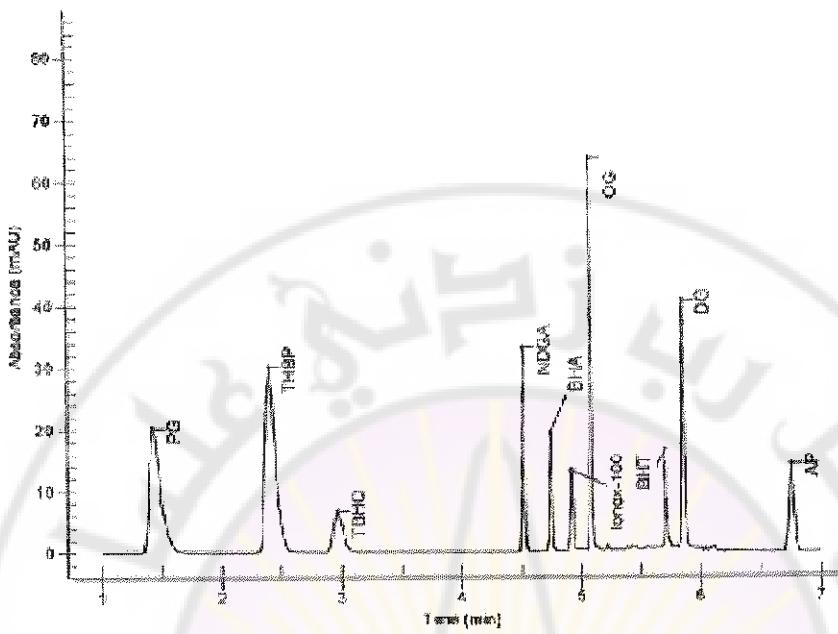
القمة 6 Ionox-100=6

القمة 7 OG=7

القمة 8 BHT=8

القمة 9 DG=9

القمة 10 AP=10



شكل (1-3) كروماتوغرام فصل محلول معياري من مضادات الأكسدة



الفصل الرابع

تحليل مواد النكهة والطعم

Flavours Analysis

٤-١- مقدمة حول تحليل مواد النكهة والطعم:

لا شك أن النكهة و الطعم خاصتان رئيسيتان للحكم على مدى جودة وقبول أي غذاء. ومكونات مواد النكهة و الطعم متعددة، كثيرة، ومعقدة كيميائياً، لذلك لا غرابة أن نجد أن المعرفة بالمواد التي تؤدي دور مواد نكهة، سواء أكانت متطابقة أو شبه ذلك، بالإضافة إلى الجزيئات التي تتفاعل مع برامع التذوق على سطح اللسان والتي لها بنيات فراغية كيميائية في الأبعاد الثلاثة تسمح لها أن تتدخل مع خلايا برامع التذوق و تعطي الطعم الخاص بها، كل ذلك لم يكن ممكناً لو لا التقدم الذي حصل في تقانات التحليل الكيميائي. وفي الواقع تشكل مركبات النكهة والمركبات التي تعزز النكهة مجموعة مركبات عضوية مختلفة عن بعضها البعض، بعضها طبيعي، وبعضها صناعي، وتستخدم هذه المركبات بكميات زهيدة لإحداث النكهة المميزة لها. ونظراً لأن مركبات النكهة تتصرف بالصفتين السابقتين (تنوع الوظيفة العضوية، وجودها بكمية زهيدة) فإن تقانات التحليل الحديثة هي التي تسمح في توضيح بنياتها الكيميائية وبفصلها وتمييزها، وهي تقانات معيارية متعارف عليها ومستعملة بكثرة في دراسة هذه المواد، مثل NMR، IR، UV، GC، MS، GLC، HPLC، أو

تقانات مجتمعة مثل HPLC/ MS، HPLC /MS، FTIR /GC، GC/MS، MS، مع تقنيات ثانوية أخرى.

توجد مواد النكهة عموماً مبعثرة في نظم متعددة الأطوار، ولذلك يستخدم في تحليلها نظام أثبت فعاليته وهو التحليل بالクロماتوغرافيا الغازية مع العمود الشعري المفرون بالمطياف الكثلي.

يتم تحليل مركبات النكهة والطعم للأغراض الآتية:

✓ لتمييز ومعرفة المكونات الجديدة التي يمكن أن توجد في المواد الخام الطبيعية.

✓ لتعيين مدى ثبات الخصائص الوظيفية للمواد الأولية المستخدمة في تكوين النكهات.

✓ تنفيذ التعليمات القانونية وتطبيقها ومراقبة تطبيقها.

✓ لمقارنة ومضاهاة وجود نكهات في منتجات الأغذية.

✓ في المساعدة على إيجاد وتطوير نكهات جديدة ومفاهيم غذائية جديدة ونتيجة لوجود الجزيئات المشابهة والمنابلات التي تحدث في المواد الطبيعية والكيماويات الصناعية الخاصة بالرائحة تقدمت صناعة العطور تقدماً كبيراً، إلا أن تطبيقها في الأغذية لم يذهب إلى المدى الذي وصلت إليه في صناعة العطور. النكهة التجارية هي عادةً مزيج من مواد الأروما، الزيوت العطرية، الأصماع، الراتنج، عوامل استحلاب، عوامل ثمانة، وبصورة لا تزيد فيها عادةً نسبة المادة الأولية الفعلية للنكهة عن 1%.

لدى استخدام التحليل بالأجهزة تقوم بالمراحل الآتية:

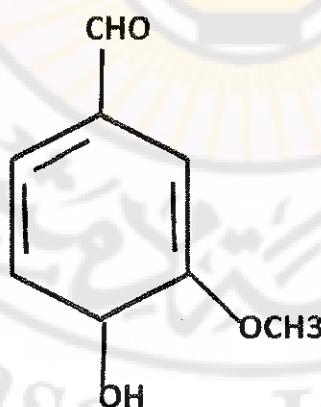
- ✓ عزل، تركيز، فصل مواد النكهة.
- ✓ كشفها، تمييزها.

لذلك نجد أن الجرف بوجود بخار الماء، الامتصاص، التقطير تحت التفريغ بوجود CO_2 ، العصر، تكوين مشتقات، جمع مركبات النكهة باستخدام الفراغ الرأسي، إزالة الغازات تحت التفريغ الشديد، التجزأة والفصل بالمذيبات، التصعيد بالفراغ، هي كلها تقنيات تستخدم لعزل النكهات وموادها.

4-2- تعين الفانيلين بالمطياف فوق البنفسجي:

مقدمة:

الفانيلين (Vanillin) من أكثر مركبات الطعم والنكهة انتشاراً وخاصة في منتجات الألبان كالمثلجات اللبنية، ولذلك يصنع بكميات كبيرة وجميع ما نستعمله في سوريا هو الفانيلين المصنع، وليس الفانيليا (Vanillia) الآتية بالاستخلاص من القرون الطبيعية. ورغم ذلك فإن التحضيرات التجارية تخفف بمواد مائة غذائية، حتى تغدو المادة الفعالة (الفانيلين) فيها بسيطة.



(4- هيدروكسي-3-ميتوкси-بنز الدهيد) Vanillin

تضاف الفانيلين أو إنجل فانيلين أو الفانيليا في المشروبات غير الكحولية والحلوى والهلامات والمنتجات المخبوزة والشراب والأغطية السكرية بنسبة بين

630 ج ب م

مبدأ طريقة تعين الفانيلين:

تعتمد هذه الطريقة التي يستخدم فيها المطياف الضوئي في المجال فوق البنفسجي على أن المادة الفعالة في المستحضرات وهي الفانيلين والتي تذاب بالميثanol تمتضض الضوء فوق البنفسجي في طول الموجة 308 ن.م. وبمقارنة امتصاص العينة مع امتصاصية محلول معياري معروف تركيزه يمكن حساب تركيز الفانيلين في العينة، على أن يتم تحضير العينة المختبرة والمحلول المعياري بالطريقة نفسها. وهذه الطريقة معتمدة في كتاب دستور كيماويات الأغذية (Food Chemical codex).

طريقة العمل:

1 - المحاليل المعيارية:

المحلول المعياري الأولي:

زن بدقة 40 مغ من الفانيلين النقي ووضعها في دورق معياري 100 مل، وأضف الميثanol حتى العلامة.

خذ 2 مل من محلول المعياري الأولي، ووضعه في دورق معياري سعته 100 مل، وإكمل بالميثanol إلى العلامة الموجودة على عنق الدورق، امزج.

المحلول المعياري الثاني للعمل:

خذ بماصة دقيقة 0.5، 1، 1.5، 2، 2.5 مل من محلول المعياري الأولي وضعها في دوارق معيارية سعة كل منها 100 مل وأكمل بالميثانول، حرك وامزج.

إنشاء المحلول المعياري:

اقرأ الامتصاصية لكل من المحاليل المعيارية الخمسة السابقة ضد الشاهد المكون من الميثانول في الموجة 308 ن.م. ثم ارسم العلاقة بين التركيز (ميکروغرام/مل) والامتصاصية. أي بين تركيز الفانيلين في المحاليل المعيارية وهو: 2، 4، 8، 6، 10 ميكروغرام/مل وبين القراءات التي يعطيها المطیاف. هل تحصل على خط مستقيم يمر بالمركز؟.

2 - تحضير العينة المختبرة:

- 1) زن بدقة 40 ملجم من مستحضر الفانيلين المتجانس، ووضعه في دورق معياري 100 مل وأكمل بالميثانول إلى العلامة.
- 2) اقل 2 مل من محلول السابق إلى دورق 100 مل وأكمل الحجم بالميثانول.
- 3) بعد تثبيت طول الموجة على 308 ن.م واستقرار مصباح الديبوريوم اقرأ امتصاص العينة في خلية كوارتز ضد شاهد من الميثانول.
- 4) احسب كمية الفانيلين مقدرة بالميكروغرام والتي صيغتها العامة $C_8H_8O_3$ ، في

العينة المختبرة، بتطبيق المعادلة:

$$5 C \text{ (Au/As)} = \text{مع في العينة التي أذيبت من المستحضر}$$

C = تركيز محلول المعياري (ميکروغرام/مل).

Au = امتصاصية العينة المجهولة.

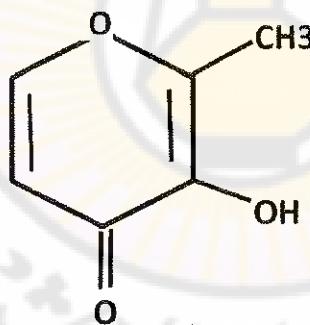
As = امتصاصية محلول المعياري.

4-3- تعين المالتول وإتيل مالتول:

مركبات المالتول وإتيل مالتول كلاهما من معززات الطعم الحلو ولذلك يستخدما كمادتين مضادتين في العصائر وسائر الأغذية ذات الطعم والمذاق الحلو.

وتصلح الطريقة بأجزائها المتعددة لتعيين كل من المالتول ومشتقه إتيل مالتول في الأغذية التي يضافان إليها.

يستخدم المالتول لتقوية النكهة في المشروبات الغازية والمربي والهلامات وعصائر الفاكهة وبعض الأغذية السكرية. وهذا المركب يقوى (يعزز) الحلاوة في الأغذية عندما يضاف بتركيز 5-75 ج ن م، مما يؤدي إلى خفض كمية السكر اللازم للتحلية بمعدل 15% مع المحافظة على نفس درجة الحلاوة.



(3-هيدروكسي-2-ميتشيل-بران-4-أون) Maltol

المبدأ: تعتمد طريقة التعيين الواردة هنا على ما ذكر في كتاب دستور كيماويات الغذاء، ويستخدم فيها المطيافية فوق البنفسجية في الموجة 274 ن م لتعيين المالتول والموجة 276 ن م لإتيل مالتول، والمادتان متوافرتان في

المستحضرات التجارية الجاهزة لهذين المركبين. والغاية من ذلك معرفة نسبة وجود المادة الفعالة في العينة التجارية. لأن المستحضر الجاهز ممكّن أن يكون مخفقاً بمادة خاملة.

وإذا أردنا أن نعين هذين المركبين في أحد الأغذية علينا أولاً استخلاص المالتول وإتيل مالتول من الأغذية باستخدام التقطر بالبخار ثم تشكيل معقد مع أيون الحديد وقياس امتصاصيته بالموجة 530 ن.م.

طريقة العمل لتعيين نقاؤة المستحضر التجاري:

1- محلول المعياري:

زن بدقة 50 مغ من إتيل مالتول أو من المالتول المرجعي. ضعه في دورق معياري 250 مل وأذبه في كمية كافية من حمض كلور الماء N.0.1. أكمل إلى العلامة، امزج. يحتوي كل 1 مل من هذا محلول 200 ميكروغرام. انقل 5 مل من محلول السابق إلى دورق معياري 100 مل، واستكمّل الحجم بحمض كلور الماء N.0.1، امزج. يحتوي كل 1 مل من محلول الأخير على 10 ميكروغرام.

2- التعيين:

1. عين الامتصاصية لكل محلول في خلايا كوارتز عرضها 1 سم في طول موجة أعظمي 276 ن.م لمحلول إتيل مالتول والمالتول على أن تكون الشاهدة مكونة من حمض كلور الماء N.0.1.
2. احسب تركيز إتيل مالتول ومالتول في العينة المختبرة باستعمال العلاقة:

$= 4C(Au/As)$ مع كمية المادة الفعالة في العينة المذابة

حيث: C = التركيز ميكروغرام/مل للمحلول المعياري لإتيل مالتول أو مالتول.

Au = امتصاصية العينة.

AS = امتصاصية المحلول المعياري.

تعيين المالتول وإتيل المالتول في الأغذية:

تستعمل الطريقة المطيفافية لقياس الامتصاصية المتشكلة من تفاعل أيون الحديد في وسط حمضي مع المالتول وحده، أو مع إتيل المالتول لوحده، وتصلح هذه الطريقة إما لقياس تركيز المالتول أو إتيل مالتول في العينات الغذائية.

في العينات غير الذوابة في الماء يستخلص المالتول (إتيل مالتول) من الوسط الحمضي بالكلوروفورم، ثم يستخلص ثانيةً بوسط قلوي ويحمض مرة ثانية، ويقطر ويتشكل اللون الأحمر في القطارة الناتجة بعد إضافة كلوريد الحديد، ويستغني عن خطوة التقطير في المنتجات الذوابة في الماء. يقارن اللون الناتج مع منحنٍ معياري.

- الكواشف:

كلوروفورم، هيدروكسيد الصوديوم (1N)، حمض كبريت (5N).
كلوريد الحديد 2% في HCl-2N: أدب 2 غ FeCl₃.6H₂O و مدد إلى 100 مل بحمض كلور الماء 2N.

- الأجهزة:

مطيفاف صبوني
جهاز تقطير زجاجي ميكروني القياسات.

- تحضير المنهي المعياري:

خذ 2.5 ، 5 ، 7.5 ، 10 مل من محلول المعياري المحضر سابقاً إلى دوارق معيارية 50 مل لتحصل على محليل معياري تركيزها 10 ، 20 ، 30 ، 40 ميكروغرام في 1 مل. أضف إلى كل دورق 1 مل محلول كلوريد الحديد ثم أكمل إلى الحجم بالماء. اقرأ الامتصاصية في الموجة 530 نم مستعملاً شاهدة مكونة من (1) مل كلوريد الحديد في 50 مل ماء. ارسم العلاقة بين تركيز إيتيل مالتول (ميكروغرام / مل) والامتصاصية.
يتبع طريقة مماثلة للمالتول.

- إجراءات التعيين في العينات الغذائية:

خذ وزناً من العينة يحوي (1) مل إيتيل مالتول، وإذا كانت عينة الغذاء مسحوقاً حافاً أضف كمية قليلة من الماء ليغترب وإذابة المكونات.

• الأغذية الذوابة في الماء:

خذ وزناً من العينة يحوي (1) مل إيتيل مالتول في دورق فصل، ثم أضف 0.5 مل حمض كبريت N 5 واستخلص ثلث مرات بكمية 20 مل كلوروفورم. اجمع ناتج الاستخلاص في دورق فصل ثانٍ واستخلص باستعمال 10 مل N 1 هيدروكسيد الصوديوم ثلاثة مرات. اجمع المستخلصات القلوية في دورق معياري 5 مل وأضف 4 مل حمض كبريت N 5 مع (1) مل كلوريد الحديد، ثم أكمل الحجم بالماء. اقرأ الامتصاصية بالموجة 530 نم مستعملاً شاهدة من 1 مل كلوريد الحديد في 50 مل ماء.

احسب تركيز إيتيل مالتول في العينة من المنهي المعياري.

• الأغذية التي لا تذوب في الماء:

انقل من الأغذية ما فيه 1ملغ إتيل مالنول في أنبوب تثقيل سعة 50مل، أضف 20مل CHCl3، سد الأنبوب و امزج لدقائقتين، ثقل لمدة 5 دقائق في السرعة 1000 دف د، وانقل طور الكلوروفورم إلى قمع فصل ثان (50 مل). أعد الاستخلاص بالكلوروفورم ثلاث مرات. وانقل في كل مرة مستخلص الكلوروفورم إلى قمع فصل ثان، واستغني عن أي طور مائي. استخلاص إتيل مالنول من الكلوروفورم مستعملًا مل هيدروكسيد الصوديوم IN، وكرر هذا الاستخلاص مرتين. اجمع المستخلص القلوي في وعاء التقطير وأجري التقطير حتى الجفاف مستعملًا الهواء لحمل القطارة. استقبل القطارة بدورق معياري 50مل. أضف 10مل ماء واجري التقطير مرة ثانية، أضف إلى الدورق المعياري الذي يحوي القطارتين 1مل كلوريد الحديد وأكمل إلى الحجم، واقرأ الامتصاص في الموجة 530 ن م، مستعملًا الشاهدة وقارن مع المنحني المعياري لمعرفة تركيز إتيل مالنول.

الحساب:

يعتمد على معرفة نسبة المرتجع من خلال إضافة كمية معينة من المادة المعيارية إلى العينة وإمرارها بنفس المراحل السابقة ثم حساب نسبة المرتجع من المادة المعيارية.

$$\text{ميicroغرام / غ عينة} = \frac{\text{المرتجع \%} \times \text{الكمية من المنحني المعياري}}{\text{وزن العينة (غ)}}$$

$$\text{المرتجع \%} = \frac{\text{الكمية من المنحني المعياري}}{\text{المادة المعيارية المضافة (ميicroغرام)}} \times 100$$

ملاحظة: توجد طريقة تعتمد على استعمال الكروماتوغرافيا الغازية يمكن بها تحديد المالنول وإتيل مالنول معاً في العصائر.

٤-٤-٤ تعين الكافيين في المشروبات الغازية بالクロماتوغرافيا السائلة عالية الأداء:

توجد تطبيقات عديدة لتقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء في تحليل الأغذية وفي كيمياء الأغذية، منها مثلاً تعين مكونات الغذاء كالحموض العضوية والفيتامينات والحموض الأمينية والسكريات والنتروزوأمين، وبقايا بعض المبيدات، ومركبات المستقلبات، والحموض الدهنية، والأفلاتوكسينات، والملونات وبعض المواد المضافة إلى الأغذية. وهذه التقنية على عكس ما هو معروف في تقنية الكروماتوغرافيا الغازية أنه من الضروري أن يكون المركب محلل منطابراً وثبتاً للحرارة فإن المركب في Hplc يمكن أن يكون غير منطابير. ولكنه من الضروري للمركب محلل بهذه التقنية أن يكون قابلاً للذوبان في الطور المتحرك، كما أنه من المهم أيضاً أن تكون العينة محللة المذابة والجاهزة للحقن في العمود خالية من جميع الدفائق الصغيرة مهما كانت، لذلك فإن التقطيل والترشيح عبر مرشحات دقيقة من الطرق العامة المطبقة في هذه التقنية. كما أنه من الشائع والعام استعمال الاستخلاص في الطور الصلب (SPE) لإزالة المواد المعيبة للتخلص من وسط العينة محللة قبل البدء بعملية التحليل.

معظم طرق تحليل الأغذية بالクロماتوغرافيا السائلة عالية الأداء تستخدم كروماتوغرافيا الطور العكسي، والتي تتصف بأن الطور المتحرك السائل هو من طبيعة قطبية مثل الماء، أو من المحاليل الواقية الممدة أو الميثانول أو أسيتونترييل، وعلى أن يكون الطور الساكن (محتويات عمود التحليل) نسبياً غير

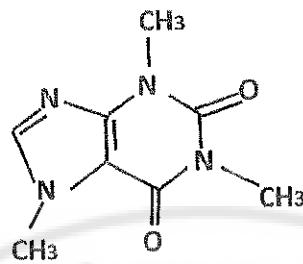
قطبية، وهو عادةً مكون من دقائق سيليكا مغطاة ببهايروكربونيات، عدد ذرات كربونها ثمانية (C8) أو ثمانية عشر (C18).

يتم في هذه الطريقة وفي أثناء ارتحال المركبات عبر العمود التحليلي تجزأتها بين الطور الساكن والطور المتحرك. كما أن الطور السائل المتحرك قد يكون تدفقه خلال عملية التحليل ثابتاً (isocratic) أو أن تدفقه يتغير تدريجياً أو يتغير بصورة مستمرة (وهذا يسمى بالتدفق التدريجي Gradient). وعندما تلفظ المركبات المفصولة عن بعضها وتخرج من نهاية العمود ويتم كشفها وتمييزها وتعيينها كمياً. حيث يتم تمييزها عبر مقارنة حجم السائل اللازم إلى افظتها خارج العمود (معبراً عنه بحجم الاحتباس أو بزمن الاحتباس) مع مركبات معيارية يتم تحليلها في نفس الظروف وتحت نفس الشروط وتعيين كمياتها من مقارنة ارتفاع أو مساحة القمة لمركب مع ارتفاع القمة للمركب المعيار (له نفس زمن الاحتباس) ويعبر عن الناتج عادةً بـ ملغ في غ عينة أو ملي ليتر في ليتر عينة.

الكافيين مادة طبيعية، تتوفّر في القهوة، وتضاف إلى بعض أنواع المشروبات الخفيفة، ولها الصيغة المجمّلة $C_8H_{10}N_4O_2$ ، وزنها الجزيئي

.194.19

يوجد الكافيين ضمن قائمة المواد المعتردة عامّة سليمة (GRAS)، شريطة ألا يزيد حدّها الأقصى على 0.02 % (أي 200 ج ب م).



الهدف:

تعين محتوى الكفيين في المشروبات الخفيفة باستعمال الكروماتونغرافيا السائلة عالية الأداء، والطور العكسي، والمكشاف فوق البنفسجي، مع استعمال ارتفاع القمة أو مساحتها لتعيين التركيز.

المواد الازمة:

حمض الخل المركز، كفيين، ميثانول نقى.

الكواسف:

الطور المتحرك: مكون من ماء منزوع الشوارد، ميثانول، حمض الخل بالنسبة 1:35:65 (ح/ح).

بعد التحضير يتم ترشيح السائل السابق عبر مرشح من النايلون (0.45μ) كما يتم إزالة الغازات منه باستخدام الحمام فوق الصوتي. وفي الأجهزة الحديثة تزال الغازات الذائبة عند تمرير السائل المتحرك في النظام لوجود وحدة خاصة بإزالة الغازات قبل مضخة الضغط وضمن نظام العمل.

محلول الكفيين المعياري: حضر محلول معياري أول بتركيز 20 ملغم كفيين في 100 مل (0.2 ملغم/مل)، بعدها حضر محلول معياري تحوي 0.05، 0.1، 0.15، 0.2 ملغم/مل بإضافة 2.5، 5.0، 7.5، 10 مل من محلول المعياري الأول مع (صفر، 2.5، 5.0، 7.5) مل ماء.

المواد الازمة للاستعمال من قبل الطلاب:

- ✓ محافن بلاستيك سعة 3مل لترشيح العينة عبر إمرارها بالضغط في مرشحات 0.45 ميكرون.
- ✓ محقن زجاجي خاص بجهاز HPLC حجمه 25 ميكروليتر لحقن العينة إذا لم يكن الحقن عبر العروة (Loop) محددة الحجم..
- ✓ ماصات باستور مع إجاصة مطاطية.
- ✓ شرابات خفيفة فيها كافئين.
- ✓ محافن مع مرشحات، المرشحات من نترات السيلولوز فطرها 13ملم، وحجم تقوبها 0,45 ميكرومتر لترشيح العينة.
- ✓ أنابيب اختبار (13×100 ملم)، لترشيح العينة.

شروط جهاز HPLC :

العمود: عمود طور عكسي من النوع Bondapack C18 أو ما يكافئه.
عمود حارس: من نفس نوعية عمود التحليل السابق.
الطور السائل المتحرك: ماء، ميثانول، حمض الخل بنسبة 1:35:65 (ح/ح)
يرشح و يزال منه الغازات بعد الخلط.

سرعة التدفق: 1 مل/د
حجم العينة في العروة : 10 ميكروليتر
المكشاف: الامتصاص بالموجة 254 ن م أو 280 ن م.
الحساسية : كامل مجال سلم الامتصاص يساوي 0.2 .
يوضح الشكل (1-4) كروماتوغرام فصل الكافيين وفق الشروط السابقة.



شكل (1-4) كروماتوغرام فصل الكافيين بجهاز HPLC

استعمل في هذا الفصل طور سائل متحرك (ماء، ميتانول) 60:40 م مع استخدام حمض الفوسفور للحصول على $\text{pH} = 2.8$. الكاشف UV. في الموجة 254 نم العمود المستخدم: Nova - pk - C₁₈ (150 × 4 mm). التدفق 1 ml/min.



الفصل الخامس

المحليات شديدة الحلاوة قليلة السعرات

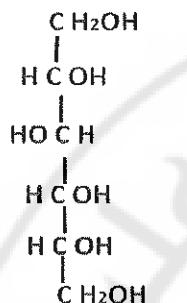
٥-١- مقدمة حول المحليات شديدة الحلاوة قليلة السعرات:

تقوم المحليات العادية الطبيعية بالإضافة إلى إعطاء الطعم الحلو، بتقدم الكثافة المائية، والطاقة، وكما تقوم وهي في تركيز عالٍ في الأغذية بوظيفة حافظة.

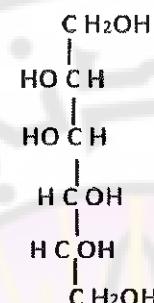
والمحليات التي لا تعود في صيغتها الكيميائية إلى الكربوهيدرات تقسم إلى قسمين كبيرين، الأولى منها تلك المحليات التي لها قدرة تحلية مشابهة للسكرورز والتي تسمى بال المحليات المائية الكتالية (Bluk)، والثانية هي المحليات التي تسمى شديدة الحلاوة (Intense sweeteners)، لأن قدرتها على التحلية تفوق بمرات ما للسكرورز من قدرة على إعطاء الطعم الحلو.

المحليات المائية، وهي لا تدعم عملية الاختمار، ولكنها تمتص و تستقلب من قبل الإنسان من خلال مسارات مختلفة، وتعطي عدداً أقل من السعرات الحرارية لكل غرام منها، وهي محليات مهمة في إعداد و تحضير منتجات غذائية خالية من السكر، تستعمل هذه المحليات الكحولية من قبل مرضى السكري وتوضع خاصة في منتجات البوظة، المربيبات المختلفة. ويعد من ضمن المحليات المائية سائر الكحولات السكرية ومنها: سوربيتول، مانيتول، كزيليتول، أريثيريتول، فركتو - أولينغو سكرييدات مثل مشتقات أبولين، وكثير من المركبات السابقة موجودة ولو بتركيز بسيط، في الأغذية الطبيعية، إلا أن إنتاجها التجاري

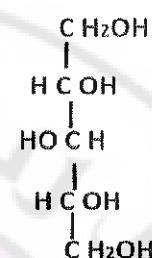
يتم عبر إرجاع السكريات الأحادية المقابلة لها. ومن حيث اهتمام المواد المضافة للأغذية تعد هذه الكحولات عديدة الهيدريد (polyhydric) لها صفة مهمة هي عملها كمرطبات، و ملينات إذا تم تناولها فوق 30 غرام.



Mannitol
(C₆H₁₄O₆)

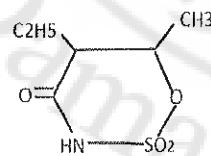


Sorbitol
(C₆H₁₄O₆)

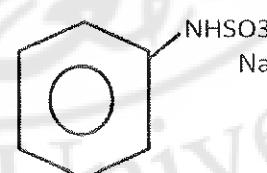


Xylitol
(C₅H₁₂O₅)

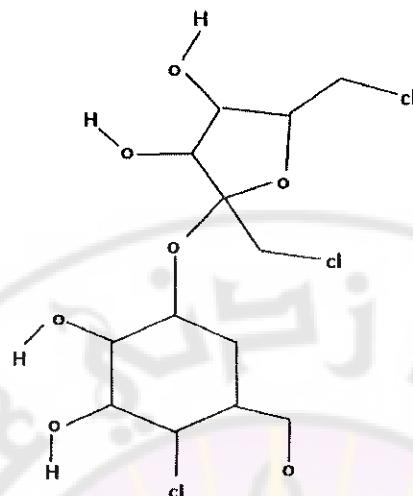
والقسم الثاني من المحليات هي المحليات شديدة الحلاوة، وقد صنفت سابقاً وأشار إليها على أنها المحليات صناعية، والواقع أن بعضها مستخلص من مصادر طبيعية. ويدخل في تعداد هذه المحليات، السكارين، سيكلامات، أسيسلفام، أسبارتام، توماتين، سكرالوز. وكلها ذات حلاوة تفوق بعدها مئات حلاوة سكر الطعام (السكروز) ويعطي الجدول (1-5) أسماء هذه المحليات ودرجة حلاوة كل ومحل منها.



أسيسلفام



سيكلامات الصوديوم



سكرالوز

الجدول (1-5) المحتويات شديدة الحلاوة والمحتويات المائية.

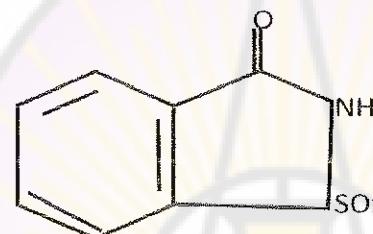
درجة الحلاوة	المحتويات المائية	درجة الحلاوة	المحتويات شديدة الحلاوة
2000	أنتيميا	300-450	سكرين
0.75	شراب غلوكوز مهدرج	30-80	سيكلامات
0.50	سوربيتول	160-200	اسبارتام
0.60	مانبيتول	160-200	اسيسلفام-k
1.00	كريبتيليتول	1600-300	توماتين
0.4	لاكتيتول	150	ستيفورزيد
0.5	إيزو مولت	600	سكرالوز

أخذت حلاوة السكروز أنها تساوي الواحد و قورنت المحتويات بها

2-5- كشف السكارين في الأغذية:

له صيغة مجملة $C_7H_5NO_3S$ ، وزنه الجزيئي 183.18، وتتصهر بلوراته بالدرجة 229.7-228 °س. يترك طعمًا معدنيًا مرًا بعد تنفسه، وحرارة احتراقه ضمن حجم ثابت 4753.1 سعر/غرام، وله موجة امتصاص أعظمي (0.1 N - NaOH) في الموجة 267.3 نـم.

يدوب 1 غ منه في 270 مل ماء بارد، وفي 25 مل ماء غالٍ، وسهل الذوبان في محلول الكربونات القلوية.



السكارين

يستعمل منه ملحه الصودي، والكلسي، والأمونيومي. وأكثرها استعمالاً سكارين الصوديوم، وله الصيغة المجملة $C_7H_4NO_3S \cdot 2H_2O \cdot Na$ وزنها الجزيئي 241.2. ومعظم الدول تسمح بإضافته إلى الأغذية الآتية:

- المشروبات، مشروبات الفاكهة، المشروبات عامة المعدة للاستعمال كخلائط أو المستعملة كأساس.
- subs> كبديل عن السكر في الطبخ واستعمالات المائدة، وبكمية لا تزيد على 20 مـغ سكارين، وهذه الكمية تكافئ ملعقة صغيرة من السكر.
- في الأغذية المحضرة والمصنعة وبكمية لا تزيد على 30 مـغ لكل حصة .(serving size)

إعداد العينة:

يعتمد إعداد العينات الغذائية المختلفة التي تحوي السكارين على استخلاص العينة السائلة المحمض بحمض كلور الماء، أو تلك التي تم تجنيسها بالماء، بمزيج من ثنائي إتيل إثير مع إثير البترول (1:1)، ثم تجفيف المستخلص، واستخدام الراسب لاختبارات كشف السكارين وتعييشه.

اختبار ريزورسينول - حمض الكبريت لكشف السكارين:

- ✓ يحضر مباشرةً محلول ريزورسينول - حمض الكبريت المركب بنسبة 1:1، ويضاف منه 5 نقاط فوق الراسب.
- ✓ يسخن الراسب مع الكاشف (الموجودين في دورق مخروطي 100مل) فوق لهب ضعيف حتى يتطور ظهور لون أحمر.
- ✓ يذاب الراسب المتكون السابق بنحو 10مل ماء، و يجعل محلول قلويًا بإضافة محلول ماءات الصوديوم، بعدها يضاف بعض نقاط محلول يود.
- ✓ لاحظ ظهور لون مقلور أخضر دليلاً على ظهور السكارين.

تعييـن السـكارـين باستعمال HPLC:

وردت هذه الطريقة في كتاب AOAC لتعيين السكارين في المشروبات الخفيفة. وهي تصلح أيضاً في تعيين البنزوات والكافئين. وذلك باستعمال الشروط الآتية:

العمود: RP-18 (mm 4.6 × 300)

الكاشف: فوق البنفسجي في الموجة 254 ن.م.

الطور المتحرك: 20% حمض خل، عدّل فيه PH عند 3.0، باستعمال محلول مشبع من خلات الصوديوم، كما أضيف إليه 0-2% ايزوبروبانول لتحقيق ثبات خط الأساس.

المحاليل المعيارية:

تصلح هذه الطريقة لتعيين ثلاثة مكونات مضافة في المشروبات الغازية، وهي: السكارين والبنزوات، والكافيين. وتحضر المحاليل المعيارية لهذه المضافات كالتالي:

محلول معياري صوديوم سكارين (0.5 مغ/مل):

زن بدقة 500 مغ من سكارين الصوديوم النقي وضعها في دورق حجمه 100 مل وأذبها بالماء المقطر حتى العلامة (5مغ/مل). خذ منه 10 مل بمقاصة وضعها في دورق آخر حجمه 100 مل وأكمل الحجم بالماء.

محلول معياري بنزوات الصوديوم (0.5 مغ/مل):

أعد الإجراءات السابقة تماماً مع بنزوات الصوديوم.

محلول معياري الكافيين (0.05 مغ/مل):

زن بدقة 50 مغ كافيين نقى وضعه في دورق حجمه 100 مل وأكمل الحجم بالماء المقطر (0.50 مغ/مل). خذ 10 مل بمقاصة وضعها في دورق آخر حجمه 100 مل وأكمل الحجم بالماء.

محلول معياري مزيج (0.5 مغ/مل سكارين صوديوم وبنزوات صوديوم، 0.05 مغ/مل كفين) :

خذ 10مل من كل من المحاليل المعيارية السابقة للسكارين والبنزوات والكافئين وضعها في دورق حجمه 100مل وأكمل بالماء المقطر.

إجراءات التعيين (طريقة العمل) :

تحضير العينة:

احقن عينة المشروبات الخفيفة عبر مرشح 0.45 ميكرون. أهمل بضع مل الأول الخارج من المرشح إذا وجدت مخلفات أو دقائق، فقم بإجراء تنقيل أولًا، ثم الإمرار في المرشح.

الطور السائل المتحرك:

محلول 20% حمض الخل المضاف إليه محلول مشبع من خلات الصوديوم لإعطاء محلول واق له $pH=3$. بعدها أضف إليه 2% أيزوبروبانول للحصول على ثبات في خط الأساس في الكروماتوغرام.

سرعة تدفق الطور المتحرك: 2 مل/د (في ضغط 2000 psi).

حرارة العمود: حرارة الغرفة.

طول موجة المكشاف: 254 ن.م.

تتحول أملاح الصوديوم إلى ما يقابلها من الحموض الحرة في الطور المتحرك الحمضي، وبالتالي تخرج المركبات الثلاثة من العمود بالترتيب: سكارين، حمض بنزويك، كفين.

استعمل المحاليل المعيارية المفردة للحصول على زمن الاحتباس والتتأكد من تتبع ظهور القمم.

الحساب:

قم بقياس طول القمم للعينة والمحاليل المعيارية، وطبق المعادلة:

$$0.1 \times \frac{H_{sa}}{H_{st}} \times C_{st} = \% \text{ المكون (المركب)}$$

C_{st} : تركيز محلول المعياري (مغ/مل).

H_{st}, H_{sa} : متوسط طول قمة العينة والمحلول المعياري.

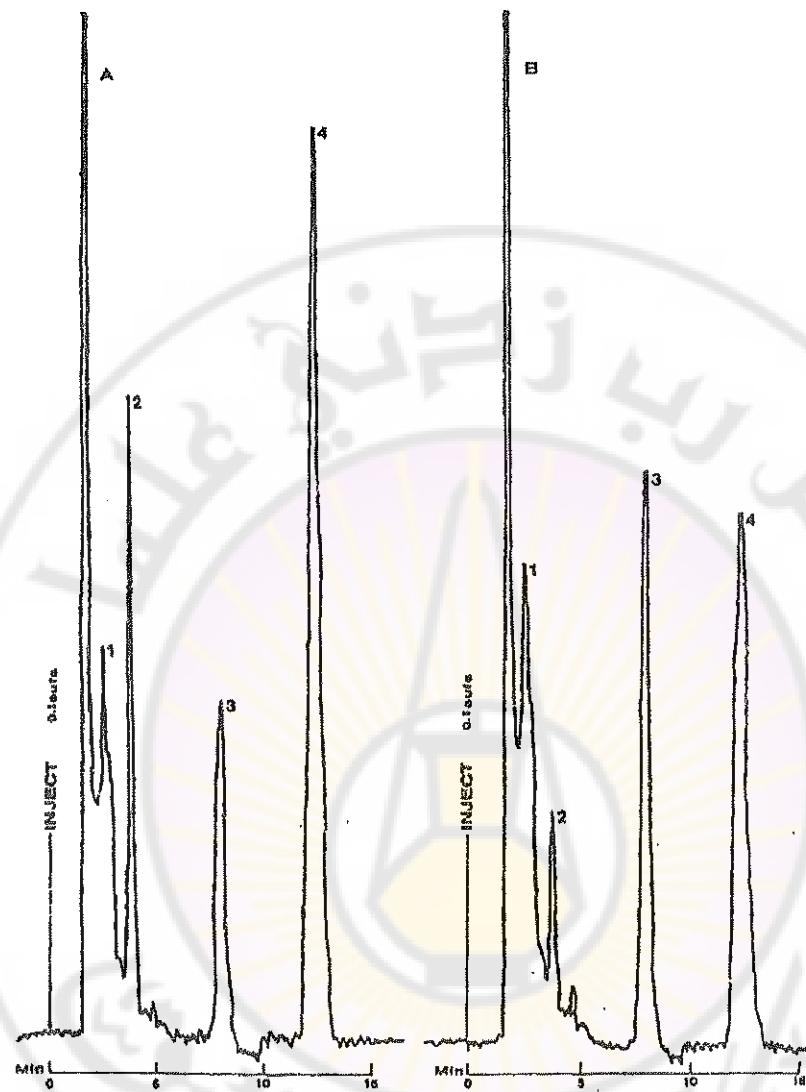
0.1: معامل لتحويل مغ/مل إلى نسبة مئوية.

تعتمد المعادلة السابقة للحساب على وجود علاقة طردية بين الوزن وارتفاع القمة في العينة والمحلول المعياري.

$$\frac{\text{وزن العينة}}{\text{ارتفاع العينة}} = \frac{\text{وزن المعيار}}{\text{ارتفاع المعيار}}$$

يوضح الشكل (4-1 مكرر) كروماتوغرام مثالي لمحلول معياري للمضادات الثلاثة: سكارين، بنزوات، كفين.

الطور السائل المستعمل: 20% حمض الخل، $pH = 3$ ، 2% إيزوبروبانول.



الشكل (٤-٤ مكرر)

كروماتوغرام لمشروب الكولا موضحاً فيه تأثير الكراميل على قمة السكارين :

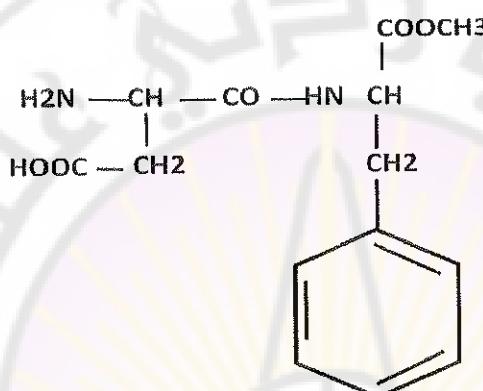
المخطط A : استعمل فيه 0.04 % صوديوم سكارين.

المخطط B : استعمل فيه 0.01 % صوديوم سكارين.

١ - كراميل، ٢ - صوديوم سكارين، ٣ - كفلين، ٤ - بنزوات الصوديوم.

3-5- تعين الأسبارتام في المجال فوق البنفسجي:

اسمه الاستر المثيلي -L- أسبارتيل -L- فينيلAlanine، صيغته الجزيئية المجملة $C_{14}H_{18}N_2O_5$ ، وزنه الجزيئي 294.30. وهذا البيريد الثاني له حلقة نحو 160 مرة حلقة السكرور في محلول المائي، ينصهر 246-247 °س.



المبدأ:

يستخلاص الأسبارتام من المشروبات الجافة الموجودة بهيئة مسحوق باستعمال ميثanol مع حمض الخل (20:80). ويعزل باستعمال الطبقة الرفيعة المطلية بهلام النشا.

الطريقة الأسهل لتعيين الأسبارتام هي استخلاصه بالميثanol الممدد بالماء وقياس امتصاصه في المجال فوق البنفسجي باستخدام الموجة 258، ضد شاهدة. وعند إنشاء منحنٍ معياري يمكن حساب تركيز الأسبارتام.

طريقة العمل:

أ- الكواشف:

- مزيج الاستخلاص : امزج 350 مل ماء مع 150 مل ميثanol.

- محلول الأسبارتام المعياري:

يجف 72 مغ أسبارتام في الفرن (105°) لمدة ساعتين، ثم يوضع في دورق حجمي 100 مل، بعدها يذاب في 50 مل من مزيج الاستخلاص السابق، ويستكمل إلى الحجم بالسائل نفسه.

ب- تحضير العينة:

تؤخذ كمية من المادة فيها نحو 70-80 مغ أسبارتام، مثل 4 حبات من المحلي التجاري، وتوضع في دورق حجمي 100 مل، وتضاف إليها 50 مل من مزيج الاستخلاص وتداب العينة ويستكمل إلى الحجم. قد تستغرق الإذابة مدة 30 دقيقة. ترشح المحتويات خلال ورق وتمان رقم 1. تهمل الرشاحة الأولى ويحفظ بالباقي، للتحليل في الفقرة التالية.

ج- طريقة العمل:

يقيس الامتصاص لكل من محلول الأسبارتام المعياري، والعينة المحضررة في ب، بعد قياس أو وضع صفر الجهاز على الشاهد باستخدام طول الموجة 258 ن.م. يحسب تركيز الأسبارتام بالمقارنة مع امتصاص المعيار.

د- المبدأ:

تعتمد طريقة العمل على استخلاص المحليات السابقة من العينة باستعمال الماء أو المذيب المستعمل في تحليلها بجهاز الكروماتوغرافيا السائلة . ثم إذا كان ضرورياً العمل على تنفيتها عبر عمود الاستخلاص في الطور الصلب (SPE) أو استعمال كاشف فروهكساسيانيد البوتاسيوم. يلي ذلك إمرار

العينة في عمود الطور العكسي وقياس شدة امتصاصية القمم الناتجة مطابقًا في الموجة 220 ن.م.

الکواشف والمواد الكيميائية:

أسيتونترينيل، ميتانول، فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين، رباعي بوتيل أمونيوم هيدروجين كبريتات، حمض الفوسفور 85%， حمض فوسفور 5% (يحضر بأخذ 6 مل من حمض الفوسفور المركز إلى دورق حجمي 100 مل الذي يحتوي مسبقاً 80 مل ماء مقطر، والتمديد بالماء إلى العلامة) حمض كلور الماء 25%， محلول فروهكساسيانيد البوتاسيوم (K₄Fe(CN)₆)، (3H₂O) أذب 15 غ في 100 مل ماء.

كبريتات الزنك أذب 30 غ (ZnSO₄, 7H₂O) في 100 مل ماء.

محلول فوسفاتي واقي I (KH₂PO₄, 0.0125 mol/L) (pH=3.5) ويحضر بإذابة 1.70 غ فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين في 800 مل ماء في بيشر، وتعديل pH إلى 3.5 بحمض الفوسفور ، والنقل إلى دورق 1000 مل والتمديد بالماء إلى العلامة.

محلول فوسفات واقي I (KH₂PO₄, 0.0125 mol/L). ويحضر بإذابة 1.70 غ فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين في 800 مل ماء في بيكير، وتعديل pH إلى 3.5 بحمض الفوسفور، والتمديد إلى 1000 مل بالماء.

محلول فوسفاتي واقي II (pH 6.5) ويحضر بإذابة 6.5 غ فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين في 500 مل ماء موضوعة في بيشر ثم تعديل pH إلى 6.5 بإضافة مسحوق فوسفات ثنائية البوتاسيوم أحادية الهيدروجين

(K_2HPO_4) وإضافة 3.4 غ رباعي بوتيل أمونيوم هيدروجين كبريتات، وتعديل pH ثانية إلى 6.5 باستعمال المسحوق السابق. ثم إضافة 250 مل ميتانول وتعديل pH إلى 4 بإضافة نقاط من HCl، وأخيراً نقل المحلول إلى دورق حجمي 1000 مل والإكمال بالماء المقطر إلى العلامة.

التطور السائل المتحرك:

يستعمل المحلول الفوسفاتي الواقي مع الميتانول أو مع الأسيتونترييل. يمرر المحلول الفوسفاتي الواقي عبر مرشح 0.45 ميكرون ويفضل إزالة الغازات منه في حمام فوق صوتي. أضعف الكمية اللازمة من المحلول الفوسفاتي الواقي والأسيتونترييل وامزج. حضر محلول التطور المتحرك يومياً.

محلول الضبط (Control):

يحتوي على أسيسلفام، سكارين، أسبارتام. زن إلى دورق حجمي 100 مل 30 مغ أسيسلفام، 20 مغ سكارين الصوديوم، 220 مغ أسبارتام. أذب وأكمل بالماء إلى الحجم.

خذ 20 مل من المحلول السابق إلى دورق حجمي 100 مل ومدد بالماء.

المحلول المعياري الأول: زن إلى دورق حجمي 100 مل الكميات الآتية:

100 مغ أسيسلفام K

100 مغ سكارين الصوديوم

100 مغ أسبارتام

أذب وامزج وأكمل بالماء إلى العلامة.

المحلول المعياري الثاني : خذ 10 مل من محلول المعياري الأول إلى دورق حجمي 100 مل وأكمل بالماء.

المحلول المعياري الثالث : خذ 5 مل من محلول المعياري الأول إلى دورق حجمي 100 مل وأكمل بالماء.

المحلول المعياري الرابع : خذ 1 مل من محلول المعياري الأول إلى دورق حجمي 100 مل وأكمل بالماء.

الأدوات:

ميزان تحليل دقيق، مجنس، دوراق حجمية سعة 100، 500، 750، 1000 مل، بيشر سعة 1000 مل، ماصات 10، 20، 25، 50، 100 مل، ماصات ميكرونية 1000 ميكروليتر، اقصاع، ورق ترشيح، حمام مائي، حمام فوق صوتي، مقلة، مرشح 0.45 ميكرون، أعمدة استخلاص SPE ، عمود كروماتوغرافي RP-C18 من الطور العكوس، حبيباته 5 ميكرون، طوله 250 ملم، قطره الداخلي 4 ملم مع عمود حماية من نفس النوع.

الشروط الكروماتografية:

الأعمدة:

إن النوع المستخدم هنا هو الطور العكسي، يمكن استخدام أعمدة ذات جسيمات كروية من أبعاد 3 ميكرون لعمود طوله 100 ملم وحتى 10 ميكرون لأعمدة يصل طول إلى 300 ملم، على أن يكون القطر الداخلي 4 ملم. ويستحسن مع بعض عينات الغذاء استعمال عمود حارس، ما هو إلا بولمير سيليسكات من أحد الأنواع:

- Bondapak C18
- Partisil ODS3
- Super Spher Go RP selet B

تدفق الطور المتحرك: من 0.8 مل/د إلى 100 مل/د.

حجم الحقن: 10-20 ميكروليتر.

المكشاف:

فوق البنفسجي لاستعمال في الأمواج الآتية:

217 ن م أسبارتام

227 ن م أسيسلفام K

265 ن م سكارين الصوديوم

وتشتمل الموجة 220 ن م لسائر المحليات شديدة الحلاوة إذا لم يكن المكشاف من النوع DAD موجوداً.

الطور المتحرك: تحضر المحاليل الآتية:

A - محلول فوسفات واق، $pH = 4.3$ ، $M = 0.02$ ممول/ل،

B - محلول فوسفات واق، $pH = 3.5$ ، $M = 0.0125$ ممول/ل،

C - محلول فوسفات واق، $pH = 6.5$ ،

D - أسيتونتريل

E - ميتانول

يمكن استعمال خليط من محلول الفوسفاتي الواقي مع الأسيتونتريل أو الميتانول لفصل المحليات. ويستعمل بعض من الخلائط الآتية في الفصل:

a - محلول A + محلول D (90+10)

b - محلول B + محلول D (20+80)

c - محلول B + محلول D (15+85)

d - محلول B + محلول D (10+90)

e - محلول B + محلول D (5+95)

f - محلول B + محلول D (2+98)

g - محلول C + محلول E (10+90)

الحساب: تحسب الكتلة الوزنية (W) بـ مغ/كغ أو التركيز الوزني (P) بـ

مغ/لليتر للمحلي شديد الحلاوة وفق المعادلة:

$$W_{\text{or}} P = \frac{A_1 \times V_1 \times m_1 \times F_1}{A_2 \times V_2 \times m_0} \times 1000$$

$$A_1 \times V_1 \times m_1$$

A1: مساحة قمة المحلي في العينة

A2: مساحة قمة المحلي في محلول المعياري.

V1: الحجم الكلي للعينة بـ مل.

V2: الحجم الكلي للمحلول المعياري بـ مل.

m₁: كتلة المحلي في محلول المعياري

m₀: كتلة العينة بـ غرام أو مل

F₁: عامل تمديد من أجل طريقة التقنية المستعملة في العينات .

تعيين الأسبارتام والسيسفلام - K والسكارين

مقدمة:

هناك الكثير من طرق التعيين التي قامت بتعيين الأسبارتام و غيرها من المحليات شديدة الحلاوة باستعمال جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء. وقد استعمل فيها أنواع من الأعمدة تتراوح بين 8 – RP – 18 ، واستعملت أطوال أمواج ما بين 217 – 265 ن. م. أو بوضع الكاشف على طول الموجة 220 ن. م لتحري وكشف وتعيين سائر المحليات. والطريقة الآتية مقتبسة من الطريقة الأوروبية المعتمدة لتعيين هذه المحليات، وقد وردت هنا دون الجزء الخاص بأعداد العينات التحليل. إذ يأخذ هذا الجزء حيزاً كبيراً نظراً لتنوع طبيعة المادة الغذائية التي تخضع للتحليل والتي يمكن أن يضاف إليها هذه المحليات الصناعية. ومهما كانت العينة الغذائية فلابد أولاً من استخلاص المحلي، ثم ثانياً إجراء تنقية وتركيز الناتج الاستخلاص باستعمال إما أعمدة الاستخلاص في الطور الصلب أو غير ذلك من الطرق المتاحة وهي كثيرة.



الفصل السادس

بعثرة المادة

Dispersion of matter

1-6 - مقدمة حول بعثرة المادة:

يتكون نظام البعثرة في الأغذية من طور أو أكثر من المادة المبعثرة أو الطور غير المستمر ضمن طور مستمر. والطور المستمر في الأغذية هو عادةً الماء أو زيت طعام، ولتسهيل دراسة نظم البعثرة جرى تصنيفها على أساس حجم الدقائق، فالمحلول الحقيقي هو نظام مكون من طور واحد، وجزيئاته لها أبعاد أقل من 1 نانومتر، في حين أن نظم البعثرة الغروية مكونة من طورين أو أكثر. أبعاد دقائق الطور المبعثر (غير المستمر) تتراوح بين 1-100 نانومتر (10-1000 Å). أما نظام البعثرة الخشن و الذي يعرف باسم المعلق فله أبعاد دقائق أكبر مما سبق.

إن الجسيمات في محلول حقيقي صغيرة بصورة كافية ليشغل الكثير فيها حجماً معيناً، و هناك خصائص تعتمد على عدد الجسيمات في فراغ (حجم) معين تسمى بالخصائص الضميمة (Colligative) وهي نقطة الغليان، نقطة التجمد، ضغط البخار، الضغط الأسموزي، و عادةً ما تفاص في النظم الغروية كالحليب، ارتفاع درجة الغليان، و انخفاض نقطة التجمد.

سوف نقتصر في هذا الجزء العملي من بعثرة المادة على تجربة لدراسة المستحلبات، وتجربة على قدرة البروتين على تكوين الرغاؤى، لأن الرغوة

نظام غروي مكون من بعثرة الهواء في طور مستمر سائل أو صلب. يبين

الجدول (1-6) أنواع الأنظمة الغروية.

الجدول (1-6) أنواع الرئيسية للنظم الغروية

النظام	الطور المتبخر	الطور المستمر	الم المنتج الغذائي
سول	صلب	سائل	كوسترد غير مطبوخ، جيل لم يتكون بعد
جيل	سائل	صلب	جيل، مربيات
مستحلب	سائل	سائل	مايونيز، حليب
مستحلب صلب	سائل	صلب	زبدة، مارجرين
رغوة	غاز	سائل	كريماً مضروبة، بياض بيض مخفوق
رغوة صلبة	غاز	صلب	خبز، كاتو، بوظة

6-2- تجربة على المستحلبات

هدف التجربة: الهدف من هذه التجربة البرهنة على إمكانية قيام مختلف المواد

بصورة فعالة بدور عوامل استحلاب.

المواد اللازمة:

صبغة سودان الحمراء، زيت نباتي، خلاط كهربائي، صفار بيض، سائل منظف، شريحة زجاجية، ليستين، بولي أوكسي إتيلين سوربيتان (توين 40)، استر السكروز، مجهر، أنابيب اختبار كبيرة أو دوارق مخروطية صغيرة (100 مل).

مستحلبات الزيت/ماء:

- (1) - تختلف هذه المستحلبات بعامل الاستحلاب، حضر الدوارق وفق الجدول الآتي:

السائل الذي يذوب فيه عامل الاستحلاب	الماء(مل)	الزيت(مل)	عامل الاستحلاب	الدوارق
-	40	10	شاهد(لا يحوي عامل استحلاب)	1
زيت	40	10	ليسرين 1/2 غ	2
ماء	40	10	صفار البيض 1/2 غ	3
ماء	40	10	منظف 1/2 غ	4
ماء	40	10	عصارة الصفراء 1/2 غ	5
زيت	40	10	توين -40، 1/2 غ	6
ماء	40	10	استر-سكروز 1/2 غ	7

- (2) - لون الزيت باللون الأحمر بإضافة الصبغة الحمراء.
- (3) - امزج عامل الاستحلاب في السائل الذي يذوب فيه في جميع الدوارق السابقة.
- (4) - ضع المستحلبات التي تكونت في أنابيب تثقيل، واستمر في التثقيل لمدة نصف ساعة في السرعة العالية.
- (5) - اسكب الناتج من التثقيل مباشرةً في بيكر ولاحظ ثبات المستحلب.
- (6) - ضع بضع نقاط على الشريحة الزجاجية وافحصها تحت المجهر للتعرف على نوعية المستحلب زيت/ماء.

6-3- تجربة على الخواص الرغوية للبروتينات:

الهدف من هذه التجربة هو مقارنة قدرة أنواع مختلفة من البروتينات على إعطاء رغوة بالإضافة إلى تحري آلية شكل الرغوة وثباتها، كما تهدف إلى تحديد تأثير المواد الكيميائية ودرجة الحرارة على الرغوة التي يشكلها البروتين.

المواد الازمة: البوتين البيض، البوتين الصويا، شرش الحليب، زيت نباتي، خلاط كهربائي، نشا ذرة، سكر، أسطوانات درجة 100 مل.

طريقة العمل:

أولاً- حضر 100 مل من المحاليل الآتية:

- 1 - 0.5 % من الكازينات.
- 2 - 0.5 % من شرش الحليب.
- 3 - 0.5 % من البوتين البيض.
- 4 - 0.5 % من البوتين الصويا.
- 5 - 0.5 % من البوتين الصويا + 0.5 % نشا ذرة.
- 6 - 0.5 % من البوتين الصويا + 0.5 % سكر.
- 7 - 0.5 % من البوتين الصويا + 0.5 % زيت نباتي.
- 8 - 0.5 % من البوتين الصويا + 0.5 % كلور الصوديوم.

ثانياً- خذ 50مل من كل تحضير سابق وضعه في خلاط كهربائي على السرعة العظمى لمدة نصف دقيقة، ثم أبن (اسكب) إلى أسطوانة درجة 100مل، أعد التجربة مرة ثانية مع كل تحضير سابق.

ثالثاً- ضع نصف الأسطوانات المدرجة في درجة حرارة الغرفة، والنصف الآخر في حمام مائي في الدرجة 40° م.

- رابعاً - سجل حجم الرغوة في البداية وبعد 30 د من بدء المزج.
- خامساً - ارسم نقص حجم الرغوة مع الزمن وفي درجتي الحرارة ولمختلف أنواع التحضيرات السابقة.

قارن حجم الرغوة و ثباتها كتابع إلى:

- ✓ نوعية البروتين المستعمل.
- ✓ نوع المواد الأولية الموجودة مع البروتين.
- ✓ درجة الحرارة.

6-4- تجارب على دراسة تأثير عوامل متعددة على هلام الجيلاتين:

الجيلاتين بروتين يحصل عليه من الكولاجين الموجود في نسج الوصل، ويستعمل كعامل مهلم. تختلف لزوجة سول البروتينات، مثل سول الجيلاتين، مع اختلاف عوامل متعددة مثل حجم جزئ البروتين وشكله، ودرجة الحرارة، ومدى إماهة جزئ البروتين، وتركيزه، ورقم pH وهذا نجد عامة أن تأثير أيونات الهيدروكسيل أو أيونات الهيدروجين يؤدي إلى زيادة امتصاص الماء حتى يصل إلى حد الأقصى مع ابتعاد الهلام عن نقطة التعادل الكهربائية. ويدذكر أن الزيادة عن ذلك في هذه الأيونات تؤدي إلى حلقة الجيلاتين. إن طريقة تحضير الجيلاتين تؤثر على نقطة تعادله الكهربائية. فالجيلاتين المعد والمحضر بالحمض له نقطة تعادل كهربائي 7-9، وللجيلاتين المحضر بالقلوي 4.7-5.0 IEP. ونحصل على هلام الجيلاتين عند تبريد سول الجيلاتين إلى ما دون الدرجة 35°س، حيث يترافق ذلك مع زيادة اللزوجة، تعود خاصية وفعالية الجيلاتين كبروتين إلى تكوينه الفريد من الحموض الأمينية، فثلثه تقريباً من

الغلاسين أو الألائين، وتقربياً ربعه من الحموض الأمينية القلوية أو الحموض الأمينية الحامضية، يضاف إلى ذلك أن ربعه من البرولين أو هيدروكسي برولين. تزداد متانة وصلابة هلام الجيلاتين مع زيادة تركيزه وتتأثر أيضاً برقم pH وبوجود المركبات الأخرى.

بعد هذه المقدمة المختصرة نقول: إن الهدف من هذه التجربة هو تعين تأثير كل من تركيز الجيلاتين، pH، السكروز، والأنزيمات المطلة للبروتين، على اللزوجة وزمن تشكيل الهلام من سول الجيلاتين، وزمن تميع الهلام وقوته.

المواد اللازمة:

جيلاتين، حمض كلور الماء M-6، ماءات الصوديوم M-6، السكروز، بابين، فيسين (ficin)، ساعة مخبرية، ماصات ذات حبابة، أنابيب اختبار متماثلة مع حامل، أكواب صغيرة أقل من 100مل، خلاط كهربائي، ميزان مخبري عادي، مقاييس pH ، حمام مائي بارد، حمام مائي ساخن.

طريقة العمل:

1- تأثير التركيز:

حضر محلول 6 % جيلاتين، وذلك بباعثرة 120 غ جيلاتين في ماء بارد منزوع الشوارد. وهذا ما يتم بإضافة كمية كافية من الماء منزوع الشوارد وهو بدرجة الغليان إلى مسحوق الجيلاتين ثم التمديد إلى 2000 غ للحصول على سول الجيلاتين.

اطلق من السول السابق وحضر سلسلة من السولات كل منها 500 مل نحو 6، 3، 1.5، 0.5 % جيلاتين.

قم بإجراء الاختبارات الآتية على السولات الأربع السابقة:

١-١- قياس قوة الهلام (gel strength)

صب كمية من السول الساخن في الكوب، املأه إلا ١سم، ضعه في حمام ثلجي أو براد حتى يبرد تماماً (إلى الدرجة ١-٢°س).

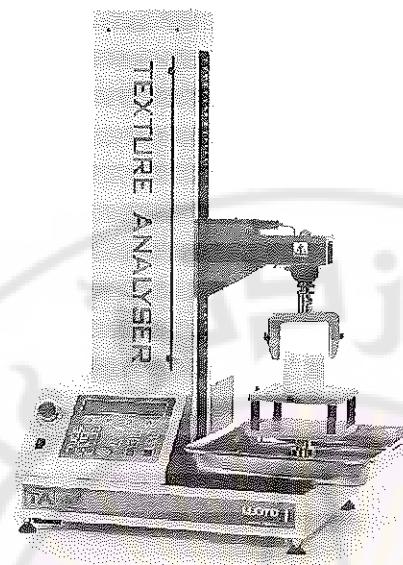
حدد درجة قوة الهلام باستعمال أحد الأجهزة الآتية:

مقياس البنية *Texture analyzer*، يتم بهذا الجهاز استعمال مسابر مختلفة، منها أسطواني الشكل، كروي، قمعي، بزلبي، أو على هيئة سكين، وذلك لقياس مدى القوة التي تختلف سطوح الأغذية، للدلالة على تمسكها، قساوتها، مرؤتها، ويعبر عن تطبيق الضغط (الكبس) بـ كغ/سم^٢، شكل (٦-١).

مقياس النفاذ *Penetrometer*، يتم بهذا المقياس معرفة القساوة والليونة في الخضار واللحوم الطازجة، وعند تغيير المخروط يمكن قياس مدى المرونة والصلابة، وتماسك الدهون، الأجبان، الهلامات، درجة الطرافة في الكاتو والخبز، بالإضافة إلى قوة الارتباط لمسحوق الحليب. بضاف إلى ذلك استعمال قمع مسطح القاعدة يعطي قراءات للقساوة النسبية لمنتجات الخبز وتغيرات التمسك عند تعرضها إلى البيات. شكل (٦-٢).

الحايس المخروطي *Cone probe*، شكل (٦-٣)

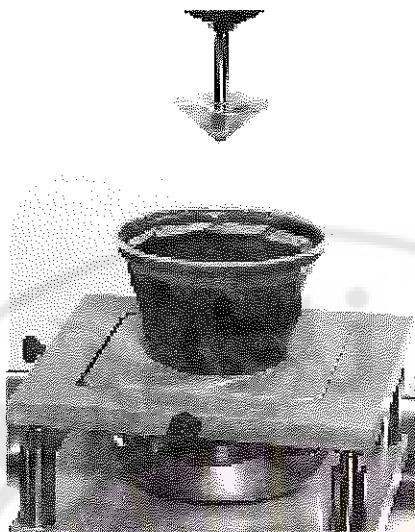
لاحظ الصفات الفيزيائية الآتية في الهلامات المتشكلة: الشفافية، الحموضة، الحلاوة، القوة (المثانة).



شكل (6-1). مقياس قوام البنية في الأغذية.



شكل (6-2). مقياس النفاذ لمعرفة مدى القساوة والليونة والمرنة والصلابة والتماسك في الأغذية.



شكل (6-3). الحاس المخروطي، أحد وسائل قياس القوام في الأغذية.

2- تأثير رقم الحموضة:

بعثر 37.5 غ جيلاتين في ماء بارد منزوع الشوارد ثم أضف كمية كافية من ماء منزوع الشوارد في درجة الغليان للحصول على 2000 غ سول. قسم السول إلى خمسة أجزاء متساوية. عدل رقم الحموضة للأجزاء السابقة إلى H_1 ، H_5 ، H_6 ، H_7 ، H_{12} باستعمال حمض HCl الممدد أو NaOH الممدد. مدد السول لا يزال ساخناً إلى 500 مل. التركيز النهائي هو 1.5% جيلاتين.

1-1- حدد قوة الهلام المشكل وفق درجات pH وفق ما ورد في 1.1.

2-2- تحديد زمن تشكيل الهلامة (setting time):

خذ 10 مل من كل سول في أنبوب اختبار، وضعها في حامل، في حمام مائي بدرجة 10°C. حدد زمن تشكيل الهلامة، بأنه الزمن الذي يستغرقه السول في حرارة 10°C، في كل أنبوب، حتى يتوقف عن الانسحاب.

2-3- تحديد زمن التميع (Liquefying time):

عند تشكل الهلام أغلب الأنابيب رأساً على عقب و هي في الحامل على ورقة بيضاء، وحدد زمن التميع بأنه الزمن الذي تصل فيه محتويات الأنابيب إلى الورقة البيضاء.

2-4- تحديد اللزوجة:

يمكن قياس اللزوجة مع السول الزائد عن الاختبارات باستعمال إما الماصة ذات الحبابة، على أن يكون السول في درجة حرارة 60°C، أو باستعمال جهاز قياس اللزوجة بروكفيلد Brookfield أو أي جهاز آخر يعتمد على قياس اللزوجة بقوة الشد الدائري، شكل (6-4)، مع اتباع التعليمات المرافقة للجهاز.



شكل (6-4). جهاز قياس اللزوجة الذي يعتمد على الشد الدائري.

3- تأثير السكروز:

حضر مبعثرات جيلاتين تركيزها 1.5% (حجم كل منها 500 مل) تختلف بتركيز السكر الذي تحويه (0.0، 0.05، 0.1، 0.2، 0.5 مول سكروز). ويتم

هذا التحضير كما يلي:

بعثر 7.5 غ جيلاتين وسكروز (6.0، 17.1، 34.2 غ) في ماء بارد منزوع الشوارد، أضف كمية من ماء منزوع الشوارد بحالة الغليان حتى الحجم 500 مل.

3-1- قم بإجراء الاختبارات الواردة تحت 1.1 و 3.2، 2.2، 4.2 على سولات الجيلاتين-سكروز.

4- تأثير الأنزيمات المحللة للبروتين :

حضر سول جيلاتين تركيزه 1.5%， وذلك ببعثرة 7.5 غ جيلاتين في ماء بارد منزوع الشوارد. أضف كمية كافية من ماء بحالة الغليان ومنزوع الشوارد حتى 500 غ، أضف مع المزج 0.25 غ أنزيمات محللة للبروتين.

4-1- يمكن اتباع الاختبارات الواردة تحت البنود 1-1، 2-2، 3-2، 4-2 على السول السابق.

يمكن التعبير عن النتائج برسم العلاقة الآتية:

- 1- العلاقة بين التركيز × الزوجة.
- 2- العلاقة بين التركيز × زمن تشكيل الهلام.
- 3- العلاقة بين التركيز × زمن التمييع.
- 4- العلاقة بين التركيز × قوة الهلام (متانته).

كذلك يمكن رسم العلاقة بين pH وكل من اللزوجة، زمن تشكّل الهلام، زمن التمثيغ، قوّة الهلام.

كما يمكن بيان تأثير السكروز برسم العلاقة بين تركيزه وكل من اللزوجة، زمن تشكّل الهلام، زمن التمثيغ، قوّة الهلام.

6-5- تجارب على أصباغ الأغذية من الكربوهيدرات:

تُوجَد أصباغ طبيعية عديدة مثل الجوار، صمغ الخرنوب، الصمغ العربي، صمغ الكثيراء، كما تُوجَد أصباغ أغذية مكونة من بوليميرات الكربوهيدرات التي طرأ عليها اصطناع كيميائي، مثل مشتقات السيلولوز الشائعة، ميتيل سيلولوز، هيدروكسى ميتيل سللوز، صوديوم كربوكسي ميتيل سيللوز، بالإضافة إلى مشتقات النشا المعدلة، التي يزداد أنواعها من سنة لأخرى. والسبب في اللجوء إلى إنتاج أصباغ الكربوهيدرات المخلقة (المصنعة) كيميائياً هو أنّ الأصباغ الطبيعية تفتقد إلى واحدة أو أكثر من الخواص المرغوبة مثل تحمل الحموض، الثبات البنوي، اللزوجة المحددة المرغوبة، تلاوتها مع المواد الأولية، مدى وجودها التجاري، والخصائص الحسية الذوقية، بالإضافة إلى عدم رخص كثير منها. يضاف إلى ذلك أنّ هذه الأصباغ الاصطناعية تقوم بوظائف تكنولوجية، فهي تصلح كطبقة إيساء خارجية، كمحببات، مبعثرات، عوامل ربط، وتشكل طبقة رقيقة رغوية، وتحمل التكهات، ومثخنات، وتخفف من ظاهرة التساحب (synthesis)، تحسن القوام و تزيد مدى صلاحية الغذاء للاستعمال.

تجربة على قابلية أصباغ السللووز على البعثرة وتشكل الهلام بالحرارة:
تهدف هذه التجربة إلى معرفة بعض خصائص أصباغ السيلولوز وإلى تعلم
كيفية القيام ببعثرة الأصباغ السيلولوزية.

المواد اللازمة:

ميتيل سيلولوز، هيدروكسي بروبيل ميتيل سيلولوز، خل، عامل مضاد للرغوة، زبد
نباتي، فلفل مسحوق، دقيق، سكر طعام.

أ- تحضير بعثرة أصباغ السللووز:

1- **تجربة الماء البارد:** أضف 1 غ ميتيل سللووز إلى 99 غ ماء بدرجة حرارة
الغرفة، حرك بشدة، راقب ماذا يحدث.

2- **نفخية الماء البارد/الساخن:** حضر 100 غ سائل مبعثر تركيزه 2% ميتيل
سللووز، وأخر من 2% هيدروكسي بروبيل ميتيل سللووز، وذلك وفق الطريقة
الآتية:

أولاً- بعثر مسحوق السللووز في 2/1 إلى 3/1 كمية الماء اللازمة، على أن
يكون الماء منزوع الشوارد ودرجة حرارته 85-90°س، أنجز ذلك بالتحريك
بشدة.

ثانياً- أضف ما تبقى من الماء وهو بارد، أو ماء ثلج، واستمر بالتحريك حتى
تحصل على مزيج ناعم، وتصل درجة حرارته إلى 22°س. احفظ محلولين
للاستعمالات اللاحقة.

3- البعثرة في وسط لامائي:

أ- وسط زيتى: بعثر 1 غ هيدروكسى بروبيل متيل سللوز فى 38 غ زيت نباتي باستعمال التحرير اللطيف. أضف 23 غ ماء لإماهة دقائق الصمغ بعدها أضف 38 غ خل، وحرك.

قم بعمل تجربة مقارنة بمزج الزيت والماء والخل دون إضافة صمغ السللوز. لاحظ الوقت اللازم حتى تفصل الأطوار. احفظ التحضيرين للاستعمالات التالية.

ب- المزج الجاف: أضف 0.4 غ هيدروكسى بروبيل متيل سللوز إلى 100 غ روبة كعك (60 غ دقيق، 38 غ سكر، 2 غ ملح طعام) امزج وحرك لمدة 2 دقيقة لبعثرة دقائق صمغ السللوز. بعدها أضف 120 غ ماء بارد، وامزج بلطف حتى الحصول على روبة ناعمة. هل هذه الطريقة تؤدي إلى تبليل وإماهة دقائق الكربوهيدرات التي توجد على هيئة أصماع؟.

ب- خصائص صمغ السللوز:

1- التهلم بالحرارة: املأ نصف أنبوب اختبار بمحلول 2% هيدروكسى بروبيل متيل سللوز (من الفقرة 2 في الأعلى) املأ أنبوب ثاني بمحلول 2% صمغ السللوز (من الفقرة 2 في الأعلى). ضع الأنبوبين في حمام مائي بدرجة الغليان. لاحظ السرعة التي يتشكل فيها الهلام في كل أنبوب. في أي الأنبوبين يتشكل الهلام أو لا؟

صب الهلام في طبق بتري، تعرف على قوام الهلام، لاحظ اللون، كما لاحظ سرعة الارتخاء (تمدد) للهلام. أي هلام أكثر ثباتاً من الآخر؟ أي هلام يتلاشى قبل الآخر؟

2- كعوامل استحلاب: أعد فحص المستحلب المحضر في الفقرة 3 في السبق.

لاحظ الآتي:

- ✓ سرعة (زمن) فصل المستحلب.
- ✓ اللون
- ✓ القوام و البنية
- ✓ الطعم لكل مستحلب.

3- الثبات في انخفاض رقم الحموضة:

حدد رقم pH لمزياج الزيت والماء والخل، بوجود صمنع السالوز أو دونه.

4- مساعدات للمعلقات Suspension

مدد 12.5 مل من محلول 2% هيدروكسي بروبيل متيل سالوز (من الخطوة 2، نقية البارد/الساخن في الأعلى) إلى 100 مل بالماء المزال الشوارد وامزج تماماً. بعدها قم باختبار الصفات الحسية لهذا محلول الصمغى الذي يبلغ تركيزه 0.5%.

a- الرائحة (أحاط بدائرة) شديدة، معتدلة، ضعيفة، غير موجودة.

b- الطعم (أحاط بدائرة) شديد، معتدل، ضعيف، غير موجود.

6-6- هلامات الأجينات:

تهدف هذه التجربة إلى دراسة كيفية تشكيل الهمامة مع التعرف على خصائص هلام الأجينات.

المواد:

- أجينات قليلة الكالسيوم والصوديوم.
- كلوريد الكالسيوم.
- ملونات غذائية.

طريقة العمل:

- (1) حضر محلول 5% كلور الكالسيوم.
- (2) حضر معلق 1% الأجينات، وذلك بإضافة الماء إلى الصمغ من خلال الفتحة الصغيرة في أعلى كأس الخلط وهو يعمل. أضف اللون الغذائي.
- (3) صب معلق الصمغ ببطء إلى محلول كلوريد الكالسيوم ولاحظ التشكيل الفوري للهلام.
- (4) ضع الصمغ في زجاجة ساعة، ولاحظ على مدى عدة أيام تشكل التدمير (ظهور قطرات مفصولة من الماء في الصمغ).



الفصل السابع

المكملات الغذائية

Nutrients Supplement

7-1- مقدمة حول المكملات الغذائية:

المكملات الغذائية هي الإضافات الغذائية التي إذا ما أضيفت إلى الغذاء تؤدي قبل كل شيء إلى رفع قيمته الغذائية. وقد اقتصرت عندما بدأ اعتبارها مضادات غذائية، على الفيتامينات والمواد الغنية بالمعادن الأساسية (أي أملاح هذه المعادن) وبعض البروتينات والحموض الأمينية الأساسية، إلا أنه الآن يشمل مفهوم المكملات الغذائية كمضادات إلى بعض الأغذية، ألياف الغذاء والحموض الدهنية من النمط أوميجا-3 وأوميجا-6- مع بعض أنواع مضادات الأكسدة الطبيعية من الفينولات. وكل ذلك لإغناء الأغذية ولجعلها تسد احتياجات الإنسان بالإضافة إلى تحقيق توازن عند وجود حمية طفيفة أو محدودة أو لقيامها بوظائف تدعيم من قيام الإنسان بوظائف مفيدة تؤدي إلى تحسين نمط وجودة الحياة.

من الفيتامينات الذواقة في الماء التي تصاف أكثر من غيرها إلى الأغذية فيتامين سي، فيتامين B1، رابيفين B2، نياسين B3، بيرودوكسين B6، كوبالمين B12، فولات. ومن الفيتامينات الذواقة في الدهون، كالسيفروول D2، توکوفيرول E. ونخص بالذكر من المعادن الكالسيوم والحديد والبيود. وتعد الحموض الأمينية الأساسية جميعها مهمة لا بل أساسية في التغذية، ويضاف

منها أهم حمضين، المياثيونين، واللايسين، ويوجد الأول بقلة في البقول في حين أن الثاني لا تحوي الحبوب إلا كميات محدودة غير كافية منه.
وكخلاصة على موضوع إغناء الأغذية بالكمادات الغذائية نذكر ما تقوم به بعض الدول من إغناء لمنتجات الحبوب من الفيتامينات والأملاح، جدول .(1-7)

جدول (1-7) إغناء منتجات الحبوب

المضاف الغذائي مع/100 غ	المضاف الغذائي فيتامين A	المضاف الغذائي مع/100 غ	المضاف الغذائي نياسين
950 وحدة دولية		0.77-0.44	
140-110	كالسيوم	0.48-0.27	رايبوفلافين
4.3-2.9	حديد	6.40-3.50	نياسين
(متوسط) 2.2	زنك	0.05-0.04	حمض فوليك
190-150	مغنيزيوم	0.31-0.25	بيرودوكسين

7-2- تعين العناصر المعدنية في منتجات الغذاء المعلبة

أولاً - تعين العناصر المعدنية في منتجات الغذاء المعلبة باستعمال قياس طيف الامتصاص الظري (طريقة الالترميدي):
المبدأ:

تغلق المواد الغذائية في حمض كلور الماء، الذي يقوم باستخلاص المعادن ويفكك النشاء والبروتين في العينة ويسمح بترسيحها. بعدها تحلل الرشاحة لمعرفة محتواها من المعادن بقياس طيف الامتصاص الظري.

الأجهزة:

مطياف الامتصاص الذري، دوارة حجمية، ممتصات، خلاط، صفيح ساخن.

الكواشف:

حمض كلور الماء المركز
 محلول كلور الكالسيوم (Ca 100 مغ/لیتر)
 محلول كلور اللانثانيوم 10%
 محلول نترات النحاس (Cu II) (1000 مغ/لیتر)
 محلول نترات الحديد (III) (Fe 1000 مغ/لیتر)
 محلول كلور الزنك (Zn 1000 مغ/لیتر)
 محلول نترات القصدير (Sn II) (1000 مغ/لیتر)
 أي محلول معياري آخر لمعادن أخرى.

طريقة العمل:

1- إعداد العينة: زن علبة غذاء مع محتوياتها وسجله. افتح العلبة وانقل محتوياتها إلى الخلط، واغسل العلبة إن كان ضروريًا بمقدار معروف من الماء وأضيف الغسالة إلى الخلط (لا تترك العلبة).

اخلط العينة لتحصل على مزيج متجانس. وزن بدقة مكررين وزن كل منها نحو 10 غ وضعهما في دورقين مخروطيين 250 مل وسجل وزنهما. أضيف 20 مل ماء مقطر بأسطوانة مدرجة ثم 5 مل حمض كلور الماء المركز.

ضع الدوارق على صحن تسخين حتى الغليان واستمر بالغليان مدة دقيقة، بعدها برد.

انقل كمياً محتويات الدوارق إلى دوارق حجمية 50 مل ومدد بالماء إلى الحجم. امزج جيداً ورشح عبر ورقة ترشيح للحصول على كمية كافية للتحليل (نحو 10 مل).

2- تحضير المحاليل المعيارية: حضر مجالاً من المحاليل المعيارية لكل عنصر مراد قياسه وذلك بتمديد محلول الرئيسي. ينبغي أن تكون تركيزها ضمن المجال الخطي للجهاز ومناسبة لكميات العنصر في الغذاء التي تتراوح بين 5-0 مغ/لتر. يضاف عند تحضير محليل الكالسيوم 1 مل من 10% كلور الالاثانيوم لكل 100 مل من محلول المحضر وذلك قبل استكمال الحجم، لتخفييف تداخل الفوسفات إلى حدود الأدنى، امزج كل محلول بقلب الدورق.

3- التعبير وتحليل المحاليل: هيئ مطیاف الامتصاص النري وفق تعليمات الشركة الصناعية وضعه على طول الموجة الملائمة للعنصر. صفرّ الجهاز باستخدام محلول 0 مغ/لتر. بعد ذلك قس امتصاص كل محلول معياري.

وبطريقة مماثلة قم بقياس امتصاص محلول العينة. مدد العينة إذا كان امتصاصها مرتفعاً وذلك لأخذ حجم معلوم وتتمديه بالماء ثم إعادة قراءته. الحساب:

جهز منحي تعبير يربط الامتصاص مع التركيز وذلك برسم أفضل مستقيم يمر بين النقاط واحسب محتوى العينة من المعادن من امتصاص محلول العينة وما يقابلها على منحي التعبير من معدن، وذلك وفق المعادلة:

$$\text{المعدن في الغذاء مقدراً بجزء بالمليون} = \frac{W}{50} \times M$$

M = جزء بالمليون محتوى محلول العينة

W = وزن عينة الغذاء غ.

ثانياً - تعين العناصر المعدنية في الأغذية بقياس طيف الامتصاص الذري

(طريقة الترميد):

المبدأ:

يرمد أولاً الغذاء ويذاب الرماد الناتج بحمض كلور الماء ثم تقدر العناصر المعدنية بقياس طيف الامتصاص الذري (ISO 5889)، لتعيين الألمنيوم والنحاس والرصاص والزنك بطريقة الامتصاص الذري باللهب.

الأجهزة:

مطياف الامتصاص الذري، دوارق حجمية، ممتصات، بوائق، حمام مائي أو فرن، صحن تسخين، صوف زجاجي.

الكواشف:

حمض كلور الماء المركز
غليسروول

محلول كلور الكالسيوم (100 مغ/لتر Ca)

محلول كلور الlanthanium 10 %

محلول نترات النحاس (II) (Cu) 1000 مغ/لتر

محلول نترات الحديد (III) (Fe) 1000 مغ/لتر

محلول كلور الزنك (Zn) 1000 مغ/لتر

أي محلول معياري آخر لمعادن أخرى.

طريقة العمل:

1- الحصول على الرماد: زن بدقة 4-6 غ غذاء في بونقة سبق حرقها وتبريدها وزنها. بخر عينات الغذاء السائلة أو عالية الرطوبة حتى الجفاف أو حتى تغدو صغيرة الحجم على حمام مائي أو فرن بالدرجة 100°م.

أضف إلى عينات الدقيق والرز المطحون والحبوب المطحونة بضع نقاط من الغليسروول وامزج.

سخن ببطء فوق مصباح بنزن حتى يتفحّم الغذاء. انقل البونقة إلى فرن الترميد بالدرجة 550°م، ودعها حتى تحصل على رماد أبيض أو رمادي فاتح. رطب بقليل من الماء لإذابة الأملاح إذا كان الراسب أسود اللون، ثم جفف في الفرن وأعد الترميد. برد في المجفف.

2- تحضير محلول الترميد: أضف إلى البونقة التي تحوي الرماد نحو 5مل من حمض كلور الماء المركز واغل لمدة 5 دقائق على صحن التسخين ضمن ساحبة الغازات، وأضف زيادة من الحمض إذا لزم ذلك المحافظة على الحجم. انقل إلى كأس واغسل البونقة بالماء المقطر فوق الكأس.

عدل الحجم إلى نحو 40مل واغل لمدة 10 دقائق فوق مصباح بنزن. برد ورشح عبر صوف زجاجي إلى دورق حجمي 100مل واغسل الكأس بالماء المقطر فوق الدورق الحجمي، برد، وأكمل إلى الحجم. واستعمل محلول الرماد هذا لتعيين العناصر المعدنية.

3- تحضير المحاليل المعيارية: حضر مجالاً من المحاليل المعيارية لكل عنصر مطلوب تعبينه وذلك بتتمديد محلول الرئيسي. ينبغي أن تكون تراكيز المحاليل

المعيارية ضمن المجال الخطى للجهاز ومناسبة لمقدار العنصر في الغذاء وعادةً توجد العناصر المشار إليها في الغذاء ضمن مجال ٥-٠ مغ/لتر.

عند تحضير محليل الكالسيوم أضاف ١مل من ١٠٪ كلور الالانثانيوم لكل ١٠٠مل من محلول المعد للقراءة وذلك قبل استكمال الحجم. تفيد هذه الإضافة في الحد من تداخل الفوسفات. امزج كل محلول بقلبه عدة مرات.

خذ بالملاصنة ١٠مل من محلول الرماد وضعها في دورق حجمي ١٠٠مل، وأضاف ١مل ١٠٪ محلول كلور الالانثانيوم عند تعين الكالسيوم وأكمل الحجم بالماء المقطر.

٤- التعبير وتحليل المحاليل: هي جهاز الامتصاص الذري وفق تعليمات الشركة الصناعية واضعًا طول الموجة المناسب لقياس العنصر المراد تحليله. صغير الجهاز مستعملًا محلول ٥ مغ/لتر. وبعدها قم بقياس امتصاص كل محلول معياري.

بنفس الطريقة قم بقياس الامتصاص لمحلول الرماد. مدد محلول الأخير إذا كان امتصاصه مرتفعاً وذلك بأخذ حجم معين وتمديده بالماء وإعادة القراءة.

الحساب:

حضر منحنى تعبير يربط بين الامتصاص والتركيز وذلك برسم أفضل مستقيم يمر بين النقاط. واحسب من امتصاص محلول الرماد تركيز المعدن في عينة الغذاء وفق المعادلة:

$$\frac{M}{W \times V} = \% \text{ المعدن في الغذاء}$$

M = جزء بالمليون للمعدن في محلول الرماد الممدد و يؤخذ من منحني التعبير
 W = وزن الغذاء المستعمل، غ.

V = محلول الرماد الممدد إلى 100 مل

$$\text{المعدن مقدراً بجزء بالمليون في الغذاء} = \frac{W \times V}{10^4} \times M$$

7-3- تعين ألياف القوت في الأغذية بطريقة AOAC الأنزيمية

الوزنية:

المبدأ:

يعين في هذه المقاييسة محتوى الأغذية من ألياف القوت باستعمال الطريقتين الأنزيمية والوزنية. و تعالج الأغذية الخالية من الدهن والجافة بألفا أميلاز المتحملة للحرارة حتى تنهى العينة. ثم تهضم أنزيمياً بإضافة البروتيناز وأميلاز غلوكونزيداز لإزالة البروتين والنشاء الموجودين في العينة. ويضاف الإيثانول لترسيب ألياف القوت الذوابة، ويغسل الراسب بعد ترشيحه بالإيثانول والأسيتون ويحفف ويوزن. يؤخذ نصف الراسب ويحل البروتين فيه ويقدر في النصف الثاني الرماد. وتؤخذ كمية ألياف القوت الكلية على أنها وزن الراسب ناقصاً منه وزن البروتين والرماد.

الأجهزة:

بونقة ترشيح زجاجية، درجة مساميتها 2 (40-60 ميكرومتر)، فرن التجفيف، مرمرة بالدرجة 525 °م، حمام مائي بدرجة الغليان، حمام مائي بالدرجة 60 °م مع خلاط، جهاز قياس pH.

الكاشف:

إثير البنزول

إيثانول 95%

إيثانول 78%

أسيتون

ألفا أميلاز ثابتة حرارياً (Sigma product No. A0164)

أميلاز غلوكوزيداز (Sigma product No. A19913)

محلول هيدروكسيد الصوديوم M 0.171

محلول حمض الفوسفور M 0.205

سيلييت مغسول بالحمض Celite , acid washed

محلول فوسفات موقى M 0.05 pH 6.0: يحضر بإذابة 0.875 غ من

فوسفات الهيدروجين ثنائية الصوديوم اللامائية، Na_2HPO_4 مع 5.26 غ من

فوسفات الصوديوم ثنائية الهيدروجين اللامائية NaH_2PO_4 في نحو 700 مل

ماء. وتمدد إلى ليتر. تأكد من pH، وعدهه إلى 6 إذا كان ضرورياً

بهيدروكسيد الصوديوم أو بحمض الفوسفور. احفظه في وعاء مغلق بالثلجة.

طريقة العمل:

احرق أربع بواتق (اثنتين لعينة التحليل واثنتين للشاهد) ويرد. أضف

0.5 غ من السيلييت لكل بواتق، جفف حتى تحصل على وزن ثابت، وسجل

الوزن الدقيق، واحفظ في المجفف الزجاجي. استخلص الدهن من العينة إذا

كانت نسبة تزيد على 5% مستعملاً إثير البنزول بكمية 3×25 مل من المذيب

لكل غرام عينة. سجل فقد الوزن الناشئ عن استخلاص الدهن واجر التصحيح المناسب على النسبة المئوية للألياف.

امزج عينة الغذاء، وجنسها إذا كان ضروريأً، وجفف في فرن بالدرجة 105°م. برد في مجفف زجاجي. اطحن العينة حتى الحصول على دقائق ناعمة، واحفظها في المجفف لحين التحليل.

زن بدقة في أربع كؤوس زجاجية سعة كل منها 400 مل أربع عينات وزن كل منها نحو 1 غ من الغذاء محلل. وأضف 50 مل محلول فوسفاتي موفي (pH=6) لكل كأس.

أضف 0.2 مل محلول ألفا أميلاز لكل كأس وامزج جيداً. غط كل كأس برقاقة ألمنيوم وضعه في حمام مائي بدرجة الغليان لمدة 30 دقيقة وحرك الكؤوس كل 5 دقائق. وتحسب بداية فترة 30 دقيقة من زمن بلوغ درجة الحرارة الداخلية في الكؤوس إلى 95°م. برد المحاليل إلى درجة حرارة الغرفة. عدل من pH المسائية في المحاليل في الكؤوس إلى 7.5 بإضافة 10 مل من 0.17 M هيدروكسيد الصوديوم وتأكد من رقم pH، وعدل عند الضرورة إما بهيدروكسيد الصوديوم أو حمض الفوسفور.

أضف 5 مغ بروتياز لكل كأس. يوجد هذا الإنزيم بشكل مسحوق ولذا من المناسب تحضير محلول يحتوي 5 مغ/مل وذلك بإذابة 0.035 غ بروتياز في 7 مل محلول فوسفاتي موفي، وأخذ 1 مل من هذا محلول وإضافته إلى كل كأس.

غط كل كأس برقاقة المنيوم وحضن لمدة 30 دقيقة بالدرجة 60°م مع التحريك المستمر. ويحسب وقت الحضن بدءاً من بلوغ درجة حرارة الكؤوس الداخلية الدرجة 60°م. برد لدرجة حرارة الغرفة.

أضاف 10مل حمض الفوسفور M-0.205 لكل كأس وعدل pH المحاليل إلى نحو 4.5 وتأكد من صحة ذلك باستعمال جهاز قياس pH وعدل عند الضرورة باستعمال هيدروكسيد الصوديوم أو حمض الفوسفور.

أضاف 0.3 مل أميلوغلوكوزيداز لكل كأس. غط كل كأس برقاقة المنيوم وحضن لمدة 30 دقيقة بالدرجة 60°م مع التحريك المستمر. ويحسب زمن الحضن بدءاً من بلوغ درجة حرارة الكؤوس الداخلية الدرجة 60°م. أضاف 280مل أو 4 حجوم من 95% إيثانول المسخن مسبقاً إلى الدرجة 60°م لكل كأس.

دع الراسب يتشكل في درجة حرارة الغرفة لمدة ساعة على الأقل، أو طيلة الليل، وتأكد أن زمن الترسيب هو نفسه مع الكؤوس جميعاً. رطب وحرك طبقة السيليت في كل بونقة باستعمال 78% إيثانول. وطبق التفريغ لتوزيع السيليت على المرشح الزجاجي على هيئة حصيرة متGANة. انقل كمياً، مع الاستمرار بالتفريغ، الرواسب والمعليقات من كل كأس إلى البونقة الخاصة. واغسل الراسب ثلاث مرات بـ 20مل من 78% إيثانول، ومرتين بمقدار 10مل 95% إيثانول، ومرتين بمقدار 10مل أسيتون. وإذا تشكل هلام، اكسر سطحه بالملعقة، واغسلها في البونقة. يستغرق زمن الترشيح 30 دقيقة وسطياً، ويتراوح بين 5 دقائق إلى 6 ساعات.

جفف البوتقات التي تحوي الرواسب طيلة الليل في الدرجة 105°م في فرن ذي هواء ساخن أو في فرن تفريغ 70°م. برد جميع البوتقات وزنها. سجل الوزن على أنه (الراسب + السيليت + البوتقة). حل البروتين في بقايا إحدى العينتين وإحدى الشاهدتين مستعملاً طريقة كلداهل وعامل تحويل 6.25.

رمد الراسب من العينة والشاهد الأخرى لمدة 5 ساعات في الدرجة 525°م. برد في المجفف الزجاجي وزن. يؤخذ الوزن على أنه يساوي (الرماد + السيليت + البوتقة).

الحساب:

احسب النسبة المئوية لألياف القوت الكلية كما يلي:

$$1 - \text{وزن الراسب} = (\text{الراسب} + \text{السيليت} + \text{البوتقة}) - (\text{السيليت} + \text{البوتقة})$$

$$2 - \text{وزن الرماد} = (\text{الرماد} + \text{السيليت} + \text{البوتقة}) - (\text{السيليت} + \text{البوتقة})$$

$$3 - \text{البروتين \% في راسب الشاهد} = \frac{\text{وزن راسب الشاهد مع}}{\text{وزن راسب الشاهد مع}} \times 100$$

$$4 - \text{الرماد \% في راسب الشاهد} = \frac{\text{وزن راسب الشاهد مع}}{\text{وزن راسب الشاهد مع}} \times 100$$

$$5 - \text{البروتين \% في راسب العينة} = \frac{\text{وزن راسب العينة مع}}{\text{وزن راسب العينة مع}} \times 100$$

$$6 - \text{الرماد \% في راسب العينة} = \frac{\text{وزن راسب العينة مع}}{\text{وزن راسب العينة مع}} \times 100$$

$$7 - \text{الشاهد} = [W_b \times [100 / (A_b + P_b)]] - W_b$$

حيث W_b = متوسط وزن راسب الشاهد مع.

$$8 - \text{ألياف القوت الكلية \%} = \frac{100 - \frac{W_s \times [100 / (A_s + P_s)] - w_s}{\text{متوسط وزن العينات مع الشاهد}}}{100}$$

حيث W_s متوسط وزن الراسب في العينات بـ μg .

7-4- تعين فيتامين C، حمض أسكوربيك:

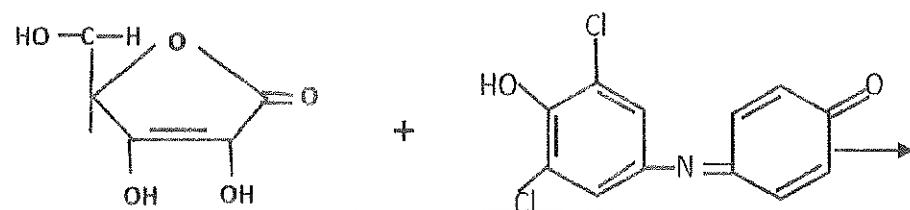
مقدمة:

من الفيتامينات الذوابة في الماء، وتشبه صيغته السكريات الأحادية وخاصة الغلوكوز، ويكون في النباتات من حمض غلوكونيك، أحد مشتقات الغلوكوز . دوره البيوكيميائي يتعلق بكونه عامل مرجع جيد. يدخل في تفاعلات إضافة مجموعة OH لكثير من المركبات وخاصة تحول البرولين إلى مشتقه هيدروكسي برولين. كيميائياً تستفيد من كون حمض أسكوربيك عامل مرجع بمعاييره بعوامل مؤكسدة منها اليود وصبغة أندوفينول. كما يعاير بمحلول

.EDTA

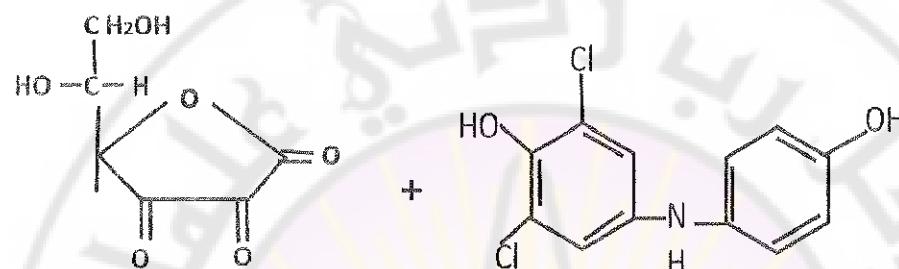
المبدأ:

يتآكسد حمض أسكوربيك بصبغة 2، 6 - ثانوي كلورو فينول أندوفينول إلى حمض ديهيدروأسكوربيك، وترجع الصبغة الزرقاء إلى مركب عديم اللون، حيث تعرف نقطة انتهاء المعايرة بسهولة.



حمض L-أسكوربيك

2، 6 - ثائي كلورو فينول أندوفينول (أزرق)



صيغة بيضاء عديمة اللون حمض أسكوربيك منقوص الهيدروجين

ترجع صيغة أندوفينول، ويزول لونها الأزرق، بتاثير مواد أخرى غير حمض أسكوربيك، إلا أن تخصصها النوعي نحو حمض أسكوربيك يزداد عندما تجري معالجة حمض أسكوربيك في وسط حمضي، وتتفاعل ببطء المواد المرجعة المترافقه مع حمض أسكوربيك.

المواضي والكوافر:

- محلول صبغة أندوفينول:

أذب 0.05 غ من الملح الصودي للصبغة 2، 6 - ثائي كلورو فينول أندوفينول الجافة في 50 مل ماء. ثم أضاف 42 مل غ ثاني كربونات الصوديوم. حرك حتى تذوب الصبغة، و مدد بالماء حتى 200 مل. رشح واحفظ محلول الصبغة في زجاجة بنية في البراد. عاير قوة الصبغة بمحلول فيتامين C.

- محلول معياري لفيتامين C:

يحضر محلول معياري من حمض أسكوربيك بحوي على 0.02 ملخ/مل.

يداب كمية فيتامين C (10 ملخ) في مزيج مكون من 15 غ HPO₃ و 40 مل حمض أورثو الفوسفور المركز، وتمدد بالماء إلى حجم 500 مل. رشح واحفظ في البراد. يبقى هذا محلول المعياري صالحًا لمدة 7-10 أيام. يمكن استبدال الماء بمحلول 0.3 عياري حمض الكبريت.

- حمض خل مركز، حمض أورثو الفوسفور المركز، عصير فاكهة، سحاحات، ماصات، دوارق مخروطية، كلوروفورم.

طريقة العمل:

أ- تقدير فيتامين C في المحاليل غير الملونة:

خذ 5 مل عصيرًا ممدداً، يحتوي 0.1 ملخ فيتامين، في دوارق مخروطية، وأضف 1 مل حمض خل مركز. وعابر بالصبغة الزرقاء حتى ظهور لون بنفسجي فاتح. وسجل الكمية ع. أعد المعايرة مع 5 مل ماء، وسجل الكمية المستهلكة من الصبغة ش. عابر محلول معياري من حمض أسكوربيك (5 مل) وسجل المعايرة ق.

احسب كمية فيتامين C في العينة وفق المعادلة:

$$\text{فيتامين C في العينة (ملخ/100 مل)} = \frac{\text{ع}-\text{ش}}{\text{ق}-\text{ش}} \times 2 \times \text{التمديد}$$

بـ - تقدير فيتامين C في المحاليل الملونة:

يصعب رؤية نقطة انتهاء المعايرة في المحاليل الملونة، لذلك يضاف 1مل كلوروفورم إلى العينة قبل البدء بالمعايرة، وتعتبر نقطة انتهاء المعايرة تتلون الكلوروفورم باللون البنفسجي. تعامل العينة الشاهد والمحلول المعياري بالطريقة نفسها أي يضاف إليها 1مل كلوروفورم قبل البدء بالمعايرة. وتنتمي المعايرة والحساب كما ورد في الفقرة أ.

7-5- تعين الحموض الدهنية (أميغا 3، أميغا 6، أميغا 9) بالكروماتوغرافيا الغازية:

يتم تعين ما تحتويه الدهون والزيوت من الحموض الدهنية بواسطة تحليل الأسترات الميتيلية أو البوتيلية للحموض الدهنية باستعمال جهاز الكروماتوغرافيا الغازية. ويمكن تحضير هذه الأسترات بطرق مختلفة.

أـ - تحضير الأسترات الميتيلية - الاسترة بطرقة ثلاثي فلوريد البورون/ميثانول: المبدأ:

بعد إجراء عملية تصبن الدهون تحضر الأسترات الميتيلية للحموض الدهنية باستعمال الميثانول وحافز من ثلاثي فلوريد البورون، ثم تفصل الأسترات وتميز بالكروماتوغرافيا الغازية.

الكاشف:

- ✓ كاشف ثلاثي فلوريد البورون/ميثانول
- ✓ M 0.5 ماءات الصوديوم بالميثانول
- ✓ هبتان
- ✓ دهون و زيوت
- ✓ كبريتات الصوديوم اللامائة
- ✓ مطهول مشبع من كلوريد الصوديوم

طريقة العمل:

زن 0.25-0.5 غ من الزيت أو الدهن وضعها في دورق مكثف مرتد. أضف 6 مل من محلول 0.5 M ماءات الصوديوم بالميثanol، وصل المكثف وسخن حتى تتحل دفائق الدهن (يلزم عادة 5-10 دقائق). أضف 7 مل من كاشف ثلاثي فلوريد البورون/ميثanol، وصل المكثف وأغل لمدة دقيقتين. بعدها أضف 2-5 مل من الهيتان عبر المكثف وأغل لمدة دقيقة.

أبعد الدورق المرتد من المصدر الحراري وأضف كمية كافية من محلول كلوريد الصوديوم المشبع حتى يطفو محلول الهيتان وفيه الأسترات المتكونة إلى قمة الدورق. خذ 1 مل من محلول الهيتان إلى أنبوبة اختبار وأضف كمية صغيرة من كبريتات الصوديوم اللامائية للتجفيف. احقن الهيتان المجفف في جهاز الكروماتوغرافيا الغازية وميز القم واحسب الحموض الدهنية الموجودة.

ب - الأسترات الميتيلية - الأسترة بميتوكسيد الصوديوم: المبدأ:

تحضر الأسترات الميتيلية مباشرةً بمعالجة الدهون مع ميتوكسيد الصوديوم ثم فصلها بالكروماتوغرافيا الغازية.

الكاشف :

- إثير البنزول (40-60)
- دهون أو منتجاتها
- M 1 ميتوكسيد الصوديوم في الميثanol. و يحضر بإذابة 1.15 غ صوديوم في 50 مل من ميثanol.

طريقة العمل:

زن 0.25-0.5 غ من الدهن أو الزيت في عبوة صغيرة ذات غطاء حلواني، وأضف إليها 0.15 مل من ميتوكسيد الصوديوم بالماصة. أغلق العبوة وحرك بشدة لبضع ثوان. يبدو المحلول لأول مرة رائفاً مایليث أن يتغير إلى عكر لترسب غليسوكسيد الصوديوم. دع العبوة جانبًا لمدة 5 دقائق، واحفن في جهاز الكروماتوغرافيا الغازية. ميز القمم و احسب الحموض الدهنية الموجودة.

ج - الأسترة الميتيلية أو البوتيلية - طريقة ماءات البوتاسيوم الكحولية:

المبدأ:

تحضر استرات الميتيل أو البوتيل للحموض الدهنية المكونة للدهون والزيوت بمعالجة الدهن أو الزيت إما بماءات البوتاسيوم في الميثانول (التحضير الاسترات الميتيلية) أو بماءات البوتاسيوم في البوتانول (التحضير الاسترات البوتيلية). والاسترات البوتيلية أكثر استعمالاً من الاسترات الميتيلية لتقدير الحموض الدهنية القصيرة السلسلة كما في الحليب.

الكواشف:

- هكسان

- M 3 ماءات البوتاسيوم في الميثانول

- M 3 ماءات البوتاسيوم في البوتانول

- محلول كلوريد الصوديوم المشبع.

طريقة العمل:

حضر نحو 25 مل من محلول 10% من الدهن أو الزيت في الهكسان. خذ بدورق مناسب وعالج 19 مل من محلول الدهن مع 1.25 مل من محلول 3 M ماءات البوتاسيوم في الميثانول أو البوتانول، وحرك لمدة 30 دقيقة. خذ المزيج في أنبوب تتفيل كبير فيه 10 مل من محلول كلوريد الصوديوم المشبع. أغسل الدورق عدة مرات بالماء المقطر وأضفه إلى أنبوب التتفيل (بؤدي استخدام الماء في الغسيل لخفض قمم البوتانول والإيثانول في الكروماتوغرام إلى حدتها الأدنى). حرك لمدة 30 دقيقة، وثقل حتى تظهر طبقة الهكسان المحتوية على الاسترات في أعلى الأنبوب. انقل طبقة الهكسان إلى دورق معلم ومحكم الإغلاق. وقم بفصل استرات الحموض الدهنية بجهاز الكروماتوغرافيا الغازية.

7-6- تعين فيتامين E، التوكوفيرولات:

مقدمة:

بعود نشاط وفعالية فيتامين إي في الأغذية إلى أربعة مركبات من المشتقات الميتيلاية لمركب توكول (هي ألفا، بيتا، جاما، دلتا- توكوفيرول)، بالإضافة إلى أربعة مركبات مقابلة أخرى هي α ، β ، γ ، δ - توكوترايلينول. وهذه المركبات الثمانية لها أهمية بيولوجية مختلفة، فمثلاً ألفا توكوفيرول هو المركب الرئيسي في نسج الحيوان، وأكثرها فعالية. إما في البذور الزيتية في يوجد توكولات أخرى، منها كمثال بيتاتوكوفيرول الذي يملك 30% من فعالية

الفاتوكوفيرول، وجاما توكوفيرول 15%， وألفا توكوتراي إينول 21%， وتملك المركبات الأخرى الباقيه أقل من 5% من فعالية ألفاتوكوفيرول.

التووكولات مضادات أكسدة طبيعية، تقوم بوقف تفاعلات سلسلة الجذور الحرة في أكسدة الشحوم. يوجد فيتامين إيه بتركيز مرتفع في البذور الزيتية وبذور الحبوب (يجوي زيت جنين القمح 2000 ميكروغرام/غ)، كما يوجد في المكسرات، البيض، الزبدة، الأجبان، والكبد. يحتوي زيت النخيل على كميات معنيرة من توكوتراي إينول.

نحتاج في عملي المضافات الغذائية إلى تعين فيتامين إيه في مستحضرات هذا فيتامين المعدة للإضافة إلى الأغذية، كمدعامات غذائية. كما نحتاج أيضاً إلى تعين هذا الفيتامين في الأغذية التي أضيف إليها لمعرفة مصداقية الكميات المضافة التي تذكر على بطاقة البيان الخاص بالمنتج الغذائي.

تعين فيتامين إيه:

استعملت سابقاً طريقة تعتمد على أكسدة التوكوفيرول في محلول ايتانولي بكلوريد الحديد، ومن ثم قياس شدة اللون الأحمر المتكون من تفاعل أيونات الحديد مع مركب α داي بيريديل. ولكن لوحظ أن مركبات مثل الكوليسترول وأشباه الكروتينات تعيق التفاعل السابق. لذلك قامت لجنة تحليل الفيتامينات بمراجعة طرق تحليل فيتامين إيه واقتصرت الطريقة التي تذكرها هنا لفصل وتعيين التوكوفيرولات في الزيوت والأغذية وحتى مواد العلف.

تعتمد الطريقة اللونية هذه على قياس اللون الأحمر المتكون من أكسدة التوكوفيرولات بحمض الأزوت إلى توكوكوبينون. وهي أكثر نوعية وتخصصاً

من الطريقة التي تعتمد على أكسدة التوكوفيرولات بأيونات الحديد الثلاثي. تتأكسد التوكوفيرولات بسرعة في وجود وسط قلوي، ولكنها أكثر ثباتاً في الوسط الحمضي، وعلى هذا يتم إجراء عملية التصبّن في وسط حمض الكبريت الكحولي.

طريقة العمل:

يمكن تقسيم طريقة العمل إلى جزئين، الأول التصبّن واستخلاص التوكوفيرولات، والثاني التفاعل اللوني.

التصبّن واستخلاص التوكوفيرولات:

خذ عينة وزنها 1 غ وضعها في دورق مخروطي مجهز بمكثف عاكس، وأضف 10 مل كحول مطلق و20 مل حمض كبريت كحولي (تركيز مول واحد). وابداً التصبّن واستمر لمدة 45 د. ثم برد الدورق المخروطي، وأضف 50 مل ماء. انقل إلى قمع فصل مع إضافة 50 مل أخرى من الماء. استخلص المادة غير المتصلبة بإثير ثانوي إتيل (5×30 مل). تخلص من الحمض الحر الموجود في المستخلص الإثيري، وجفف الخلاصة بإضافة كبريتات الصوديوم اللامائية المجففة جيداً. بخر الإثير على درجة حرارة منخفضة وتخلص من بقايا الإثير بإمرار تيار من النتروجين. أذب مباشرةً الراسب بـ 10 مل إيثانول مطلق.

التفاعل اللوني للمحلول المعياري:

حضر سلسلة من الدوارق الحجمية (20 مل) وأضف إليها محاليل فيتامين إيه، تركيز الفيتامين فيها 0.3 مغ إلى 3.0 مغ. بعدها أضف 5 مل كحول

مطلق، وأنبعه 1مل حمض الأزوت المركز (أضعف الحمض بصورة نقاط مع التحرير المستمر). انقل الدوارق إلى حمام مائي بدرجة 90° ولمدة 3 د بالضبط من زمن بدء غليان الكحول. برد بسرعة تحت ماء الــجفيف وأكمل الحجم بالــكحول المطلق. وقم بقياس الامتصاصية في الموجة 470 نانومتر، مستخدماً عينة شاهدة تحوي 5مل كحول مطلق و1مل حمض آزوت و معاملة بنفس المراحل التي مرت بها سلسلة المحاليل المعيارية.

التفاعل اللوني للعينة المحللة:

يؤخذ حجم مناسب من العينة (1-3مل) ويضاف إليه 5مل كحول مطلق ويجرى عليه الإجراءات نفسها المطبقة على محلول المعياري، حيث تعامل العينة وكأنها أحد دوارق المحلول المعياري.

الحساب:

بعد قراءة امتصاص العينة وسلسلة المحلول المعياري، تتسب قراءة العينة إلى أقرب قراءة لها من المحلول المعياري، ويضرب حاصل القسمة بتركيز المحلول المعياري. ثم نضرب الناتج بعامل التمدد، حيث يعبر ناتج الضرب عن تركيز الفيتامين في وزن العينة المحللة. ومنها يمكن أن نعبر عن التركيز في 100غ أو 1000غ.

تعيين فيتامين E بـ HPLC:

تعتمد الطرق الحالية لتعيين فيتامين إي مع مكوناته من مركبات التوكوفيلولات على استخدام الكروماتوغرافيا السائلة عالية الإنجاز. وفي هذه الطريقة يتم تصفين العينة للتخلص من ثلاثيات الغليسريد وسائر المركبات التي

تحوي في بنيتها على الغليسروول، وهي المركبات القابلة للتصبن، وتشكل أملأ بوتاسيه أو صودية مع القلوبي المستخدم في التصبن. ثم تستخلص المادة غير القابلة للتصبن والتي تضم فيتامين E وسائر الفيتامينات الأخرى الذوابة في الدهون، بالإضافة إلى الستيرولات والشموع وغيرها من مكونات المادة الامتصبنة. بعدها يبخر الإثير ويذاب الراسب من المادة الامتصبنة في الميثانول، ويمد حتى يعطي تركيزاً نحو 20 ميكروغرام/مل من α -توكوفيرول ونحو 10 ميكروغرام/مل من δ -توكوفيرول، وتحقن وتقارن مع المعيار المستخدم. ونظراً لضعف امتصاص التوكوفيرولات، حيث تستخدم موجة إثارة 290 نم وموجة إصدار 330 نم ولكن بحساسية أقل وبانتقائية أضعف بكثير، يستخدم في معظم التحاليل التي تعتمد على الكروماتوغرافيا السائلة عالية الإنجاز أعمدة فيها جسيمات من قطر 5 أو 10 ميكرون من السيليكا أو من مشتقاتها محسنة في أعمدة من ستانلس ستيل طولها 250 ملم وقطرها 4.6 ملم.

تسمى التوكوفيرولات والتوكوتريابينول بكلمة واحدة توكولاز (Toccols). وهي مركبات ذوابة في الليبيات فتتأكسد بسهولة عند تعرضها إلى الحرارة والضوء والظروف القلوية. وكيميائياً مكونة من حلقة قطبية تسمى كرمونال (Chromanol) وسلسلة جانبية هيدروكربونية مكونة من 16 ذرة كربون متصلة إلى الحلقة. تضم التوكوفيرولات سلسلة فايتنيل مشبعة، في حين تضم التوكوتريابينول سلسلة جانبية مكونة من ايزوبرينيل فيها ثلاثة روابط مزدوجة. توجد التوكوفيرولات والتوكوتريابينولات على هيئة أربع فيتاميرات

(مماكبات الفيتامين) وهي (α , β , γ , δ) والتي تختلف عن بعضها بعدد وموقع مجموعة الميتييل على حلقة كرومانول. تحصل الحيوانات على التوكولات عبر غذائها، لأن هذه المركبات تصنعها فقط النباتات عبر الاصطناع الحيوي في الأحياء القادره على البناء الضوئي، وفي جدار الصانعات الخضوريه بصورة أساسية. أو في الصانعات نفسها أو الأجسام الزيتية في البذور. ولذلك تنتشر التوكوفيرولات في النباتات العليا، في حين توجد توكوترايابينول فقط في بعض النسج التي لا يتم فيها البناء الضوئي، مثل بذور بعض أحاديات الفلقة وفي اللبن النباتي (Latex). ونقول أن التوكوفيرولات توجد في معظم الأغذية النباتية، كمثال الزيوت النباتية والمكسرات فهي غنية بها. ويعود وجود التوكوترايابينول في الغذاء إلى تناول زيت النخيل وبعض الحبوب كالقمح والشعير والشوفان.

تحضير العينة للتحليل:

يعد تحضير العينة للتحليل من أكثر خطوات التحليل تطلبًا للزمن، كما أنه مصدر رئيسي للخطأ في التحليل. ولتحفيظ ذلك يلجأ إلى اعتماد أكثر المراحل بساطة في تحضير العينة. التوكولات مركبات ذوبانه في الدهون وهي لذلك جاهزة للذوبان في المذيبات العضوية، ولذا يستخدم الاستخلاص بالمذيبات لعزل التوكولات من الزيوت والبذور والنسيج الحيوانية. تستعمل مع العينات القاسية الحلماء القلوية قبل الاستخلاص المساعدة على تحرير التوكولات من الخلايا.

ولتجنب أكسستها يلجاً في إثناء إعداد العينة إلى إضافة مواد مضادة للأكسدة مثل حمض أسكوربيك أو بيروغالول، أو استعمال جو من غاز خامل (نتروجين).

العينة السائلة: يؤخذ 1مل عينة ويضاف إليها 1مل ميتانول يحتوي على 3% بيروغالول، بعدها يضاف 1مل محلول مائي من KOH (10%) تخلط العينة وتوضع في حمام مائي في الدرجة 70 لإنتمام عملية التصبن لمدة 30 دقيقة، وفي إثنائها يخلط الأنابيب في خلاط الأنابيب بعد مرور 15 دقيقة على التصبن. يبرد في الثلاج ومحمض إلى pH=2 بإضافة 6مول HCl، وبعدها يضاف 4مل هكسان. يخلط الأنابيب على خلاط الأنابيب (Vortex) بشدة لمدة 20 ثانية ولثلاث مرات، ويحافظ عليه ضمن الثلاج بين الخلطات. يفصل المستحلب بوضع الأنابيب في مثفلة تدور على السرعة 1300 g لمدة 10 دقائق. تؤخذ بحذر الطبقة العضوية إلى أنبوب جديد زجاجي ويسخن بتسليط تيار نتروجين والأنبوب موجود فوق صفيح ساخن بالدرجة 40م.

يذاب الراسب الدهني بـ 0.5 مل ميتانول- بروبانول-2 (1-1) مع التسخين إلى 30م.

العينة الجامدة: يؤخذ 1 غ من العينة الجامدة يضاف إليها 1مل ميتانول مضاد إليه بيروغالول، وذلك لبعثرة الدهون الموجودة وتسهيل الحصول على التوكولات. يوضع الأنابيب في الثلاج لمدة 10 دقائق. ويضاف إليه 3مل هكسان لاستخلاص التوكوفيرولات. وبعد ذلك تجري خطوات الاستخلاص بالهكسان والفصل والتبيير وإعادة الإذابة كما مر في الفقرة السابقة.

الشروط الكروماتوغرافية:

تم استخدام عمود Supelcosil Lc-Si، أبعاده 250×4.6 ملم قطر داخلي.

الطور المتحرك: إيزوأوكтан/ خلات الإيتيل (2.5:97.5).

معدل التدفق: 1.6 مل/د

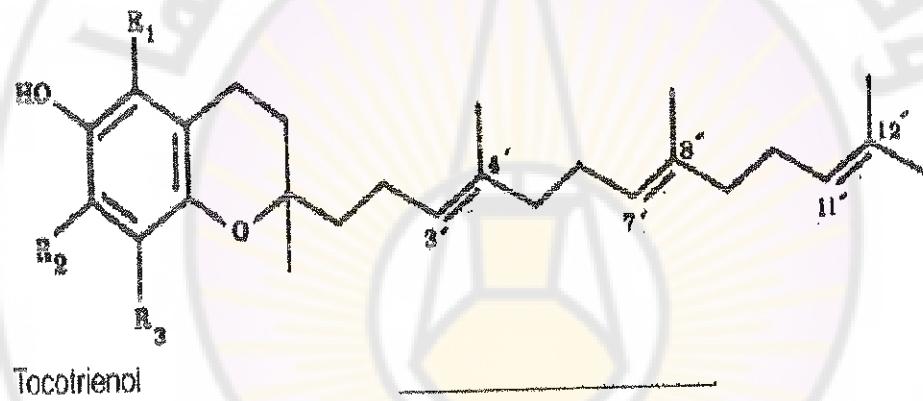
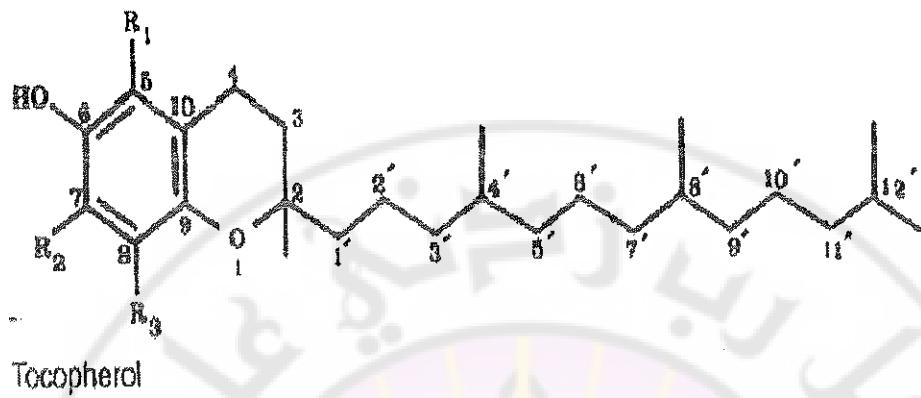
المكشاف المفسفر: طول موجة الإثارة 290 نم وطول موجة الإصدار 330 نم.

إن بعض الباحثين استطاعوا تتبع ظهور قمم أفراد التوكوفيرولات بوضع المكشاف على الموجة 295 نم.

تحضير المحلول المعياري من التوكوفيرولات:

- المحلول المعياري الأولي (1مغ/مل): يحضر محلول من كل نوع من أنواع التوكوفيرولات بالتركيز 1مغ/مل في الإيتانول وتحفظ في الدرجة -20 لمنتهى أسبوع.

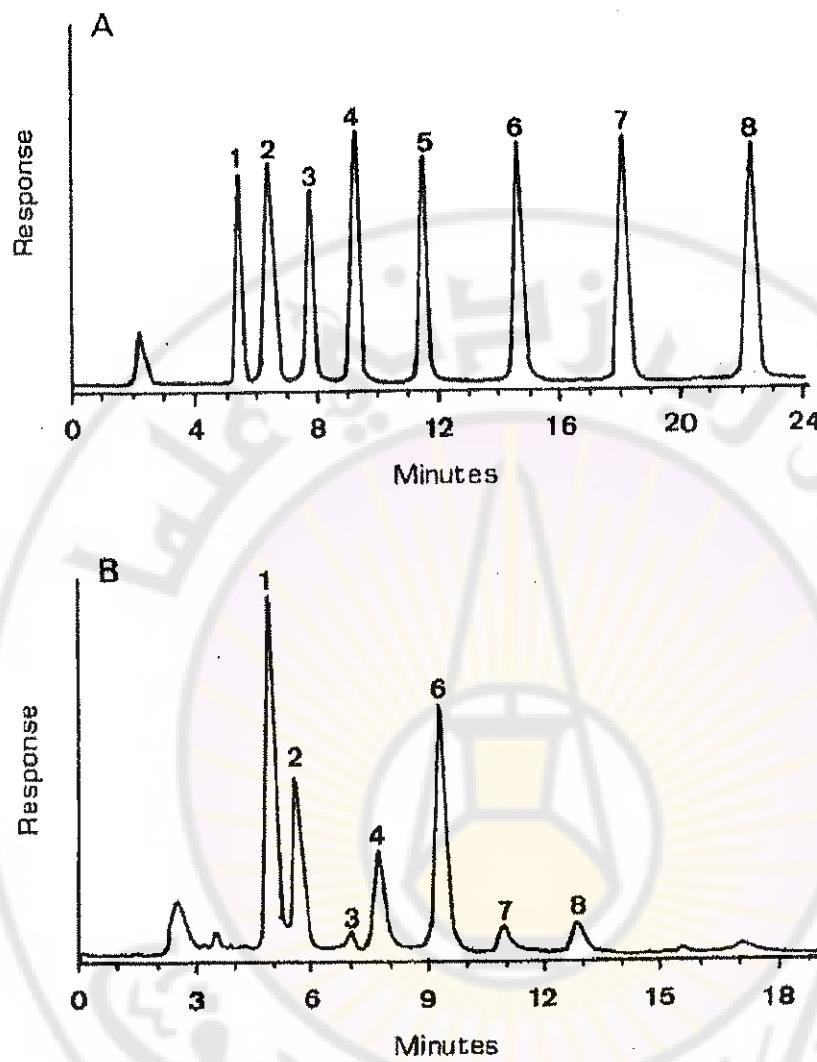
- المحلول المعياري المستخدم (10 ميكروغرام /مل): يحضر بأخذ 1مل من المحلول السابق ويمدد إلى 100 مل بالإيتانول. ويستعمل في الحقن مباشرة في جهاز الكروماتوغرافيا السائلة.



Tocopherol or Tocotrienol

5,7,8 - Trimethyl	α
5,8 - Dimethyl	β
7,8 - Dimethyl	γ
8 - Methyl	δ

الشكل 7-1 الصيغ البنائية لأربعة توكوفيرولات وتوكوتراي إينولات.



الشكل 7-2 كروماتوغرام حقن محلول معياري تحتوي ثمانية من التوكولات وفق الشروط

المذكورة سابقاً. تشير القمم إلى:

- 1 - توكوفيرول α -1
- 2 - توكوتراي اينول
- 3 - توكوفيرول β -3
- 4 - توكوتراي اينول
- 5 - توكوفيرول γ -5
- 6 - توكوتراي اينول β -5
- 7 - توكوفيرول δ -7
- 8 - توكوتراي اينول δ -7

المراجع

أولاً- المراجع العربية:

1. أحمد عارف أحمد، العارف غيث مروان (2006). أساسيات كيمياء الأغذية. دار الكتاب الجديد المتحدة - طرابلس - ليبيا.
2. العودة كرم، سmine غياث (1998). كيمياء تحليل الأغذية (كتاب مترجم) المركز العربي للترجمة و الترجمة.
3. سmine، غياث (1987) الكيمياء الحيوية- جامعة دمشق- دمشق - سوريا
4. سmine غياث، سفر، عادل (1993). المواد المضافة للأغذية - جامعة دمشق - دمشق - سوريا.
5. وزارة الصناعة، هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية. المواصفة القياسية (20/220/67) (2006).
6. وزارة الصناعة، هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية. المواصفة القياسية (89/770) (2007).



ثانياً - المراجع الأجنبية:

1. AOAC (2000). Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 17 ed, Maryland. USA.
2. FDA. Food Additives Analytical manual (1983) volume 1 and 2, published by AOAC international.
3. Food chemical codex, (1986). 3 rd edition supplement page 76-77.
4. Food Chemicals Codex (3 rd. ed) (1986) published by National Academy Press, Washington, D. C., with two supplements.
5. Furia, T.E. (ed)(1980) Handbook of food additives, 2.nd. ed.volume 2. CRC Press.
6. Kirk, RS, Sawyer, R.(1991).Pearson 's Composition and Analysis of food. 9 th edi. Longman.London.
7. Kramer , A and Twigg, B.A.(1973) Quality Control For The Food Industry. Vol. 2, 3 rd. ed.pp. 224.
8. Marmion, D. (1979). Handbook of U.S. Colorants for Foods, Drugs, and Cosmetics, NewYork.
9. Nielsen, S. (2010). Food Analysis Laboratory manual. 2 nd. ed. Springer Science and Business Media. USA.
- 10.Richard, J, Lewis, SR. (1989) Food Additives Handbook. published by Van Nostrand Reinhold , NewYork.
- 11.Warner, E, Modderman, J, Fazio, T. (editors). (1983). Food additives analytical manual, vols 1+2.US Food and Drug Administration.
- 12.Weaver, C. (1996). The food Chemistry Laboratory. CRC Press, Boea Raton Florida ,USA.

13. Willett, P; Anderson, S, Brareton, R, Wood, J. (1996) Determination of preservatives in foodstuffs. Collaborative publ. Analysts 32, 109-175.

المصطلحات العلمية

(INDEX)

(A)

Antioxidant مضاد أكسدة

(C)

Colour لون

Cone Probe الحاس المخروطي

(E)

Enriched إغذاء

Extensibility قابلية التمدد

(F)

Flavour نكهة

Flavour Enhancer معزز نكهة

Food Colorants ملونات الأغذية

(G)

Gel الهلامات

Gras المواد المضافة السليمة عامة

(H)

Hydrocolloid غروبات مائية

(L)

Liquefying Time زمن التمييع

(P)

Penetrometer مقياس النفاذية

(R)

Raising Agent عامل رافع

(S)

Setting Time زمن تشكيل الهلامة

Shelf Life فترة تداول الغذاء

Synthetic Colours ملونات صناعية

(T)

Thickeners مثخنات

Thickening Agent عامل مثخن

Texture Analyzer مقياس البنية

المختصرات و الرموز

AOAC : Association of Official Analytical Chemists

رابطة المحللين الكيميائيين الرسميين

BHA : Butylhydroxyanisol

BHT : Butylhydroxy toluene

ADI : Accepted daily intake

GMP : Good manufacturing practice

TBHP : tert butyl hydroquinone

SPE : solid phase extraction

الملحق

الملحق رقم (I)

جدول بالترقيم العالمي للمواد المضافة المسموح استعمالها في الأغذية، مرتبةً وفق تسليل أرقامها. مأخوذه من لجنة دستور الأغذية للمواد المضافة والملوثات.

INS #	Approvals	Names	Type
100	E	turmeric, curcumin	colour (yellow and orange)
101	E	riboflavin (vitamin B ₂)	colour (yellow and orange)
102	E	tartrazine	colour (yellow and orange) (FDA: FD&C Yellow #5)
103		alkannin, chrysoine resorcinol	colour (red)
104	E	Quinoline Yellow WS	colour (yellow and orange) (FDA: D&C Yellow #10)
107	E	Yellow 2G	colour (yellow and orange)
110	E	Sunset Yellow FCF	colour (yellow and orange) (FDA: FD&C Yellow #6)
111	E	Orange GGN	colour (orange)
120	E	Cochineal, carmines	colour (red)
121		Citrus red 2, Orcein, Orchil	colour (red)
122	E	azorubine, carmoisine	colour (red) (FDA: Ext D&C Red #10)
123	E	amaranth	colour (red) (FDA: [DELISTED] Red #2)
124	E	Brilliant Scarlet 4R, Ponceau 4R	colour (FDA: Ext D&C Red #8)
125		Ponceau SX, Scarlet GN	colour

126		Ponceau 6R	colour
127	E	erythrosine	colour (red) (FDA: FD&C Red #3)
128	E	Red 2G	colour
129	E	Allura red AC	colour (FDA: FD&C Red #40)
130		Indanthrene blue RS	colour (blue)
131	E	Patent blue V	colour (blue)
132	E	indigo carmine, indigotine	colour (blue) (FDA: FD&C Blue #2)
133	E	Brilliant blue FCF	colour (FDA: FD&C Blue #1)
140	E	chlorophylls and chlorophyllins	colour (green)
141	E	copper complexes of chlorophylls	colour (green)
142	E	Green S	colour (green)
143	E	Fast green FCF	colour (FDA: FD&C Green #3)
150d	E	caramel IV – ammonia sulfite process	colour (brown and black)
150c	E	caramel III – ammonia process	colour (brown and black)
150b	E	caramel II – caustic sulfite process	colour (brown and black)
150a	E	caramel I – plain	colour (brown and black)
151	E	Black PN, Brilliant Black BN	colour (brown and black)
152	?	Black 7984	colour (brown and black)
153	E	Vegetable carbon, carbon black	colour (brown and black)

154	E	Brown FK	colour (brown and black)
155	E	Chocolate Brown HT	colour
160c	E	paprika extract, capsanthin, capsorubin	colour
160d	E	lycopene	colour
160a	E	carotenes – alpha-carotene, beta-carotene, gamma-carotene	colour
160f	E	beta-apo-8'-carotenic acid ethyl ester	colour
160e	E	beta-apo-8'-carotenal (C 30)	colour
160b	E	annatto, bixin, norbixin	colour
161b	E	lutein	colour
161e		violaxanthin	colour
161d		rubixanthin	colour
161f		rhodoxanthin	colour
161a		flavoxanthin	colour
161c		cryptoxanthin	colour
161h	?	zeaxanthin	colour
161i	?	citraxanthin	colour
161j	?	astaxanthin	colour
161g	E	canthaxanthin	colour
162	E	beet red, beetroot red, betanin	colour
163	E	anthocyanins	colour
164		Saffron, crocetin and crocin	
165		gardenia blue	colour
166		sandalwood	colour

170	E	calcium carbonates, chalk	colour (white), anticaking agent, stabiliser
171	E	titanium dioxide	colour (white)
172	E	iron oxides and hydroxides	colour
173	E	aluminium	colour (silver)
174	E	silver	colour (silver)
175	E	gold	colour (gold)
180	E	litholrubine, Lithol Rubine BK, Pigment Rubine, latolrubine	Colour
181	E	tannins	colour, emulsifier, stabiliser, thickener
182		orchil	Colour
200	E	sorbic acid	preservative
201		sodium sorbate	Preservative
202	E	potassium sorbate	Preservative
203	E	calcium sorbate	Preservative
209		heptyl p-hydroxybenzoate	Preservative
210	E	benzoic acid	preservative
211	E	sodium benzoate	preservative
212	E	potassium benzoate	preservative
213	E	calcium benzoate	preservative
214	E	ethyl para-hydroxybenzoate	preservative
215	E	sodium ethyl para-hydroxybenzoate	preservative
216		propylparaben (propyl para-hydroxybenzoate)	preservative
217		sodium propyl para-hydroxybenzoate	preservative

218	E	methylparaben (methyl para-hydroxybenzoate)	preservative
219	E	sodium methyl para-hydroxybenzoate	preservative
220	E	sulfur dioxide	preservative, antioxidant
221	E	sodium sulfite	preservative, antioxidant
222	E	sodium bisulfite (sodium hydrogen sulfite)	preservative, antioxidant
223	E	sodium metabisulfite	preservative, antioxidant, bleaching agent
224	E	potassium metabisulfite	preservative, antioxidant
225		potassium sulfite, sodium sulfite	preservative, antioxidant
226	E	calcium sulfite	preservative, antioxidant
227	E	calcium bisulfite, calcium hydrogen sulfite	preservative, antioxidant
228	E	potassium bisulfite, potassium hydrogen sulfite	preservative, antioxidant
230	E	biphenyl, diphenyl	preservative
231	E	orthophenyl phenol, 2-hydroxybiphenyl	preservative
232	E	sodium orthophenyl phenol	preservative
233		thiabendazole	preservative
234	E	nisin	preservative
235	E	pimaricin, natamycin	preservative
236		formic acid	Preservative
237		sodium formate	Preservative
238		calcium formate	Preservative

239	E	hexamine (hexamethylene tetramine)	Preservative
240		formaldehyde	Preservative
241		gum guaiacum	Preservative
242	E	dimethyl dicarbonate	Preservative
249	E	potassium nitrite	preservative, colour fixative
250	E	sodium nitrite	preservative, colour fixative
251	E	sodium nitrate	preservative, colour fixative
252		potassium nitrate	preservative, colour fixative
260	E	glacial acetic acid	preservative, acidity regulator
261	E	potassium acetates	preservative, acidity regulator
262	E	sodium acetate, sodium hydrogen acetate	preservative, acidity regulator
263	E	calcium acetate	preservative, acidity regulator
264		ammonium acetate	preservative, acidity regulator
265		dehydroacetic acid	Preservative
266		sodium dehydroacetate	Preservative
270	E	lactic acid	acidity regulator, preservative, antioxidant
280	E	propionic acid	Preservative
281	E	sodium propionate	Preservative
282	E	calcium propionate	Preservative
283	E	potassium propionate	Preservative
284	E	boric acid	Preservative
285	E	sodium tetraborate, borax	Preservative
290	E	carbon dioxide	acidity regulator, propellant

296	E	malic acid	acidity regulator
297	E	fumaric acid	acidity regulator
300	E	ascorbic acid	antioxidant (water soluble)
301	E	sodium ascorbate	antioxidant (water soluble)
302	E	calcium ascorbate	antioxidant (water soluble)
303		potassium ascorbate	antioxidant (water soluble)
304	E	ascorbyl palmitate, ascorbyl stearate	antioxidant (fat soluble)
306	E	tocopherol concentrate (natural)	Antioxidant
307	E	dl-alpha-tocopherol (synthetic)	Antioxidant
308	E	gamma- tocopherol(synthetic)	Antioxidant
309	E	delta- tocopherol(synthetic)	Antioxidant
310	E	propyl gallate	Antioxidant
311	E	octyl gallate	Antioxidant
312	E	dodecyl gallate	Antioxidant
315	E	erythorbic acid	Antioxidant
316	E	sodium erythorbate	Antioxidant
317		erythorbin acid	Antioxidant
318		sodium erythorbin	Antioxidant
319		tert-butylhydroquinone	Antioxidant
320	E	butylated hydroxyanisole (BHA)	antioxidant (fat soluble)
321	E	butylated hydroxytoluene (BHT)	antioxidant (fat soluble)
322	E	lecithins	antioxidant, emulsifier
325	E	sodium lactate	food acid

326	E	potassium lactate	food acid
327	E	calcium lactate	food acid
328		ammonium lactate	food acid
329		magnesium lactate	food acid
330	E	citric acid	food acid
331	E	sodium citrates	food acid
332	E	potassium citrates	food acid
333	E	calcium citrates	food acid, firming agent
334	E	L(+)-tartaric acid	food acid
335	E	sodium tartrates	food acid
336	E	potassium tartrates	food acid
337	E	potassium sodium tartrate	food acid
338	E	phosphoric acid	food acid
339	E	sodium phosphates	mineral salt
340	E	potassium phosphates	mineral salt
341	E	calcium phosphates	mineral salt, anti-caking agent, firming agent
342		ammonium phosphates	mineral salt
343	E	magnesium phosphates	mineral salt, anti-caking agent
344		lecithin citrate	Preservative
345		magnesium citrate	acidity regulator
349		ammonium malate	food acid
350	E	sodium malates	food acid
351	E	potassium malate	food acid
352	E	calcium malates	food acid
353	E	metatarsitic acid	food acid, emulsifier
354	E	calcium tartrate	food acid, emulsifier
355	E	adipic acid	food acid

356	E	sodium adipate	food acid
357	E	potassium adipate	food acid
359		ammonium adipates	acidity regulator
363	E	succinic acid	food acid
364		sodium succinates	acidity regulator, flavour enhancer
365		sodium fumarate	food acid
366		potassium fumarate	food acid
367		calcium fumarate	food acid
368		ammonium fumarate	food acid
370		1,4-heptonolactone	food acid
375		niacin (nicotinic acid), nicotinamide (vitamin B ₃)	colour retention agent
380	E	triammonium citrate	food acid
381		ferric ammonium citrate, ammonium ferrocitrate	food acid
384		isopropyl citrates	antioxidant, preservative
385	E	calcium disodium EDTA	Preservative
386		disodium ethylene diaminetetraacetate	antioxidant, preservative
387		oxystearin	antioxidant, sequestrant
388		thiodipropionic acid	Antioxidant
389		dilauryl thiodipropionate	Antioxidant
390		distearyl thiodipropionate	Antioxidant
391		phytic acid	Preservative
399		calcium lactobionate	Stabilizer
400	E	alginic acid	thickener, vegetable gum, stabilizer, gelling agent, emulsifier

401	E	sodium alginate	thickener, vegetable gum, stabilizer, gelling agent, emulsifier
402	E	potassium alginate	thickener, vegetable gum, stabilizer, gelling agent, emulsifier
403	E	ammonium alginate	thickener, vegetable gum, stabilizer, gelling agent, emulsifier
404	E	calcium alginate	thickener, vegetable gum, stabilizer, gelling agent, emulsifier
405	E	propylene glycol alginate, propane-1,2-diol alginate	thickener, vegetable gum, stabilizer, emulsifier
406	E	agar	thickener, vegetable gum, stabilizer, gelling agent
407a	E	processed eucheuma seaweed	thickener, vegetable gum, stabilizer, gelling agent, emulsifier
407	E	carageenan	thickener, vegetable gum, stabilizer, gelling agent, emulsifier
409		arabinogalactan	thickener, vegetable gum
410	E	locust bean gum	thickener, vegetable gum, stabilizer, gelling agent, emulsifier
412	E	guar gum	thickener, vegetable gum, stabilizer
413	E	tragacanth	thickener, vegetable gum, stabilizer, emulsifier
414	E	gum acacia, gum arabic	thickener, vegetable gum, stabilizer, emulsifier

415	E	xanthan gum	thickener, vegetable gum, stabilizer
416	E	karaya gum	thickener, vegetable gum, stabilizer, emulsifier
417	E	tara gum	thickener, vegetable gum, stabilizer
418	E	gellan gum	thickener, vegetable gum, stabilizer, emulsifier
420	E	sorbitol	humectant, emulsifier, sweetener
421	E	mannitol	humectant, anti-caking agent, sweetener
422	E	glycerin	humectant, sweetener
425	E	konjac, konjac gum, konjac glucomannate	thickener, vegetable gum
430		polyoxyethylene (8) stearate	emulsifier, stabilizer
431	E	polyoxyethylene (40) stearate	Emulsifier
432	E	polysorbate 20	Emulsifier
433	E	polysorbate 80	Emulsifier
434	E	polysorbate 40	Emulsifier
435	E	polysorbate 60	Emulsifier
436	E	polysorbate 65	Emulsifier
440	E	pectin	vegetable gum, emulsifier
441	E	gelatine (not classified as an additive)	gelling agent, emulsifier
442	E	ammonium phosphatides	Emulsifier
443		brominated vegetable oil	emulsifier, stabilizer
444	E	sucrose acetate isobutyrate	emulsifier, stabilizer

445	E	glycerol esters of wood rosins	Emulsifier
450	E	diphosphates	mineral salt, emulsifier
451	E	triphosphates	mineral salt, emulsifier
452	E	polyphosphates	mineral salt, emulsifier
459	E	beta-cyclodextrin	Emulsifier
460	E	powdered cellulose, microcrystalline cellulose	anti-caking agent
461	E	methylcellulose	thickener, emulsifier, vegetable gum
463	E	hydroxypropyl cellulose	thickener, vegetable gum, emulsifier
464	E	hydroxypropyl methylcellulose	thickener, vegetable gum, emulsifier
465	E	methyl ethyl cellulose, ethyl methyl cellulose	thickener, vegetable gum, emulsifier
466	E	sodium carboxymethylcellulose	Emulsifier
468		crosslinked sodium carboxymethylcellulose	Emulsifier
469		enzymatically hydrolyzed carboxymethyl cellulose	Emulsifier
470		magnesium stearate	emulsifier, stabilizer
470a	E	sodium, potassium and calcium salts of fatty acids	emulsifier, stabiliser, anti-caking agent
470b	E	magnesium salts of fatty acids	emulsifier, stabiliser, anti-caking agent
471	E	mono- and diglycerides of fatty acids – glyceryl monostearate, glyceryl distearate	Emulsifier

472d	E	tartaric acid esters of mono- and diglycerides of fatty acids	Emulsifier
472b	E	lactic acid esters of mono- and diglycerides of fatty acids	Emulsifier
472e	E	diacetyl tartaric acid esters of mono- and diglycerides of fatty acids	Emulsifier
472c	E	citric acid esters of mono- and diglycerides of fatty acids	Emulsifier
472a	E	acetic acid esters of mono- and diglycerides of fatty acids	Emulsifier
472f	E	mixed acetic and tartaric acid esters of mono- and diglycerides of fatty acids	Emulsifier
473	E	sucrose esters of fatty acids	Emulsifier
474	E	sucroglycerides	Emulsifier
475	E	polyglycerol esters of fatty acids	Emulsifier
476	E	polyglycerol polyricinoleate	Emulsifier
477	E	propylene glycol esters of fatty acids	Emulsifier
478		lactylated fatty acid esters of glycerol and propylene glycol	Emulsifier
479b	E	thermally oxidised soya bean oil	Emulsifier

480		dioctyl sodium sulfosuccinate	Emulsifier
481	E	sodium stearoyl lactylate	Emulsifier
482	E	calcium stearoyl lactylate	Emulsifier
483	E	stearyl tartarate	Emulsifier
491	E	sorbitan monostearate	Emulsifier
492	E	sorbitan tristearate	Emulsifier
493		sorbitan monolaurate	Emulsifier
494	E	sorbitan monooleate	Emulsifier
495	E	sorbitan monopalmitate	Emulsifier
500	E	sodium carbonate, sodium bicarbonate (E500ii)	mineral salt
501	E	potassium carbonate, potassium bicarbonate	mineral salt
503	E	ammonium carbonate, ammonium bicarbonate	mineral salt
504	E	magnesium carbonate	anti-caking agent, mineral salt
507	E	hydrochloric acid	acidity regulator
508	E	potassium chloride	mineral salt
509	E	calcium chloride	mineral salt
510		ammonium chloride	mineral salt
511	E	magnesium chloride	mineral salt
512	E	stannous chloride	colour retention agent, antioxidant
513	E	sulfuric acid	acidity regulator
514	E	sodium sulfate	mineral salt
515	E	potassium sulfate	mineral salt, seasoning

516	E	calcium sulfate	flour treatment agent, mineral salt, sequestrant, improving agent, firming agent
517	E	ammonium sulfate	mineral salt, improving agent
518		magnesium sulfate, Epsom salts	mineral salt, acidity regulator, firming agent
519		cupric sulfate	mineral salt
520	E	aluminium sulfate	mineral salt
521	E	aluminium sodium sulfate	mineral salt
522	E	aluminium potassium sulfate	mineral salt
523	E	aluminium ammonium sulfate	mineral salt
524	E	sodium hydroxide	mineral salt
525	E	potassium hydroxide	mineral salt
526	E	calcium hydroxide	mineral salt
527	E	ammonium hydroxide	mineral salt
528	E	magnesium hydroxide	mineral salt
529	E	calcium oxide	mineral salt
530	E	magnesium oxide	anti-caking agent
535	E	sodium ferrocyanide	anti-caking agent
536	E	potassium ferrocyanide	anti-caking agent
538	E	calcium ferrocyanide	anti-caking agent
540		dicalcium diphosphate	anti-caking agent
541	E	sodium aluminium phosphate	acidity regulator, emulsifier
542		bone phosphate	anti-caking agent
544		calcium polyphosphates	anti-caking agent

545		ammonium polyphosphates	anti-caking agent
551	E	silicon dioxide	anti-caking agent
552	E	calcium silicate	anti-caking agent
553b	E	talc	anti-caking agent
553a	E	magnesium silicate	anti-caking agent
554	E	sodium aluminosilicate (sodium aluminium silicate)	anti-caking agent
555	E	potassium aluminium silicate	anti-caking agent
556	E	calcium aluminosilicate (calcium aluminium silicate)	anti-caking agent
558	E	bentonite	anti-caking agent
559	E	kaolin, aluminium silicate	anti-caking agent
570	E	stearic acid	anti-caking agent
575	E	glucono delta-lactone	acidity regulator
576	E	sodium gluconate	Stabilizer
577	E	potassium gluconate	Stabilizer
578	E	calcium gluconate	acidity regulator
579	E	ferrous gluconate	colour retention agent
585	E	ferrous lactate	
620	E	glutamic acid	flavour enhancer
621	E	monosodium glutamate (MSG)	flavour enhancer
622	E	monopotassium glutamate	flavour enhancer
623	E	calcium diglutamate	flavour enhancer
624	E	monoammonium glutamate	flavour enhancer

625	E	magnesium diglutamate	flavour enhancer
626		guanylic acid	flavour enhancer
627	E	disodium guanylate	flavour enhancer
628	E	dipotassium guanylate	flavour enhancer
629	E	calcium guanylate	flavour enhancer
630	E	inosinic acid	flavour enhancer
631	E	disodium inosinate	flavour enhancer
632	E	dipotassium inosinate	flavour enhancer
633	E	calcium inosinate	flavour enhancer
634	E	calcium 5'-ribonucleotides	flavour enhancer
635	E	disodium 5'-ribonucleotides	flavour enhancer
636		maltol	flavour enhancer
637		ethyl maltol	flavour enhancer
640	E	glycine	flavour enhancer
641		leucine	flavour enhancer
650	E	zinc acetate	flavour enhancer
900	E	dimethylpolysiloxane	emulsifier, anti-caking agent
901	E	beeswax	glazing agent
902	E	candelilla wax	glazing agent
903	E	carnauba wax	glazing agent
904	E	shellac	glazing agent
905	E	paraffins	glazing agent
907		refined microcrystalline wax	glazing agent
912	E	montanic acid esters	Humectants
914	E	oxidised polyethylene wax	Humectants

920	E	L-cysteine	flour treatment agent
924		potassium bromate	flour treatment agent
925		chlorine	flour treatment agent
926		chlorine dioxide	flour treatment agent
927b	E	carbamide	flour treatment agent
928		benzoyl peroxide	flour treatment agent
938	E	argon	Propellant
939	E	helium	Propellant
941	E	nitrogen	Propellant
942	E	nitrous oxide	Propellant
943b	E	isobutane	Propellant
943a	E	butane	Propellant
950	E	Acesulfame potassium	artificial sweetener
951	E	aspartame	artificial sweetener
952	E	cyclamic acid, cyclamates	artificial sweetener
953	E	isomalt	Humectants
954	E	saccharin	artificial sweetener
955		sucralose	artificial sweetener
956		alitame	artificial sweetener
957	E	thaumatin	flavour enhancer, artificial sweetener
959	E	neohesperidin dihydrochalcone	artificial sweetener
965	E	malitol	humectant, stabilizer
966	E	lactitol	Humectants
967	E	xylitol	humectant, stabilizer
999	E	quillaia extract	Humectants
1001		choline salts and esters	Emulsifier
1100		amylases	flour treatment agent

1102		glucose oxidase	Antioxidant
1103	E	invertase	
1104		lipases	flavour enhancer
1105	E	lysozyme	Preservative
1200	E	polydextrose	Humectants
1201	E	poly vinyl pyrrolidone	
1202	E	polyvinylpolypyrrolidone	colour stabilizer
1400		dextrin roasted starch	thickener, vegetable gum
1401		acid treated starch	thickener, vegetable gum
1402		alkaline treated starch	thickener, vegetable gum
1403		bleached starch	thickener, vegetable gum
1404	E	oxidised starch	thickener, vegetable gum
1405		enzyme treated starch	thickener, vegetable gum
1410	E	monostarch phosphate	thickener, vegetable gum
1412	E	distarch phosphate	thickener, vegetable gum
1413	E	phosphated distarch phosphate	thickener, vegetable gum
1414	E	acetylated distarch phosphate	thickener, vegetable gum
1420	E	acetylated starch	thickener, vegetable gum
1422	E	acetylated distarch adipate	thickener, vegetable gum
1440	E	hydroxypropyl starch	thickener, vegetable gum
1442	E	hydroxypropyl distarch phosphate	thickener, vegetable gum
1450	E	starch sodium octenylsuccinate	thickener, vegetable gum
1451	E	acetylated oxidised starch	thickener, vegetable gum
1505	E	triethyl citrate	thickener, vegetable gum

1510		ethanol (not classified as an additive)	alcohol
1518	E	triacetin	Humectants
1520	E	propylene glycol	Humectants
1521		Polyethylene glycol <i>[citation needed]</i>	antifoaming agent

الملحق رقم (2)

قائمة بالوظائف التي تؤديها المواد المضافة للأغذية مقسمة وفق الوظيفة التي توضع على بطاقة بيان الناتج الغذائي، وتشير الوظيفة إلى الوظيفة التقنية التي تقوم بها. مأخوذه من تقرير لجنة دستور الأغذية للمواد المضافة والملوثات (ALINORM 89/12 A).

الوظائف الفرعية (الوظائف التكنولوجية)	أصناف الوظائف (تستعمل لكتابة البيان)
منظم، عامل منظم، حمض، أساس، عامل معدل لرقم الحموضة	1- منظمات الحموضة
عامل مضاد للتجمع، عامل مجفف، مسحوق مغبر، عامل مضاد للالتصاق، عامل تحرير.	2- عامل مضاد للتجمع
عامل مضاد للرغوة	3- عامل مضاد للرغوة
مضاد أكسدة ، معزز مضاد أكسدة، عامل لاقط.	4- مضاد أكسدة
عامل ملء، ملائى.	5- عامل ملء
محطي، محطي صناعي، محطي مغذي.	6- محطي
ملون، لون.	7- ملون، لون
مثبت اللون، عامل استقرار اللون.	8- عامل محافظة على اللون
محليات، ملدن، عامل بعثرة، عامل نشاط سطحي، عوامل مبللة.	9- عوامل استحلاب
أملاح تدنس، لواقط.	10- أملاح الاستحلاب
معزز النكهة، معدل النكهة.	11- معزز النكهة
عامل مبييض، مكيف للعجينة، محسن الطحين.	12- عامل معالجة الطحين
عامل مهمم.	13- عامل مهمم
غلاف، عامل إغلاق، تلميع.	14- عامل طلي

حافظات مضادة للبكتيريا، عامل مضاد للفطر، عامل تحكم بلاقمات البكتيريا، غاز حافظ، معقم كيميائي للتحكم بنضج الخمر، عامل مطهر.	- المواد الحافظة (حافظات)
دافع، غاز تعينة.	- عامل طارد (دافع)
رابط، عامل مثبت، عامل تعديل الكثافة، عامل احتجاز الماء، مثبت رغوة.	- عامل استقرار
عامل مثخن، عاطي البنية، عامل كثافة القوام.	- عامل مثخن
عامل رافع.	- عامل رافع
عامل ضرب، عامل إشباع بالهواء.	- عامل رغوة
عامل احتباس للماء أو الرطوبة، عامل ميل.	- مرطب
عامل تحميض	- عامل تحميض
عامل تمتين.	- عامل تمتين

الملحق رقم (3)

تحضير المحاليل المنظمة (الموقية) والشائعة الاستعمال.

- محلول فوق أكسيد الهيدروجين:

خفف 30% فوق أكسيد الهيدروجين 30% H_2O_2 بمعدل 8 سم³ في ليتر

ماء.

- برمونفات البوتاسيوم (0.05 عياري):

أذب 1.58 غ $KMnO_4$ نقي في ليتر ماء. ضع غطاء فوق البيشر، واغل بطف لمدة 15 د. برد، ورشح المحلول في قمع يحتوي صوف زجاجي نظيف، واحفظ الرشاشة في زجاجة بنية ذات غطاء مصنفر.

- محلول منظم ذو $pH = 3$:

خذ 950 سم³ حمض خل 0.1 مolar وأكمل الحجم إلى ليتر خلات الصوديوم 0.1 مolar.

- محلول منظم ذو $pH = 5$:

خذ 320 سم³ حمض خل 0.1 مolar وأكمل الحجم إلى ليتر خلات الصوديوم 0.1 مolar.

- محلول منظم ذو $pH = 7$:

خذ 300 سم³ ماءات البوتاسيوم 0.1 Molar إلى 500 سم³ 0.1 Molar فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين، وأكمل الحجم إلى ليتر.

- محلول منظم ذو $\text{pH} = 9$:

أضف 500 سم^۳ 0.1 مolar ماءات البوتاسيوم إلى 500 سم^۳ مolar فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين.

- محليل الخلات المنظمة (0.2 مolar):

ضع س سم^۳ حمض خل 0.2 مolar في دورق معياري سعته 100 سم^۳ وأكمل الحجم بخلات الصوديوم 0.2 مolar.

5.6	5.4	5.2	5.0	4.8	4.6	4.4	4.2	4.0	3.8	3.6	pH
7	17	22	32	43	55	66	76	83	88	92	س سم ^۳

- محليل الكربونات / ثاني الكربونات المنظمة (0.1 مolar):

ضع س سم^۳ ثاني كربونات الصوديوم 0.1 مolar في دورق معياري سعته 100 سم^۳ وأكمل الحجم بمحلول كربونات الصوديوم 0.1 مolar.

11.0	10.8	10.6	10.4	10.2	10.0	9.8	9.6	9.4	9.2	9.0	pH
5.5	10	18	27	38	49	61	73	82	88	93	س سم ^۳

- محليل الفوسفات المنظمة (0.2 مolar):

محليل فوسفات الصوديوم

أضف س سم^۳ ماءات الصوديوم (0.2 مolar) إلى 50 سم^۳ فوسفات الصوديوم ثنائية الهيدروجين (0.2 مolar) وأكمل الحجم إلى 100 سم^۳ بالماء.

وتابع الجدول الآتي:

محاليل فوسفات البوتاسيوم

أضف سـ سم^٣ ماءات البوتاسيوم (0.2 مolar) إلى 50 سـ سم^٣ فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين (0.2 مolar) وأكمل الحجم إلى 100 سـ سم^٣ بالماء.

الجدول:

8.0	7.8	7.6	7.4	7.2	7.0	6.8	6.6	6.4	6.2	6.0	5.8	pH
47	45	43	40	35	30	24	18	13	9.1	5.8	3.5	سـ سم ^٣

الملحق رقم (4)

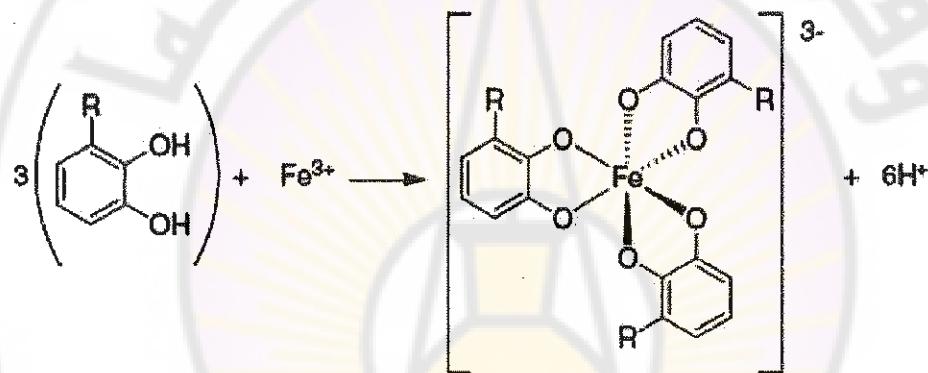
جدول يبين الوزن النوعي، المادة الفعالة والنظامية لبعض الحموض والأسنس
المركزة والشائعة الاستعمال

الحجم اللازم لتحضير ليتر من محلول نظامي (سم ³)	النظامية	المادة الفعالة وزنا %	الوزن النوعي بدرجة حرارة الغرفة	المادة
66.6	15.1	(NH ₃) ₂₈	0.90	ماءات الأمونيوم
-	19	50	1.5	ماءات الصوديوم (مشبعة)
28	35.9	96	1.84	حمض الكبريت
65	15.6	69.5	1.42	حمض الأزوت
86	11.7	36	1.19	حمض كلور الماء
27.87	45	85	1.71	حمض الفوسفور
57.33	17.6	99.8	1.06	حمض الخل

الملحق رقم (5)

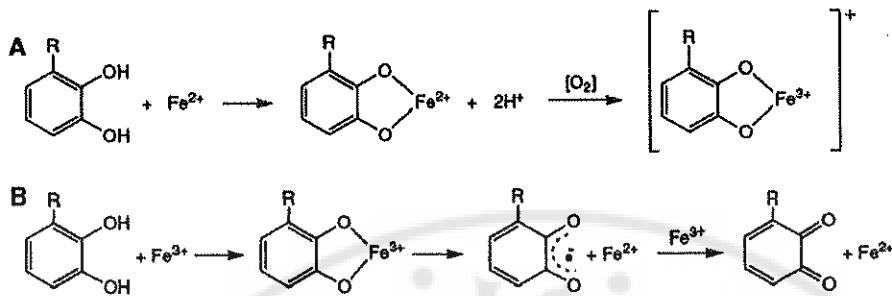
ارتباط الغالات بالحديد:

من المعروف أن الغالات، (ومعظم مركبات بولي فينولات) هي مركبات تعمل كمخليبات معدنية. وتقوم عند ارتباطها بالمعدن بالتخلص عن ذرة بروتون، وهو شرط لارتباطها بالمعدن، ويتم ذلك مع أيونات الحديد Fe^{+3} أو Fe^{+2} بتشكيل معقدات تساندية الروابط ذات شكل هندسي مثمن الوجوه (Octahedraf)، حيث يرتبط ثلاث مجموعات غالات إلى أيون حديد ثلاثي مركزي.



هذا وتعمل الغالات منذ تخليها عن البروتون عمل أساس لويس قوي جداً، وخاصة إذا كان الحديد ثلاثي التكافؤ بعكس الحديد الثنائي الذي يعمل كأساس لويس ضعيف.

وعند ارتباط Fe^{+3} إلى الغالات، يُرجع الحديد الثلاثي إلى Fe^{+2} ، ويتأكسد البولي فينولات نصف كوبون.



يتطلب تحول نصف كويينون إلى كويينون إرجاع أيون ثانٍ من Fe^{+2} . وهذا يتطلب pH فينخفض جداً، أما في pH مرتفع فيتشكل معقدات ثنائية الفينول أو ثنائية الفينول مع الحديد مؤدياً ذلك إلى إبطاء التفاعلات السابقة.

يحدد رقم pH سلوك ضم مركيبات الفينول إلى الحديد. ففي pH حول الفيزيولوجيا ($\text{pH}=7.2$) يتكون مزيج معقد من ضم $1:3$ و $1:2$ ، اعتماداً على نوع الفينول. وفي pH حمض خفيف ($5-6.5$) يتكون تطورات ثنائية أو ثنائية الغلات مع أيون الحديد، معطية معقدات Fe^{+3} بجهة ذات لون أزرق -بنفسجي، ولها موجة امتصاص عظمى ($542-561$ ن.م). وفي pH أقل من 4 ينضم الفينول إلى الحديد بنسبة $1:1$. ومعقدات الحديد أحادية الفينولات هذه يغلب عليها اللون الأزرق - الأخضر. بطول موجة أعظمى حول 670 ن.م. أما في pH القلوي فيسود معقدات ثنائية الوجه تضم ثلاثة وحدات فينول مع Fe^{+3} ، وهي حمراء اللون. ولا تعطي معقدات Fe^{+2} ذات الفينولات المتعددة أي لون في غياب الأوكسجين.

اللجنة العلمية:

أ. د. صياغ أبو غرة

أ. د. محمد محمد

أ. د. عبد الوهاب مرعي

المدقق اللغوي:

د. سكينة موعد

حقوق الطبع والترجمة والنشر محفوظة لمديرية الكتب والمطبوعات الجامعية



جامعة دمشق
Damascus University