الباب الثاني:

التحليلات التي تجري علي الثمار

واقفـــــاً عند مهب الريـــح وحـــدي
رافضـــــاً أصـــــلي .... وفصـــــلي
وجـــــــذوري الـقبليـــــــــــــــــة
مـن أنــــا في زمـن لم يستـــــــــطيع
مضغ خيـــط واحـد من كبريائـــي!!!
هل تراني مـــــحدثـاً ؟ـ أو رائـــــداً ؟؟
أم كـــاشفـــــاً ؟؟
أم ترانــي شاعراً من شعراء الجاهليـــة ؟؟؟
نزار قباني ... قصائد متوحشة

التحليلات التي تجري علي الثمار

الثمار سواء كانت ثمار فاكهة أو خضر هي مخزن للعناصر الغذائية والفيتامينات وهذا ما يجعل قيمتها الغذائية عالية، ومن ثم فالثمرة غالبا هي الجزء الهام الذي من أجله يتم زراعة الحاصلات البستانية سواء خضر أو فاكهة. والثمرة خلال نموها تمر بمراحل وتطورات عديدة حتى تصل إلى المرحلة التي يمكن لنا عندها قطف الثمار.

والتحليل الكيميائي لثمار الفاكهة ضرورة حتمية للحكم على جودة الثمار ومحتواها الغذائي وبالتالي تصنيفها في مجموعات غذائية وأيضا تحديد الصناعات الغذائية التي تقوم على تلك الثمار. ولا يخفى على أحد من المهتمين بهذا المجال أن ثمار الخضر والفاكهة من المصادر الطبيعية الجيدة التي تمد الجسم بالفيتامينات والمعادن اللازمة للنمو ومقاومة العديد من الأمراض. وقبل البدء في دراسة التحليلات الطبيعية و الكيميائية للثمار يجدر بنا بادئ ذي بدأ التعرض بشي من التفصيل للثمار متناولين تعريفها وأقسامها وأساليب نموها.

الثمرة Fruit

الدور الرئيسي للثمار والتي وجدت من أجله هو حماية البذرة ومدها بالغذاء والمحافظة عليها حتى ينتشر النوع ولا يتعرض للانقراض. فبعد إتمام عملية التلقيح

والإخصاب في الزهرة يطرأ على الكيس الجنيني عدة تغيرات تؤدى إلى تكوين البذرة من البويضة كما يحدث تنبيه لأنسجة المبيض المختلفة فتتضخم وتكون الثمرة وهنا تُعرف الثمرة بأنها ثمرة صادقة أو حقيقية true fruit. هذا وقد تتعدى التغيرات المبيض إلي الأجزاء الأخرى للزهرة أو تتعدى ذلك لتشمل النورة كلها وفى هذه الحالات يتكون ما يعرف بالثمار الكاذبة أو غير الحقيقية Pseudocarps or false fruits. وقد تتكون الثمرة بدون عملية الإخصاب وعندها تعرف بالثمار البكرية parthinocarp fruits كما في ثمار الموز أو البرتقال آبو سرة.

وتمتاز الثمار غالبا بوجود ندبتين عليها الأولى توضح مكان اتصالها بالفرع والثانية مكان اتصال القلم بالمبيض (ونستطيع استخدام هذا للتفريق بين الثمرة و البذرة حيث تحتوى الأخيرة على ندبة واحدة تمثل مكان اتصال الجنين بالحبل السري للمشيمة).

وبعد إتمام عملية الإخصاب وتكوين الزيجوت يحدث عقد للثمار(تحول الزهرة إلى ثمرة صغيرة) ويتحول جدار المبيض إلى العلاف الثمرى precarp وجدار المبيض مكون من ثلاث أغلف هي الغلاف الخارجي Exocarp أو Epicarp والغلاف الوسطى Mesocarp ثم الغلاف الداخلي Endocarp.

وبعد عقد وتكوين الثمار تسقط المحيطات الزهرية الأخرى عدا المبيض. "وقد يشذ على هذا بعض الثمار نذكر منها على سبيل المثال ثمار الباذنجان حيث يظل الكأس باقي و ملتصق بالثمار حتى تمام النضج وكذلك ثمار الرمان حيث تظل الأسدية ملتصقة بالثمار حتى بعد النضج.

تعريف الثمرة :

يمكن تعريف الثمار من ثلاثة اتجاهات علي حسب العلم المهتم بالدراسة بالتالي هناك ثلاث تعريفات للثمرة :

التعريف الاقتصادي :

وهذا التعريف ينصب علي الجانب الاقتصادي للنبات دون النظر إلى الناحية النباتية. ويمكن إيجاز هذا التعريف في أن الثمرة هي الجزء ذات الأهمية الاقتصادية في النبات و الذي يزرع النبات من أجله. وهذا التعريف يُدخل العديد من الأجزاء النباتية تحت مسمى الثمار مثل الدرنات والكورمات والأفرع الغضة للأسبرجس...، بالتالي هو غير دقيق من الناحية العلمية.

التعريف الفسيولوجي :

الثمرة هي ذلك الجزء الصالح للأكل الطازج أو الاستعمال في التصنيع. وهذا التعريف من وجهة نظر علم الفسيولوجي.

وفى ظل هذا التعريف تعتبر درنات البطاطس و جذور البطاطا و كرمات القلقاس أو رؤوس الكرنب أو الخس ثمار والواقع العلمي يخالف هذا تماما. حيث أنها ليست ثمار علي الإطلاق .

التعريف النباتي :

ويعتمد هذا التعريف علي أن منشأ الثمرة لابد أن يكون منشأ زهري وبالتحديد من المبيض المخصب أو غير المخصب. فالثمرة عبارة مبيض مخصب أو غير مخصب (في حالة الثمار البكرية العقد) يضاف إلى هذا المبيض الأغلفة الخارجية للمبيض و في هذه الحالة تسمى الثمار بالثمار الحقيقية. وقد يدخل مع المبيض وأغلفته أغلفة زهرية أخري (في هذه الحالة تسمى بالثمار الكاذبة) وقد يشمل نمو الثمرة وتكوينها النورة كاملة كما في التين والتوت والأناناس.

وهنا يجدر بنا الإشارة إلى أن الثمار الطازجة بعد القطف تقوم بكافة الأنشطة الفسيولوجية حيث أنها عبارة عن خلايا أو أنسجة حية بغض النظر عن منشأها، بالتالي يتم التعامل معها علي أنها أنسجة حية وهذا يميزها عن الأغذية الأخرى مثل الأسماك واللحوم والجبن وخلافه.

تقسيم الثمار :

لسهولة دراسة الثمار يلجأ العلماء إلى تقسيم الثمار في مجموعات وفقا لأسس أو معايير معينة أهمها:

أولاً: تقسيم الثمار على حسب قابليتها للتلف الفسيولوجي

ويبني هذا التقسيم علي أساس قابلية الثمار للتلف بعد جمعها أو حصادها. أي هل هي سريعة التلف أو العطب أم أنها بطيئة التلف تتحمل التخزين لمدة طويلة وسرعة التلف غلبا ما تكون مرتبطة بنسبة الماء في أنسجة الثمار. وهنا تقسم الثمار إلى مجموعتين هما:

ثمار بطيئة التلف (غير قابلة للتلف أو العطب) Nonperishable Fruits

وهى تلك الثمار البطيئة التلف الفسيولوجي أو التلف الناتج عن نشاط الكائنات الحية الدقيقة وذلك ينطبق على ثمار القمح و الذرة و الفاصوليا الجافة و على ثمار النقليات. وهذه الثمار تمتاز بأن محتواها من الرطوبة منخفض أو منخفض جدا" في بعض الحالات لا يزيد على 10% بالتالي تقل بها سرعة العمليات الفسيولوجية بها ويصبح من الصعب مهاجمتها بواسطة الكائنات الحية الدقيقة أي إنها لا تفقد حيويتها إلا بطول الزمن وبالتالي يمكن تخزينها لفترات طويلة.

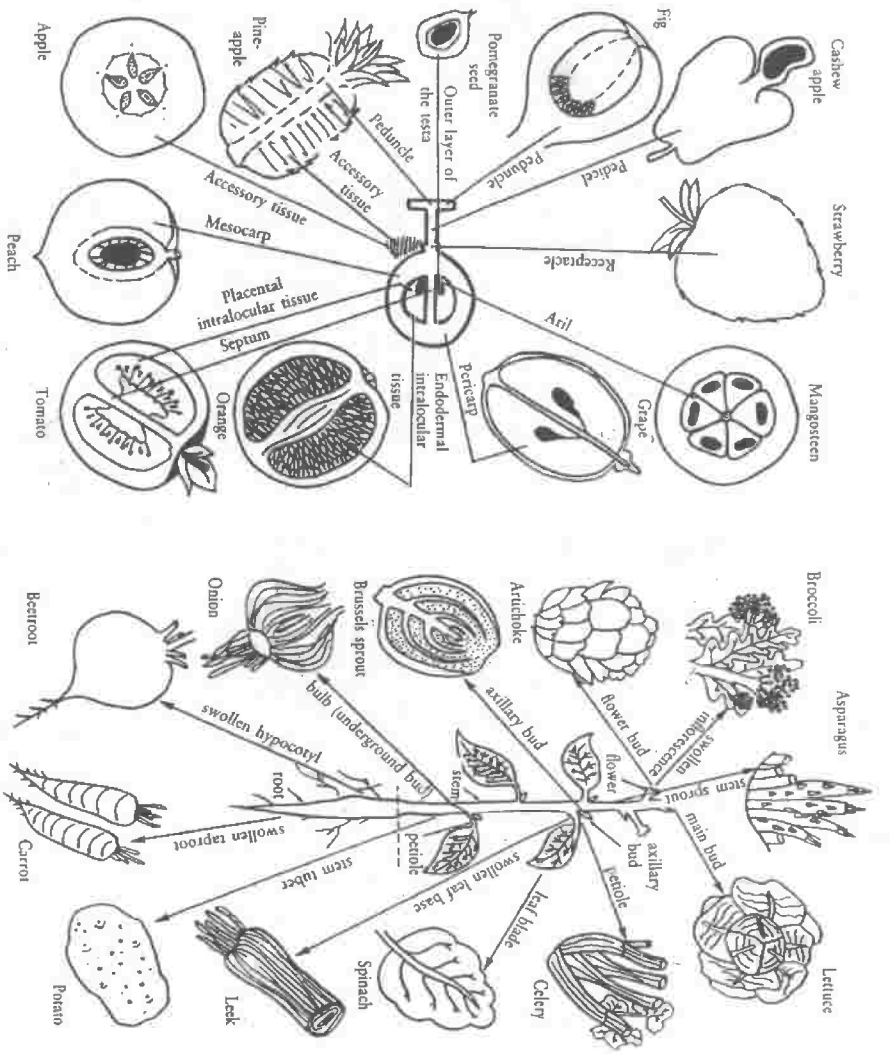
ثمار سريعة التلف (قابلة للتلف أو العطب) Perishable Fruits

وهى الثمار المحتوية على نسبة عالية من الرطوبة و بالتالي تكون قابليتها للتلف أو العطب كبيرة. ويقع تحت هذا القسم معظم ثمار الفاكهة (مثل التفاح والكمثرى والمانجو و الموز والبرتقال...) و الخضر (مثل الشمام والبطيخ و الطماطم والخيار ...). والتلف في هذه الثمار يكون مرتبط بعدة عوامل أهمها نسبة الرطوبة بالثمار، حيث تحتوي علي نسبة عالية من الرطوبة تصل إلى ٨٠% بالإضافة لاحتواء الثمرة علي عوامل تحلل أو تلف داخلية مثل وجود الأنزيمات المحللة لمكونات هذه الثمار وكذلك عوامل تلف خارجية مثل درجة الحرارة ونسبة الرطوبة وكذلك دور الكائنات الحية الدقيقة الموجودة علي الثمرة.

وللحد من هذا التلف لابد من استخدام احتياطات معينة وحفظها تحت ظروف معينة تقلل من النشاط الفسيولوجي لهذه الثمار، وهذا ما تختص به مجموعة من العلوم تشمل معاملات ما بعد الحصاد للثمار Postharvest of fruits وتشمل كل

التحليلات التي تجري علي الثمار

المعاملات التي تجري علي الثمار بداية من قطفها حتى وصولها إلى المستهلك (جمع، ونقل، وتداول، وتعبئة وتخزين)



شكل يوضح المنشأ النباتي لعديد من ثمار الفاكهة والخضر(Wills *et al., 1989*).

ثانيا : تقسيم الثمار على حسب منشآها

يمكن تقسيم الثمار من حيث منشأها الزهري إلي ثلاثة أقسام :

الثمار البسيطة Sample fruits :

وهى الثمار آلتي تنشا من زهرة واحدة ذات مبيض واحد مكون من كربله واحدة أو اكثر سواء تم الإخصاب أو لم يتم. وتقسم الثمار البسيطة بدورها إلي قسمين ثمار غضه أو طرية وثمار جافة

الثمار الغصة: تمتاز باحتوائها على نسبة عالية من الرطوبة. وتضم الثمرة الحسلة Drupe (مثل الخوخ و المشمش و البرقوق والزيتون) والثمرة العنبة Berry (ومنها العنب و الموز و الجوافة والطماطم والخيار) والثمرة التفاحية Pome (و منها التفاح و الكمثرى) وهناك ثمار عنبة من نوع خاص تسمي بال Hesperidium مثل ثمار الموالح

والثمار الجافة: تمتاز باحتوائها على نسبة قليلة من الرطوبة بالتالي تمتاز بتصلب أغلفة المبيض. وتقسم هذه الثمار على حسب تفتح الغلاف الثمرى إلي ثلاثة أقسام :

1 ثمار جافة متفتحة: وهي التي تتفتح عند النضج للتساقط منها البذور ومنها الثمرة البقلاء و الثمرة الجرابية و الثمرة الخردلة و الثمرة الخريدلة و الثمرة العلبة أو الكبسولة (و الثمرة العلبة تقسم على حسب طريقة التفتح إلي عدة أقسام فمنه انفتاح مسكني و انفتاح مصرعي و انفتاح حقي و انفتاح بالثقوب و انفتاح بالأسنان)

2 ثمار جافة غير متفتحة: ومنها الثمرة الفقيرة مثل الورد والثمرة البرة مثل القمح والذرة والثمرة الجناحيه مثل أبو المكارم و الثمرة السيسلاء مثل الجعضيض و الثمرة البندقة مثل أبو فروة والبندق والبلوط.

3 ثمار جافة منشقة : ومنها الثمرة القرطه مثل السنط العربي والثمرة الخيمية مثل الشمر أو الخلة و الثمرة الخبازية مثل الخطمية والثمرة الرجما مثل الخروع.

الثمار المتجمعة Aggregate fruits :

منشأ الثمرة هنا عبارة عن زهرة واحدة بها مبيض مكون من عديد من الكرابل كل كربله تنمو بصورة مستقلة مكونة جزء من الثمرة وفي حالة عدم نمو أي كربله يظهر مكانها غائر علي الثمرة. والثمرة المتجمعة أما مجموعة من الفقيرات مثل الورد أو مجموعة من الجرابيات مثل الاستركوليا أو مجموعة من الحسلات مثل الراسبيرى أو مجموعة العنبات مثل القشطة أو مجموعة من الثميرات كل منها أكين أو ثمرة فقيرة مثل الفراولة.

الثمار المركبة Multiple fruits :

وهنا تنشأ الثمرة من أكثر من زهرة أو قد تكون نورة كاملة ويقع تحتها عدة أنواع نذكر منها: الثمرة المركبة التوتية مثل ثمار التوت، والمركبة التينية مثل ثمار التين، والثمرة المركبة المخروطية مثل ثمار الكازوارينا، وكذلك ثمار الأناناس وثمار الخرشوف كلاهما ثمرة مركبة والثمرة هنا عبارة عن النورة بأكملها.

ثالثا : تقسيم الثمار على أساس الدراسة التشريحية للثمار

والتقسيم هنا يعتمد علي الدراسة التشريحية للثمار وهذا التقسيم له أهمية بالغة في دراسة الثمار وفهم فسيولوجي الثمار ونورد هنا بعض الثمار علي حسب تركيبها التشريحي:

1- **الثمار الحسلة** Fruits Drupe : وهي ثمار صادقة أو حقيقية تتكون من المبيض المخصب + أغلفته الثلاث حيث يكون غلاف المبيض الخارجي Exocarp القشرة الخارجية للثمار ويكون الغلاف الوسطى Mesocarp اللب أو اللحم الذي يؤكل بينما يتصلب الغلاف الداخلي للمبيض Endocarp مكون النواة الحجرية. وبداخل النواة الحجرية يوجد البذرة. ويشمل هذا النوع ثمار الخوخ والمشمش والبرقوق والزيتون واللوز

2- **الثمار التفاحية** Pome Fruits : وهذا النوع من الثمار يطلق علية ثمار كاذبة أو غير صادقة وذلك لدخول أجزاء زهرية أخري غير المبيض في تكوينها وهى الأنبوبة الزهرية الناتجة من التحام قواعد الكأس والتويج والأسدية، وهذه الأنبوبة الزهرية تكون الجزء اللحمي الذي يؤكل في الثمرة. ويقع تحت هذا النوع ثمار التفاح والكمثري وبدراسة القطاع العرضي للثمرة نجد أن هناك خط التحام واضح ما بين الأنبوبة الزهرية مع المبيض ثم يليه جزء لحمى رقيق ناشئا عن الغلاف الخارجي والوسطى للمبيض Exocarp & Mesocarp ثم بعده غلاف جلدي ناشئ عن الغلاف الداخلي للمبيض Endocarp ويوجد بعدها الكرابل وعددها خمسة كرابل كل كربله بها بويضتان

3- **الثمار العنبة** Berry Fruits : والثمرة العنبة قد تكون مكونة من كربله واحدة أو مكونة من عدة كرابل ويمتاز هذا النوع من الثمار أن جلد الثمرة لحمي وتحتوي الثمار علي بذور آلا في حالة العقد البكري ويمكن تقسيم هذا النوع من الثمار إلى عنبة حقيقية وهي التي تتكون من المبيض الزهري فقط مثل العنب والطماطم وعنبة كاذبة أو غير صادقة حيث يدخل أجزاء زهرية أخري في تكوينها مثل ثمار الموز والأناناس.

4- **ثمار الموالح أو الحمضيات** Hesperidium Fruits : وهذا النوع من الثمار هي ثمار صادقة أو حقيقية وتمتاز بوجود الغدد الزيتية على القشرة الخارجية للثمار والتي تحمل اللون الأصفر وتسمى الفلافيدو Flavedo وهذه تمثل غلاف المبيض الخارجي Exocarp ثم يلها طبقة بيضاء رقيقة تسمي بالألبيدو Albedo وهو يمثل الغلاف الوسطى للمبيض Mesocarp وهو خلايا برانشيمية غير منتظمة الشكل وتمتاز هذه الطبقة بارتفاع محتواها من البكتين ثم غشاء رقيق يحيط بالفصوص وهو ناشئ من الغلاف الداخلي للمبيض Endocarp ثم الفصوص وهى من ٨ إلى 15 فص في المتوسط و تمثل الكرابل، وبداخل الفصوص توجد الأكياس

العصيريه. ويشمل هذا النوع كل ثمار الموالح المعروفة. والعديد من المراجع يصنف ثمار الموالح علي أنها عنبة ولكن من نوع خاص يطلق عليها Hesperidium

5- ثمار النقليات : وهذه الثمار مكونة من المبيض الزهري + أغلفته فقط أي إنها ثمار حقيقية. والغلاف الخارجي للمبيض Exocarp يتحد مع الغلاف الوسطي Mesocarp مكونا جزء جلدي أخضر اللون يتشقق ويسقط عند نضج الثمار أما الغلاف الداخلي Endocarp فهذا يكون النواة الصلبة التي تحيط بالبذرة. وبعض المراجع يصنف بعض أنواع النقليات علي أنه ثمرة حسلة.

نمو الثمار The growth of fruit

النمو هو الزيادة الحجميه أو الكمية للعضو، بالتالي يمكن قياسه بالمقاييس الحجميه أو الوزنية. ونمو الثمار يبدأ مباشرة بعد عملية الإخصاب حيث يحدث زيادة سريعة في عدد الخلايا حتى نصل إلى العدد النهائي المكون للثمرة والمدة اللازمة لذلك تختلف من نوع لأخر ومن صنف لأخر. يعقب هذه المرحلة زيادة في حجم الخلايا وفيها تتحول الخلايا من ميرستيمية نشطة إلى برانشيمية ويتجمع الماء والسكريات والأملاح الذائبة في الفجوات العصارية للخلايا وبعدها تبدأ الجدر في التصلب. وبعدها تصل الثمار إلى مرحلة اكتمال النمو والتي يتوقف معها الزيادة في الحجم حيث تكون الثمار قد وصلت إلى الحجم و الوزن والشكل المميز للصنف. وبعض الثمار يمكن قطفها في هذه المرحلة مثل الموز والكاكى. ثم بعد ذلك مرحلة اكتمال نضج الثمار ويصحب هذه المرحلة تغيرات طبيعية و كيميائية من شأنها أن تكسب الثمار خصائصها الطبيعية و الكيميائية المألوفة وإذا تركت الثمار أكثر من ذلك تدخل مرحلة الشيخوخة والتدهور.

كيف يحدث النمو في الثمار و ما هي المراحل الرئيسية لنمو الثمار ؟

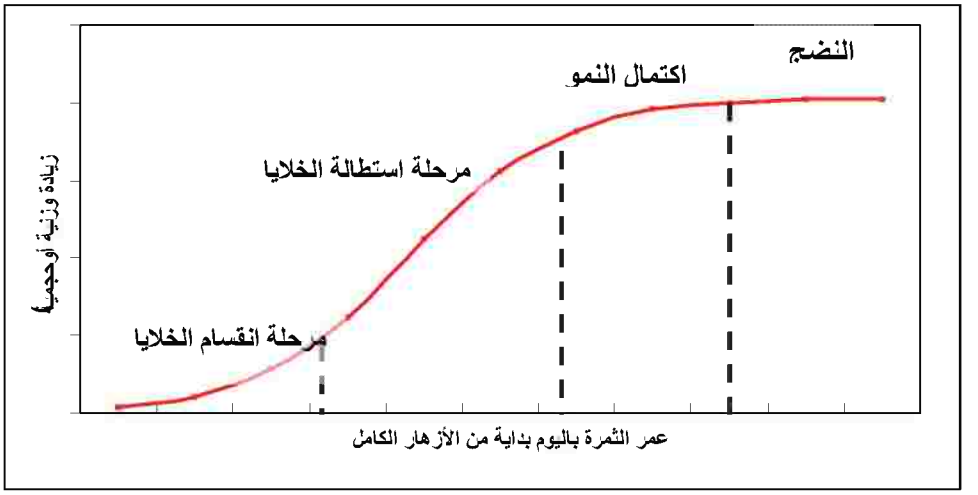
يحدث النمو في الثمار في صورة مراحل أو دورات متقطعة بمعنى أنة يمكن تمييز كل مرحلة أو دورة عن المراحل السابقة لها. إلا انهُ قد تكون هذه الدورات متلاحقة

ومتداخلة مع بعضها أو متصلة ببعضها البعض فتبدوا كما لو كانت مرحلة واحدة أو دورة واحدة. علماً بان العوامل المناخية من حرارة ورطوبة وشدة إضاءة وكذلك العوامل الفسيولوجية المرتبطة بالشجرة مثل مستوى الكربوهيدرات ومخزون العناصر الغذائية في الشجرة وكذلك مستوي الهرمون الطبيعي تلعب دور هام في طول وقصر مراحل النمو.

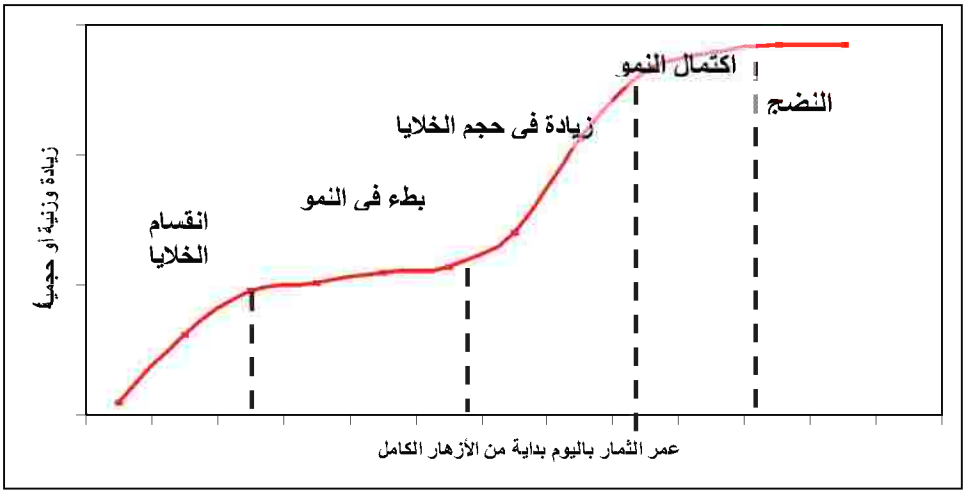
وتنمو الثمار في صورة منحنى نمو يسمى هذا المنحنى بمنحنى نمو الثمار الطبيعي. ويمثل هذا المنحنى العلاقة ما بين حجم الثمرة وعمرها الثمرة باليوم.

منحني النمو الطبيعي للثمار :

والحقيقة أن المنحي السابق هو الصورة البسيطة للنمو (منحني نمو ذات دورة واحدة Simple sigmoid) وينطبق هذا علي ثمار الموالح والتفاح والفراولة والطماطم. بينما نجد أن هناك العديد من الثمار تنمو لفترة من الزمن ثم يتوقف النمو لتعاوده مرة أخري ونستطيع تمييز ثلاث دورات في هذا المنحني الأولي تنمو خلالها أنسجة الثمرة ويزداد حجم اللب والثانية يتوقف نمو اللب وينمو خلالها الجنين ويكتمل تكوين البذور وفي المرحلة الثالثة يستأنف اللب نموه حتى نصل إلى الحجم النهائي (وهذا ما يعرف بمنحنى النمو ذات الدورتين Double Sigmoid). وهذا النموذج للنمو ينطبق علي ثمار العنب والخوخ والمشمش والبرقوق والزيتون. وهناك ثمار تنمو علي فترات متقطعة أي عديد من المراحل كل مرحلة نمو يعقبها مرحلة ثبات ثم تليها مرحلة نمو وهكذا وقد تبدوا هذه المراحل متلاحقة ومتداخلة مع بعضها البعض فتظهر كما لو كانت مرحلة واحدة.



منحني نمو الثمار ذات المرحلة الواحدة (Mono Sigmoid curve).



منحني نمو الثمار ذات المرحلتين (Double Sigmoid curve).

أطوار نمو الثمار Fruit growth development

التحليلات التي تجري علي الثمار

بداية من الإخصاب وبداية العقد حتى نضج الثمار نستطيع تحديد أطوار رئيسية للنمو في الثمار كل منها مميز عن الأخر ولكل صفاته المميزة الذي تحدده وتميزه عن الأطوار الأخرى. والأطوار الرئيسية للنمو هي :

- **طور انقسام الخلايا Cell division stage**

يبدأ هذا الطور مباشرة بعد حدوث الإخصاب وبداية العقد (وقد لا نحتاج إلى الإخصاب في حالة العقد البكري) حيث يحدث انقسام سريع للخلايا، يستمر هذا الانقسام وتتضاعف أعداد الخلايا بسرعة فائقة حتى تصل إلى العدد النهائي للخلايا المطلوب وجودها في الثمار الناضجة. والمدة الزمنية اللازمة لإتمام هذا الطور تختلف باختلاف الأنواع والأصناف ولكن في كل الحالات لا يستغرق هذا الطور مدة زمنية طويلة نتيجة سرعة انقسام الخلايا. ويمتاز هذا الطور بارتفاع ملحوظ في سرعة التنفس.

وفي حالة الثمار البكرية لا يحدث إخصاب وعملية التلقيح هنا تنشط خلايا المبيض للانقسام وتكوين الثمار، وقد لا يحدث تلقيح بالمرة (وذلك في حالات عديدة منها ثمار الموز) وهنا يحدث تنشيط هرمونيً للمبيض نتيجة ارتفاع محتواه من الأوكسين. وقد يحدث تلقيح وإخصاب ونمو للجنين ثم يحدث له إجهاض وتبدوا الثمار خالية من البذور كما في العنب البناتي.

- **طور استطالة الخلايا Cell elongation stage**

يلي الطور السابق مباشرة و قد يتداخل معه نسبيا في بدايته. وفى هذا الطور تتحول الخلايا من الحالة الميرستيمية النشطة إلى خلايا برانشيمية تزداد في الحجم و تتضخم نتيجة تجمع السكريات و الماء في الفجوات العصارية كما يحدث تصلب في جدر هذه الخلايا نتيجة ترسيب البروتوبكتين وتنتهي هذه المرحلة بوصول الخلايا إلى اكبر حجم لها.

- **طور اكتمال النمو أو البلوغ Maturity stage**

وهذا الطور يمثل نهاية الطور السابق حيث يكتمل حجم الثمرة ولا يحدث زيادة ملحوظة في حجم الثمار بعد هذا الطور. ويصحب هذا الطور حدوث تغيرات كيميائية

وطبيعية ملحوظة وواضحة في أنسجة الثمار الداخلية تؤدى إلى حدوث اكتمال تكوينها الداخلي حيث تتراكم مكونات الثمرة الهامة كالنشا والسكريات و الأحماض العضوية. كما يترسب الشمع علي أسطح بعض الثمار مثل ثمار الموالح . كما انه في بعض أنواع الثمار تتكون طبقة فلينية مكان الثغور مثل ثمار التفاح.

ويعرف هذا الطور بأنة المرحلة أو الدرجة التي تصل فيها الثمار إلى أقصى نمو ممكن بحيث لو قطفت أو فصلت من الشجرة أو النبات يمكنها أن تستمر في النضج بدون حدوث نقص واضح في جودتها، أي تستمر في النضج كما لو تركت على الشجرة. وبعبارة أخرى هو أدنى درجات النضج.

- **طور النضج Ripening stage**

وهي تلك المرحلة التي تصبح فيها الثمار صالحة للاستهلاك. ولا يمكن تحديد مواصفات ثابتة ومحددة بالضبط لطور النضج لكل أنواع الثمار نظراً لان مواصفات الصلاحية للاستهلاك تختلف من بلد لأخر وفقا لذوق المستهلكين وعاداتهم. والذي يحدث للثمار في مرحلة النضج من ظهور اللون النهائي وتحول النشا إلى سكر واختفاء المواد القابضة وزيادة نسبة العصير وليونة جدار الثمار مع بقاء أنسجة الثمرة بحالة جيدة مما يمكنها من القيام بالعمليات الفسيولوجية بصورة طبيعية سوف نتعرض لهذا بالتفصيل عند الحكم علي درجة نضج الثمار.

- **طور الشيخوخة Senesces stage**

وهذا الطور يلي الطور السابق مباشرة حيث تضعف الخلايا وتلين جدرها وتقل كفاءة و حيوية الأنزيمات وتبدأ الكائنات الحية الدقيقة في مهاجمة الثمار. وكلما استطعنا تأخير هذا الطور كلما كان أفضل وعلى هذه الفكرة تقوم كثير من المعاملات التي تتم بعد جمع الثمار بهدف حفظها لأطول مدة ممكنة.

- **طور التحلل أو الموت Death stage**

تبدأ هذه المرحلة بليونة أنسجة الثمرة يعقبها مباشرة مهاجمة الكائنات الحية الدقيقة لأنسجة الثمار حيث تبدأ في التحلل وتصبح غير ملائمة تماماً للاستخدام الآدمي.

التحليلات التي تجري علي الثمار

تحديد الموعد الأمثل لقطف الثمار

(دلائل النضج في الثمار)

Maturation and Harvesting Indices

من أهم المواضيع التي يتوقف عليها جودة الثمار وبالتالي علي تحديد سعرها وصلاحيتها للاستهلاك الطازج أو للتصدير هو موعد جمع الثمار حيث أنة لو تم التبكير عن اللازم في جمع الثمار تكون غير كاملة النضج ورديئة التلوين ومنخفضة الجودة وإذا تم التأخر عن اللازم فأن الثمار ستكون وصلت إلى مرحلة متقدمة من النضج وبدأت أنسجتها في الليونة ويصعب معها التداول والتخزين بالتالي تقل مدة بقاءها في الأسواق وينخفض سعرها.

ولا يفوتنا هنا أن نذكر أن بعض الثمار يتم قطفها في مراحل مبكرة من النضج مثل ثمار الموز والكاكى ثم ويجري عليها بعد ذلك الإنضاج الصناعي حتى تصبح صالحة للاستهلاك الآدمي.

وهناك العديد من الدلائل أو المقاييس التي تستخدم للحكم على نضج الثمار نوجز هنا أهم هذه الدلائل التي يمكن أن نعتمد عليها في هذا المضمار البعض منها يسمي بالمقاييس الطبيعية أو الفيزيائية من أهمها:

1- تقدير وزن الثمار
2- تقدير حجم الثمار
3- قياس شكل الثمار
4- قياس اللون
5- قياس الوزن النوعي
6- قياس صلابة الثمار
7- قياس سمك القشرة و قطر اللب
8- سهول فصل الثمار عن الأفرع
9- عدد الأيام من الأزهار
10- سهول فصل البذور عن اللب
11- نسبة العصير إلى باقي مكونات الثمرة
12- سرعة التنفس
13- بعض الاختبارات الحسية
14- بعض المقاييس الخاصة بثمار العنب
15- الخبرة الشخصية.

وهناك دلائل أو مؤشرات للنضج يتم تقديرها عن طريق التحليل المعملي وتعرف بالمقاييس الكيميائية لنضج الثمار ومن أهم هذه المقاييس :

1- نسبة المواد الصلبة الذائبة في العصير
2- نسبة السكريات المختزلة في العصير
3- نسبة السكريات الكلية في العصير
4- - نسبة الحموضة في العصير
٥- تركيز الفيتامينات الرئيسية في الثمار
٦- تركيز البكتين في الثمار
7- نسبة النشا في الثمار
8- تركيز الصبغات النباتية في جلد الثمرة
9- نسبة الكربوهيدرات الكلية في الثمار
١٠- نسبة الألياف في الثمار
١١- نسبة البروتين والدهون في بعض الثمار

أولاً: المقاييس الفيزيائية أو الطبيعية لنضج الثمار

1- لون الثمار Fruit Color

يلعب لون الثمار دور جوهري وأساسي في جودة وتسويق الثمار وإقبال المستهلك عليها. كما أنها من العوامل المهمة في تحديد سعر المحصول كعنصر أساسي من عناصر جودة الثمار. ولدراسة لون الثمار يجب أن نوضح بعض المفاهيم الخاصة باللون.

وتغير اللون ذات أهمية كبرى كدليل على تطور الثمار وكذلك على تحديد الموعد المناسب لقطف هذه الثمار. والتغيرات اللونية هي تغيرات كيميائية في الأساس تنشأ عن اختفاء أو ظهور صبغات كيميائية معينة في خلايا الأجزاء المختلفة للثمرة. وتنحصر تغيرات اللون في اختفاء صبغات الكلوروفيل أ والكلوروفيل ب وظهور صبغات أخرى و زيادة تركيزها مثل صبغات الكاروتينات والزنثوفيل والليكوبين والأنثوثيانين... وهذه الصبغات تعطى اللون المميز للثمار الناضجة.

وتستطيع عين الإنسان رؤية الأشعة التي يتراوح طولها الموجي من ٤٠٠ إلى ٧٦٠ نانوميتر بوضوح ولكنها لا تستطيع رؤية الأشعة آلتي يزيد طولها على ٧٦٠ أو يقل على ٤٠٠ نانوميتر.والطول الموجي المتراوح من ٤٠٠ إلى ٧٦٠ يعطى الألوان التالية :

Ultra-Violet	< 400 nm
Violet	400 : 450 nm
Blue	450 : 500 nm
Green	500 : 570 nm
Yellow	570 :590 nm
Orange	590 : 620 nm
Red	620 : 760 nm
Infra-red	>760

بالتالي نجد أن لكل لون طول موجي محدد تستطيع عنده العين رؤية هذا اللون بوضوح. كما أن هناك علاقة بين الضوء الممتص والضوء المرئي بالنسبة للعين، والجدول التالي يوضح هذه العلاقة :

Wave lengths Absorbed nm	Colour absorb	Visual colour
400 : 430	Violet	Yellow-Green
430 : 480	Blue	Yellow
480 : 490	Green-blue	Orange
490 : 500	Blue-green	Red
500 : 560	Green	Purple
560 : 580	Yellow-green	Violet
580 : 595	Yellow	Blue
595 : 605	Orange	Green-Blue
605 : 750	Red	Blue-Green

والتغيرات الحادثة في لون الثمار يمكن تقسيمها إلى قسمين أساسيين هما:

تغير اللون الأساسي للثمار Ground color changing

التحليلات التي تجري علي الثمار

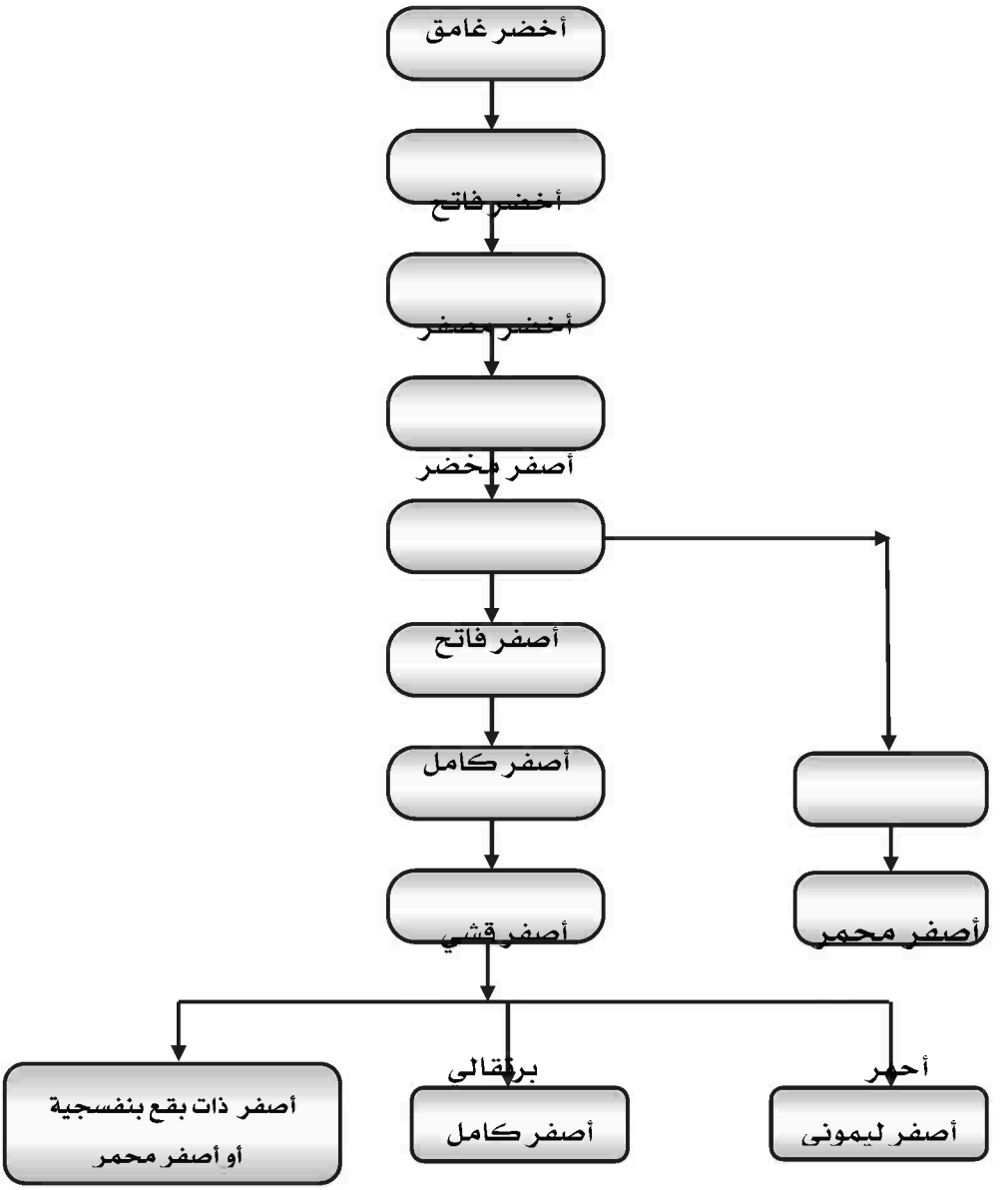
من المعروف أن الثمار تبدأ نموها باللون الأخضر الداكن والذي يرجع إلى وجود صبغات الكلوروفيل أ والكلوروفيل ب بتركيزات عالية. ومع تقدم الثمار في العمر واقترابها من النضج يبدأ تركيز اللون الأخضر في الانخفاض ويظهر اللون المميز للصنف نتيجة تحلل الكلوروفيل وزيادة تركيز الصبغات الأخرى. وليست هذه الظاهرة عامة أو مطلقة حيث نجد أن هناك عديد من الثمار تصل إلى اكتمال النضج وهي خضراء اللون. واختفاء اللون الأخضر يحدث تدريجيا نتيجة تحلل الكلوروفيل إلى مركبات وسطية عديمة اللون .

تغيرات تسبب إكساب الثمار اللون النهائي Surface Color changing

في بعض الثمار يتوقف التغير في اللون عند التغير الحادث في اللون الأساسي فقط ويظهر كلون نهائي على جلد الثمار. حيث نجد أن تطور اللون في ثمار بعض أصناف المانجو يتوقف عند اللون الأخضر الفاتح أو الأخضر المصفر، كما إن بعض أصناف الزبدية تظل خضراء غامقة حتى مرحلة اكتمال النضج .

ولكن الغالبية العظمى من الثمار تكتسب بالإضافة إلى تغيرات اللون الأساسي ألوان أو درجات أخرى مختلفة من اللون الأحمر أو البنفسجي مع الاصفرار أو البرتقالي. وفى بعض الحالات مثل بعض أصناف البرقوق تكتسب الثمار اللون الأزرق أو البنفسجي. وهذه الألوان الجذابة راجعة لوجود صبغات غير كلوروفيليه ذائبة في العصير الخلوي لهذه الخلايا.

ويمكن تلخيص تغيرات اللون في الثمار كما بالشكل التالي



وقد يتوقف تتطور اللون عند مرحلة متقدمة من التسلسل السابق كما في أصناف الزبدية الخضراء وقد يستمر إلى مرحلة معينة ويتوقف كما في ثمار العنب البناتي التي تظهر باللون الأصفر أو ثمار الموالح التي تظهر باللون البرتقالي.

هناك بعض الحالات يظهر فيها اللون الأحمر داخل لب الثمار كما في حالة البرتقال أبو دمه أو الجرب فروت صنف مارش ويرجع هذا لوجود صبغات إضافية أخرى ذائبة في اللب مثل الليكوبين. كما أنة قد تظهر ألوان مختلفة على مناطق معينة على جلد الثمرة أو يظهر خد زاهي ومميز اللون كما في حالة ثمار الخوخ وبعض أصناف المانجو.

إذاً ما هي العوامل التي تؤثر على تلوين الثمار؟

من المعروف أن اللون المميز للثمار صفة وراثية، أي أنها مرتبطة بالتركيب الجيني للنوع والصنف. ولكن تركيز اللون النهائي وجودته يتأثر كثيرا ببعض العوامل البيئية والزراعية وأهم هذه العوامل هي:

- **درجة الحرارة** Temperature effect:

انخفاض درجة الحرارة يؤدى ألي قلة تكوين اللون النهائي للثمار وهذا يفسر على أساس إن انخفاض الحرارة يؤدى إلى قلة نشاط الأنزيمات المؤثرة على تكوين الصبغة المسؤولة عن اللون النهائي للثمار. كما أننا نجد أن التفاوت الكبير في درجات الحرارة بين النهار و الليل له دور كبير في درجة تلوين الثمار. وفي حالة ارتفاع درجة الحرارة عن اللازم (عن الحد الأمثل) فأنها تؤثر سلبيا علي تلوين الثمار ولذلك نجد إن ثمار الموالح في السودان وفلوريدا رديئة التلوين عنها في مصر وكاليفورنيا. كما أن درجة ظهور اللون الأحمر في لب ثمار البرتقال أبو دمه تتأثر كثيرا التباين في درجة حرارة الليل والنهار.

- **الضوء** Light effect

للضوء أثرة الكبير على التغيرات الكيميائية التي تحدث في الثمار والتي منها تكوين الصبغات المسؤولة عن تلوين الثمار مثل الكاروتينات والزانثوفيل والأنثوسيانينات..

وذلك من خلال تأثيره على عملية البناء الضوئي و بالتالي أثرة على تكوين الكربوهيدرات.

- **التركيب الكيميائي للثمار** Chemical composition

مما لاشك فيه أن التركيب الكيميائي وتركيز المواد داخل الثمار له أثره علي درجة وجودة التلوين. ومن أهم العلاقات في هذا الشأن تلك الموجودة ما بين اللون الأحمر وبنسبة السكريات في الثمار، حيث أن زيادة السكر تؤدى إلى زيادة تركيز صبغة الأنثوثيانين ويرجع هذا إلى أن السكر يدخل في التركيب الكيميائي لهذه الصبغة. وبالتالي يزداد تركيزها كلما ازدادت الثمار في الحلاوة وهذا ملحوظ في ثمار التفاح والبلح الأحمر والفراولة والبطيخ.

- **النسبة ما بين الثمار إلى المسطح الورقي** Leaves / Fruits ratio

تم دراسة هذه العلاقة في أشجار التفاح حيث وجد انه يلزم كل ثمرة ما بين ٢٠ إلي ٣٠ ورقة حتى يكتمل نموها و تتلون بدرجة جيدة. ولكن بزيادة عدد الأوراق عن هذا الحد فأنها تحجب الضوء عن الثمار وتؤدى إلى رداءة تلوين الثمار. والعكس صحيح أي أنه كلما زاد عدد الثمار علي الشجرة بصورة كبيرة أدي ذلك لانخفاض جودة الثمار وقلة تلوينها وذلك لعدم قدرة الشجرة علي إنضاج هذا العدد من الثمار. بالتالي لابد أن يكون هناك حالة من التوازن بين النمو الخضري وعدد الثمار علي الشجرة وهذا ما يجعلنا في بعض الأحيان نقوم بأجراء خف للثمار الموجودة علي الشجرة وفي أحيان أخري نقوم بأجراء توريق للأفرع (إزالة جزء من الأوراق لتعريض الثمار للضوء).

- **الري والتسميد** Irrigation and fertilization effect

زيادة معدل التسميد و الري وخاصة في المراحل المتأخرة لنمو ثمار الفاكهة عن الحد اللازم يؤدى إلى زيادة كبيرة في النمو الخضري على حساب الثمار. وينتج عن هذا إنتاج العديد من الأوراق الجديدة وزيادة حجم الأوراق وسرعة نمو الأفرع مما يؤدي إلى تظليل الثمار. بالتالي يؤدى هذا إلى رداءة التلوين. كما إن موعد إضافة

الأسمدة له أهمية بالغة ودور ملحوظ في تلون الثمار من حيث أثرة علي النمو الخضري وكذلك علي جودة الثمار.

- **اصل التطعيم** Rootstock effect

من المعروف أن هناك أثر متبادل ما بين الأصل و الطعم. ومن ضمن هذه التأثيرات أثر الأصل على جودة ثمار الطعم آلتي يهمنا الآن منها لون الثمار. والمثال هنا واضح في ثمار الموالح حيث نجد أن الموالح المطعمة على النارنج أكثر جودة في التلوين من الموالح المطعمة على الليمون المخرفش أو الليمون البلدي المالح.

قياس اللون:

يمكن قياس اللون بعدة طرق متعارف عليها في المعاهد العلمية المختلفة نذكر منها:

طريقة الكروت المرجعية:

وهذه الكروت كل منها يحمل درجة من اللون برقم معين وتوضع الكروت المقاربة في اللون للثمرة بجوارها ويتم اختيار الكارت الذي يطابق لون الثمار وبالتالي نحدد لون الثمار. وهى طريقة سهلة الأجراء إلا أنها تحتاج إلى قوة ملاحظة عالية وخبرة شخصية في استخدام هذه الكروت.

القياس المعملي:

أو يستخدم إحدى النظم العالمية في عرض النتائج مثل نظام الـ Lab , Yxy, LCH والنظام الأول (Lab) هو النظام الأكثر استخدام والأكثر مرجعية في معظم بلدان أوربا. وقبل استخدام الجهاز في قياس لون الثمار يجب معايرة الجهاز نفسه عن طريق استخدام كروت مرجعية.

وتعتمد فكرة الجهاز على مدى امتصاص الضوء الناتج عن لون الثمرة بواسطة جهاز التقدير. وفى نظام Lab يتم قياس اللون عن طريق كثافة اللون أو شدة اللون معبرا عنه بحرف (L)، ومدى التلوين وذلك عن طريق محورين أو إحداثيين الأول يعبر عنة بحرف (a) وهو يبدأ من درجات اللون الأخضر حيث تسبق القراءة بالإشارة السالبة (–) وينتهى بدرجات اللون الأحمر حيث تسبق القراءة بالإشارة الموجبة (+) ، والثاني

يعرف بالمحور (b) ويبدأ باللون الأزرق وعندها يسبق القراءة إشارة سالبة (–) وينتهى بدرجات اللون الأصفر وعندها تسبق القراءة بإشارة موجبة (+). وننصح بأخذ التقدير على جانبي الثمرة ثم أخذ المتوسط لهما حيث أن الجهة المعرضة للشمس تكون أكثر تلوين من الجهة المعرضة للظل.

وهنا يتم

وهناك طريقة أخرى لتقدير اللون في الثمار وهى تقدير الصبغة الرئيسية المسؤولة عن التلوين في الثمار. وذلك عن طريق استخدام نظرية امتصاص الضوء ويستخدم هنا جهاز الـ Colorimete حيث يتم استخلاص الصبغة الرئيسية المسؤولة عن اللون وتقديرها علي طول موجي معين. والصبغة المسؤولة عن اللون يزداد تركيزها بتقدم الثمار في النضج بالتالي يمكن تقديرها للحكم علي نضج الثمار أو علي جودة الثمار، وسوف نوضح هذا بالتفصيل عند تقدير الصبغات النباتية كيميائياً.

2- حجم الثمار: Measuring of fruit size

بزيادة الثمرة في العمر تتمدد جدرها ويزداد حجم خلاياها وهذا يؤدى بدورة في النهاية إلى زيادة حجم الثمرة وعندما تبلغ ثمار الصنف إلى حجم معين نقول أن هذه الثمار قد وصلت إلى مرحلة النضج ويجب قطفها. ويمكن تقدير الحجم في ثمار الفاكهة باستخدام مخبار مدرج مملوء بالماء كالتالي:

طريقة التقدير

هناك طرق كثيرة ومعروفة لتقدير الحجم ولكن هنا في ثمار الفاكهة أو الخضر يمكن تقديره اعتمادا علي فكرة قاعدة أرشميدس المعروفة "إذا غمر جسم تحت سطح الماء فأنة يزيح حجم معين من السائل يساوى حجم الجسم المغمور تحت سطح الماء"

فيحضر مخبار زجاجي مدرج ذات حجم متناسب مع الثمار المراد قياس حجمها.

يملئ المخبار بالماء حتى تدريج معين وليكن مثلا ٥٠٠ ملى.

يتم وضع الثمرة المراد تقدير حجمها داخل المخبار بحيث تغمر كاملة تحت الماء ويتم تدوين حجم السائل في المخبار قبل وبعد وضع الثمار ثم يطرح الحجم الأول من الثاني ويكون الفرق عبارة عن حجم الثمرة.

وحجم الثمار من المقاييس الضعيفة في تحديد موعد قطف الثمار حيث أنه يتأثر بشدة بالعديد من العوامل البيئية (من حرارة ورطوبة وشدة إضاءة) والعمليات الزراعية (من ري وتسميد وتقليم وغيرها). لذاً يجب أن ننبه على أن الحجم لا يعطى فكرة أكيدة أو قاطعة على نضج الثمار ولكنها فكرة تقريبية وبالتالي وجب علينا أن نستخدم معه دليلا آخر للتأكد من وصول الثمار إلى مرحلة النضج.

3- شكل الثمار Fruit shape index

غالبا ما تبدأ الثمار نموها بشكل مستدير أو كروي و بتقدم الثمرة في النمو قد تستمر في الاستدارة مثل معظم ثمار الموالح وقد تتحول إلى أشكال أخرى مميزة سواء كمثرية أو كلوية أو بيضاوية ... وذلك على حسب النوع النباتي.

ووصول الثمرة إلى الشكل المميز للصنف أو النوع النباتي يعد دليلا على وصول هذه الثمار للنضج.

ومعظم أصناف التفاح تبدأ مستديرة الشكل ثم تأخذ بعد ذلك الشكل المفلطح باقتراب نضج الثمار أو اكتمال نموها. كما أن ثمار مثل ثمار الموز تكون حادة الزوايا في المراحل الأولى للنمو ثم بعد ذلك تقل حدة هذه الزوايا وتميل إلى الاستدارة وتتلاشى هذه الزوايا تقريبا في مرحلة اكتمال النضج. وفي حالة المانجو يزداد نمو الثمار من جهة القاعدة مكونة الأكتاف والتي يعتبر ظهورها من دلائل نضج العديد من أنواع الثمار. بالتالي يستخدم شكل الثمار كدليل على اكتمال نموها وتحديد موعد جمع هذه الثمار.

ولما كانت للظروف الجوية مثل شدة الإضاءة والرطوبة والحرارة التي مرت بها الثمار خلال مراحل نموها وكذلك المعاملات الزراعية التي أجريت علي المزرعة لها

أثرها على الشكل النهائي للثمار فلا يمكن الاعتماد بصوره مطلقة أو فردية على شكل الثمار كمقياس لنضج الثمار وتحديد موعد الجمع.

ولقياس الشكل في معظم الثمار يتم قياس طول الثمرة و قطرها بواسطة الأدمة ذات الورانيه ويتم استخراج النسبة بينهما. والتي تعرف بمعامل شكل الثمار shape index وكلما اقتربت هذه النسبة من الواحد الصحيح دلت علي أن الثمار تميل لأخذ الشكل الكروي أو المستدير.

4- سمك اللب وسمك القشرة والعلاقة بينهما

من المعروف أن قطر اللب يزداد بتقدم الثمار في النمو حتى يصل إلى أعلى معدل له في مرحلة اكتمال النمو، بينما معدل زيادة قطر أو سمك القشرة يكون اقل بكثير. ويمثل هذا المقياس أهمية خاصة في بعض الثمار مثل ثمار الموالح.

والنسبة ما بين قطر اللب إلى قطر القشرة يزداد زيادة طرديه بتقدم الثمار في النضج حتى يصل أعلى معدل له في مرحلة اكتمال النمو والنضج.

5- وزن الثمار Fruit weight

من المعروف أن وزن الثمار يزداد تدريجيا بتقدم الثمار في العمر حتى تصل لأقصى وزن لها في مرحلة النضج وهذه الزيادة في الوزن راجعة إلى مرحلتي انقسام الخلايا وزيادة حجم الخلايا. بالتالي يمكن استخدام متوسط وزن الثمرة كدليل على موعد قطف هذه الثمار.

وفي كل الأحوال فأن الزيادة في الوزن يجب ربطها بالزيادة في حجم الثمار (وهنا نعتمد علي الكثافة النسبية للثمار) ويمكن الاعتماد عليها بصورة أشمل وأوضح كدليل أو علامة من علامات النضج.

في حالة الثمار كبيرة الحجم مثل ثمار المانجو أو ثمار الموالح يؤخذ متوسط وزن الثمرة الواحدة كدليل. أما في حالة الثمار صغيرة الحجم يتم أخذ متوسط وزن الـ 10 ثمرات كما في الفراولة والنقليات أو الـ 100 حبة كما في العنب.

6- صلابة الثمار Fruit firmness

صلابة الثمار هي تقدير مدى مقاومة لب هذه الثمار للضغط الواقع عليها. والمواد البكتينيه الموجودة في الصفيحة الوسطي لجدر خلايا الثمار هي أهم المواد المتحكمة في صلابة أو ليونة هذه الثمار. ومن الملاحظ أن صلابة الثمار تزداد كثيرا خلال مراحل نموها الأولي وبعدها تتناقص بصورة ملحوظة وخاصة في مرحلة النضج. وفي المراحل المتأخرة للنضج تقل الصلابة جدا وتبدأ جدر الخلايا في التحلل.

وترتبط ليونة الثمار بعاملين هامين لا نستطيع دراسة أحدهم بمعزل عن الأخر وهما:

سمك و تركيب جدر الخلايا:

في خلال مراحل نمو وتطور الثمار يحدث تغيرات في جدر الخلايا . من الملحوظ أن جدر الخلايا يقل سمكها وتزداد طراوتها في مراحل النضج عنها في مراحل النمو. ومن خلال الدراسات السابقة وتحت الظروف المصرية وجد أن سمك القشرة في ثمار الخوخ يزداد حتى شهر يوليو ثم يقل في السمك بعد ذلك إلى أن تصل الخلايا إلى درجة الانحلال.

التغيرات الكيميائية والأنزيمية التي تحدث في للمواد البكتينيه:

المواد البكتينيه هي المكون الأساسي لجدر الثمار حيث تترسب في صورة بكتات كالسيوم التي تكسب جدر الخلايا الصلابة اللازمة. وفي مرحلة النضج تتحول هذه الصورة الغير ذائبة إلى حامض البكتيك و البروتوبكتين الذائبين في الماء. وهذا ينشأ عنه ليونة في أنسجة الثمار بالتالي تفقد الثمار كثيرا من صلابتها وتصبح صالحة للاستهلاك. وعملية فقد الصلابة عملية طبيعية تحدث بتقدم الثمار في العمر إلا أنة يمكن أجراؤها صناعيا بالتالي الإسراع أو التعجيل من عملية النضج (وسوف يأتى ذكر هذه المعاملات في وقتها).

ويتم تقدير الصلابة عن طريق إحداث ضغط معين على أنسجة الثمرة لقياس أقصى درجة تحمل لهذه الثمار. سواء بقياس الضغط اللازم لاختراق أنسجة الثمرة وهذا يجرى عن طريق استخدام جهاز البينترومتير penetrometer والذي يقيس القوة اللازمة لاختراق جدر بالكجم /سم^2 أو جهاز الـ fruit pressure testers والذي يقيس القوة اللازمة لتهشم جدر خلايا الثمار بالـ كجم /سم^2 أو بالرطل /

البوصة المربعة. وفي حالة ثمار العنب والثمار المماثلة حيث نقوم بقياس الضغط على جانبي الثمرة يمكن استخدام جهاز آخر هو الـ Groshing Fruit Tester والذي يقدر القوة اللازمة لتهشم أنسجة الثمرة.

ومن أجل تجانس القراءات المأخوذة بواسطة الجهاز تؤخذ القراءة على الجانب الأقل تلوين في الثمار وفقا لتوصيات المهد القومي للبحوث الزراعية بفرنسا INRA. إلا أنة في بعض الأحوال التجارية حيث يهمنا نسبة الثمار الناضجة فأنة يفضل أجراء القياس على الجانب الأكثر تلويناً.

وهناك مجموعة من العوامل من شأنها التأثير بالسلب أو بالإيجاب على صلابة الثمار من أهم هذه العوامل:

(a) درجة احرارة

تلعب درجة الحرارة دورا هام من خلال تأثيرها على النشاط الفسيولوجي لأنسجة الثمرة ، حيث تؤثر في سرعة تنفس الثمار (وعملية التنفس تحتاج إلى طاقة بالتالي هي عملية هدم وتحول المواد المعقدة إلى مواد بسيطة) وكذلك تؤثر علي نشاط الأنزيمات المحللة للبكتين الغير ذائب في جدر الخلايا وهذا التأثير معروف وسبق دراسته بواسطة العديد من الباحثين، حيث وجد النشاط الأنزيمي يزداد بارتفاع درجة الحرارة تدريجيا حتى نصل إلى درجة حرارة معينة تسمى الحرارة المثلى بعدها يتناقص معدل النشاط تدريجيا حتى نصل إلي درجة الحرارة التي يتوقف عندها النشاط الأنزيمي تماما وإذا ما استمرت الحرارة في الارتفاع يتلف الأنزيم تماما ويفقد حيويته. وكذلك يقل النشاط الأنزيمي بانخفاض درجة الحرارة عن الحرارة المثلي حتى نصل إلى الدرجة التي يتوقف عندها النشاط الأنزيمي تماماً.

(b) الرطوبة الجوية

وتأثير الرطوبة هو عامل مكمل وملازم لأثر الحرارة. والدراسات السابقة توضح أن الثمار الناتجة من المناطق العالية الرطوبة تمتاز بأنها اكثر صلابة من الثمار الناتجة من المناطق المنخفضة الرطوبة.

(c) المعاملات الزراعية:

من الملحوظ أن الري والتسميد من العوامل الزراعية التي تؤثر بشدة على صلابة الثمار عند الوصول إلى مرحلة النضج. كما أن التقليم والمعاملات الأخرى قد تؤدي إلى تغير في صلابة الثمار أيضا سواء بصورة مباشرة أو غير مباشرة.

(d) عدد الثمار على الشجرة:

زيادة عدد الثمار على الأشجار بصورة كبيرة تقل معها كفاءة الشجرة لإنضاج هذا الكم من الثمار وتأخر النضج عن الموعد الطبيعي. بالتالي كلما ذاد عدد الثمار على الشجرة كان من المتوقع أن تقل الليونة وتزيد الصلابة والعكس صحيح.

7- تغير الوزن النوعي للثمار

الكثافة النوعية للثمار هي العلاقة ما بين وزن الثمار وحجمها. وقد لوحظ أن الوزن النوعي للثمار يتغير سواء بالنقص أو بالزيادة أثناء نمو وتطور الثمار. أي انه كلما ذاد تطور الثمرة وزاد عمرها الفسيولوجي زاد وزنها النوعي. وفى بعض الثمار يزداد الوزن النوعي في الفترات الأولى للنمو ثم ما يلبث أن يتناقص في المراحل المتأخرة للنمو.

وترجع الزيادة في الوزن النوعي في المراحل المتأخرة لنمو الثمار إلى تراكم كثير من المواد الصلبة الذائبة وعلى الأخص السكريات والأملاح المعدنية لا يقابلها زيادة مكافئة لها في الحجم. وقد عرف المستهلك المصري هذه الظاهرة منذ فترة طويلة حيث يحاول المستهلك تخمين نضج ثمار البطيخ باستخدام هذه الظاهرة.

الوزن النوعي وتطوره له علاقة بالمواد التي يتم تراكمها داخل خلايا الثمار في طور النضج من حيث نوعيتها وكميتها وكذلك وزنها النوعي. أيضا بتكون الفجوات بين خلايا الثمرة وهذه الفجوات تعطى مظهر الزيادة في الحجم وهذه الزيادة لا يقابلها زيادة في الوزن.

ومن الملحوظ أن بعض الثمار مثل ثمار اليوسفي في مرحلة النضج يتفرغ قلب الثمرة ويزداد الفراغ الموجود بين القشرة واللب وهذا يؤدي إلى زيادة ملحوظة في الحجم لا يقابلها زيادة في الوزن بالتالي يقل الوزن النوعي للثمار.

8- سهولة فصل الثمار عن الدوابر أو الأفرع

تمتاز منطقة عنق الثمار بزيادة تركيز المواد البكتينيه فيه و بتقدم عمر الثمار تتحل هذه المواد. حيث يتحلل البروتوبكتين الغير ذائب إلي بكتين ذائب وحامض بكتيك بواسطة أنزيم الـ Protopectinase

Protopectinas

بروتوبكتين ⟵ *بكتن ذائب + حامض بكتيك*

وهذا يجعل هذه المنطقة تلين تدريجيا بتقدم الثمار في العمر حتى نصل إلى مرحلة النضج وإذا لم يتم جمع الثمار فأنها تتساقط على الأرض حيث إن منطقة الانفصال أصبحت من الضعف بحيث لا تستطيع حمل الثمار.

وهذا المقياس يمكن الاعتماد علية لتحديد موعد جمع الثمار. إلا إن أهمية هذا المقياس تقل مع استخدام منظمات النمو التي تقلل من سهولة فصل الثمار عن الأفرع وتزيد من قوة التصاقها بالأفرع بهدف منع تساقط هذه الثمار. والوضع الطبيعي أن يكون تركيز الأوكسين في الجانب البعيد للثمرة Distal side أكبر بكثير عن تركيزه في الجانب القريب Proxima side وعند حدوث خلل في هذا التوازن يحدث تساقط للثمار.

9- عدد الأيام من الأزهار الكامل

بداية من الأزهار حتى نضج الثمار نجد أن الثمار تحتاج إلى عدد معين من الأيام للوصول إلى مرحلة النضج. وهذه الفترة الزمنية تختلف من نوع إلى آخر بل من صنف لأخر داخل نفس النوع. ومن الجدير بالذكر هنا أن الظروف المناخية بصفة عامة ودرجة الحرارة بصفة خاصة لها تأثير ملحوظ على عدد هذه الأيام لذلك يميل البعض إلى استخدام عدد الوحدات الحرارية بدلاً من عدد الأيام لتحديد موعد جمع الثمار.

ونذكر في الجدول التالي عدد الأيام اللازمة لنضج بعض ثمار أشجار الفاكهة محسوبة من وسط موسم الأزهار حتى مرحلة نضج الثمار.

النوع	الصنف	عدد الأيام اللازمة للنضج
المانجو	أغلب الأصناف	يتراوح من ٩٣ الى ١٥٠ يوم على حسب الصنف
الخوخ	أغلب الأصناف	يتراوح من ٩٣ إلى ١٣٣ يوم على حسب الصنف
الكمثرى	البوسك	من ١٣٠ إلي ١٣٥ يوم
	البارتليت	من ١١٠ إلي ١١٥ يوم
التفاح	ماكنتوش	من ١٢٥ إلي ١٣٠ يوم
	جوناثان	من ١٢٥ إلي ١٣٠ يوم
	دليشيص	من ١٣٥ إلي ١٤٠ يوم
	جولدن دليشيص	من ١٤٠ إلي ١٤٥ يوم
	نورثرن سباى	من ١٤٥ إلي ١٥٠ يوم
	روم بيوتى	من ١٦٠ إلي ١٦٥ يوم
	واين ساب	من ١٦٠ إلي ١٧٠يوم

10-لون البذور وسهولة فصلها عن لب الثمار

تبدأ البذور في النمو وتكون ذات لون أبيض وتستمر في النمو بتقدم الثمار في العمر ومع بداية مرحلة النضج يبدأ لون البذور في التغير إلى اللون البني أو القشي. ومن هذا المنطلق يمكن الاعتماد علي لون البذور كدليل على نضج الثمار. هذا باستثناء بذور بعض الأنواع مثل الموالح التي تحتفظ باللون الأبيض عند النضج، والبعض الأخر يأخذ اللون البني الغامق أو الأسود مثل بذور الأفوكادو و الباباظ.

كما إن سهولة فصل البذور عن اللب يمكن استخدامها أيضاً كدليل على الوصول إلى مرحلة النضج في بعض الثمار حيث أنة في مرحلة النضج يقل التصاق

البذور باللب وهذا يؤدي إلى سهولة فصلها عن لب الثمرة. وتعتبر هذه الصفة جزئية حيث إنها لا يمكن الاعتماد عليها في كل الثمار، ولكن يعتمد عليها في بعض الثمار مثل المشمش.

ولكننا نجد أن بعض الثمار مثل ثمار البرقوق والمانجو تصل إلى مرحلة النضج التام والبذور مازالت ملتصقة بشدة باللب وصعبة الفصل، كما إن بعض الثمار مثل ثمار الموالح يسهل فصل البذور عن اللب حتى ولو لم تصل الثمار إلى مرحلة النضج. أي أن سهولة فصل البذور عن اللب لا يمكن الاعتماد عليها كمقياس لكل أنواع الثمار بل هو مقياس محدد لبعض الأنواع مثل ثمار المشمش وبعض أصناف الخوخ.

11- نسبة العصير إلى باقي مكونات الثمرة

يستخدم هذا المقياس في حالة الثمار العصيريه مثل ثمار الموالح و الطماطم حيث انه بتقدم الثمار في النمو تزداد نسبة العصير في الثمار وعند وصول هذه النسبة إلى حد معين نقول إننا وصلنا إلى مرحلة النضج.

وهذه الصفة أيضا تتأثر ببعض العوامل الزراعية من ري وتسميد وتقليم ... وكذلك بالعوامل المناخية مثل درجة الحرارة والرطوبة. كما إننا في بعض الحالات نلجأ إلى قطف الثمار قبل الوصول إلى تمام النضج مثل ثمار الليمون البلدي المالح والليمون الأضاليا وتؤدى نفس الغرض المطلوب منها وهي مازالت خضراء بالتالي لا يمكن الاعتماد علي هذا الدليل بمفرده بل يجب تدعيمه بأدلة أخري.

12- سرعة التنفس Respiration rat

بداية من العقد إلى نضج الثمار وبداية طور التدهور أو التحلل نجد أن سرعة التنفس لا يمكن أن تكون ثابتة أو بنفس المعدل. وسرعة التنفس هي مؤشر أو دليل على العمليات الفسيولوجية التي تتم في الثمرة. إذ إن هذه العمليات تحاج إلي طاقة لإتمامها واحتياج كل منها للطاقة يكون بمعدلات مختلفة، ومصدر هذه الطاقة هو التنفس وهو عملية هدم للسكريات وإنتاج طاقة وثاني أكسيد كربون وفقا للمعادلة العامة للتنفس.

جلوكوز + أكسجين ⟵ ثاني لأكسيد كربون + بخار ماء + *طاقة*

والطاقة الناتجة من المعادلة السابقة نوعان طاقة حرة وطاقة مخزنة.

وقبل البدء في استخدام التنفس كمؤشر للنضج في الثمار يجدر بنا أن نعرف أولا ما هو تنفس الثمار. سرعة تنفس الثمار تقدر باستخدام معدل التنفس أو ما يعرف بالنسبة التنفسية Respiration rat (RR) والذي يُعرف بصفة عامة علي أنة معدل استهلاك الأكسجين أو إنتاج ثاني أكسيد الكربون في وحدة زمنية لكل وحدة وزن من الثمار. وبصورة أوضح نورد التعريف التالي كما ذكره Varoquaux (1994, 2002) بمحطة بحوث الـ Postharvest بمدينة Avignion بمعهد البحوث الزراعية بفرنسا INRA. حيث عرفهُ علي أنه معدل إنتاج ثاني أكسيد الكربون أو استهلاك الأكسجين مقدرا بالملي مول لكل كجم من الثمار في زمن قدرة ساعة واحدة على درجة حرارة ثابتة. ونلاحظ هنا استخدامهُ للتركيز لكل من الأكسجين وثاني أكسيد الكربون بدلاً من الحجم الذي أعتمد علية الكثير من الباحثين وهذا مبررة تفادي تأثير حرارة الوسط وكذلك الضغط الجوى على حجم الغاز وفقا لقانون الغازات في حين أن التركيز لا يتأثر بهذه العوامل.

من المعروف أن المرحلة الأولي في نمو الثمار والتي تلي الإخصاب وبداية العقد وهي مرحلة انقسام الخلايا وزيادتها في العدد تحتاج إلى مقدار عالي من الطاقة بالتالي فأنها تكون مصحوبة بسرعة عالية في التنفس. يليها مرحلة زيادة الخلايا في الحجم ومعظم هذه الزيادة ماء بالتالي تكون مصحوبة بتنفس أقل من المرحلة السابقة. ثم بعد ذلك مرحلة النضج وهذه المرحلة هي مرحلة تركيز للمواد الغذائية داخل الثمار ونقل لتلك المواد من الأوراق والأفرع إلى الثمار بالتالي تمتاز بزيادة نسبية في التنفس. هذه الزيادة تختلف من نوع نباتي إلي أخر. وبناءا على وجود قفزة عالية وملحوظة في التنفس في هذه المرحلة تقسم الثمار إلى ثمار كليمكتيرية climacteric fruits وهي التي تظهر قفزة أو قمة تنفسية عالية وملحوظة جداً في وقت النضج مثل ثمار التفاح والكمثرى والخوخ و البرقوق و المشمش والمانجو والتين و الكيوي و الباباظ

والكاكى والموز والزبدية والطماطم والبطيخ والفراولة وقد ربط بعض الباحثين ما بين حدوث الكليمكتيرك ومعدل الفسفرة في أنسجة الثمرة. وثمار أخري يطلق عليها غير كليمكتيرية non-climacteric fruits وفي هذه الثمار تكون الزيادة بسيطة في سرعة التنفس وقد تكون غير ملحوظة مثل ثمار العنب والكريز والموالح والأناناس والخيار والبلح.

وبدراسة معدل تنفس الحاصلات البستانية فأنه يمكن تصنيف هذه الحاصلات علي حسب معدل تنفسها وفقا لما ذكره كل من Varoquaux *et al.*, (2002) & Kader *et al.*, (1985) إلى حاصلات ذات معدل تنفس عالي جدا مثل الأسبرجس و البروكلي والذرة السكرية وعيش الغراب وحاصلات ذات معدل تنفس عالي مثل الخرشوف والبصل الأخضر والسبانخ وحاصلات ذات معدل تنفس متوسط مثل القرنبيط و الخس والباذنجان وحاصلات ذات معدل تنفس منخفض مثل الجزر وبنجر المائدة والفجل والكرنب ورؤوس الخس والخيار و الكانتلوب والفلفل والطماطم وثمار ذات معدل تنفس منخفض جداً مثل البطاطس والبصل الناضج والثوم والبطيخ وبعض أنواع الشمام. ومعدل التنفس في الثمار بعد القطف يعطي مؤشر أو دليل على العمر التخزيني لهذه الثمار "أي أنه كلما ذاد معدل التنفس بالتالي ذادت سرعة تدهور الثمار وقل عمرها التخزيني أو التسويقي".

ويصاحب الزيادة في التنفس في مرحلة النضج زيادة في معدل إنتاج غاز الأيثلين بالتالي فأن قياسه أيضا يعطى مؤشر جيد على وصول العديد من الثمار إلى مرحلة النضج.

وسرعة تنفس الثمار ليست ثابتة لكل الأنواع ولا حتى للأصناف المختلفة التابعة لنفس النوع كما ذكرنا ً سابقاً. وهناك العديد من العوامل من شأنها أن تؤثر علي معدل تنفس الثمار سواء بالسلب أو بالإيجاب، ومن أهم العوامل المؤثرة علي تنفس الثمار نذكر:

- **النوع والصنف النباتي:** حيث تختلف سرعة التنفس من نوع لأخر ومن صنف لأخر داخل نفس النوع وبالتالي قام العديد من العلماء بتقسيم الثمار إلي ثمار بطيئة التنفس وأخرى متوسطة في سرعة التنفس وثمار سريعة في معدل التنفس.
- **درجة نضج المحصول:** كما ذكرنا فأن معدل التنفس للثمار ليس ثابت ولكن يتغير بتقدم العمر الفسيولوجي للثمرة. بالتالي بعض الحاصلات التي يمكن تسويقها ناضجة وكذلك خضراء غير مكتملة النضج مثل البصل والفاصوليا والبسلة فعند ذكر معدل التنفس لابد من ذكر مرحلة النضج.
- **درجة حرارة الوسط:** التنفس مثل أي نشاط حيوي أو تفاعل أنزيمي يتأثر بشدة بدرجة الحرارة فكلما ذادت درجة حرارة الوسط كلما ذاد معدل تنفس الثمار (حتى حد معين) بالتالي عند ذكر معدل تنفس الثمار يجب أن نذكر درجة الحرارة التي تم عندها القياس.

ولدراسة أثر الحرارة على التنفس يجدر بنا أن نتعرف أولا علي الـ Q10 والتي هي عبارة عن الزيادة التي تحدث في سرعة التنفس نتيجة زيادة درجة الحرارة بمقدار 10 درجات مئوية وهذه الزيادة بالنسبة لثمار الخضار والفاكهة تتراوح من ٢ إلى ٣ أضعاف (Varoquaux 1994 & 2002). وبالتالي نجد أن تخزين الثمار بعد القطف يتم غالبا في درجات حرارة منخفضة بهدف الحد من سرعة التنفس وتأخير تدهورها وتلفها.

والجدول التالي يوضح أثر درجة الحرارة علي تنفس بعض الثمار.

المحصول	الصنف	درجة الحرارة	معدل التنفس $m.mol.Kg^{-1}.h^{-1}$
المشمش	Orange de provence	٨	٠,٨٥
		٢٠	١,٦١
الكرنب البروكلي	Green valiant	١٠	٣,٧٠
		٢٠	٩,٥٠

عيش الغراب	X 25	١٠	١,٢٠
		٢٠	٣,٢٠
الكرنب	Decema	١٠	٠,١٧
		٢٠	٠,٤٤
الشيكوريا	Diamant	١٠	٠,٤٠
		٢٠	١,٠٠
الفاصوليا الخضراء	Blue lake	١٠	١,٢٠
		٢٠	٢,٧٠
الخس	Judy	١٠	٠,٧٠
المانجو	Tommy Atkins	١٠	٠,٦٨
		٢٠	٢,٧٠
الفلفل الأخضر	Anaheim	١٠	٠,٢١
التفاح	Granny Smith	١٠	٠,١٦
		٢٠	٠,٣٣
الطماطم	Ace tournante	١٢,٥	٠,٣٦
		٢٠	٠,٨٠
	Ace rouge	١٢,٥	٠,٤٥
		٢٠	١,١٠

- **تركيز ثاني أكسيد الكربون والأكسجين في الوسط المحيط بالثمار:**
من المعروف أن تركيب الهواء الجوى ثابت ولكن في حالة تخزين الثمار فأن هذا التركيب سوف يتغير داخل المخزن. هذا وفي بعض طرق التخزين مثل التخزين في وسط معدل Modified atmosphere conditions أو التخزين في وسط هوائي متحكم في تركيبة Control atmosphere conditions نلجأ عامدين إلى رفع تركيز ثاني أكسيد الكربون وخفض تركيز الأكسيجين بهدف زيادة مدة الحفظ والتخزين. وبصفة عامة فأن زيادة تركيز ثاني أكسيد الكربون وقلة تركيز الأكسجين في الوسط المحيط بالثمرة يقلل من معدل تنفسها بالتالي يقل معدل الهدم في هذه الثمار وبعبارة أخري يزيد معدل حفظ الثمار أو

مدة التخزين. ولكن زيادة ثاني أكسيد الكربون عن اللازم أو نقص الأكسجين عن الحد اللازم يحدث أضرار وأثار سلبية علي الثمار أثناء التخزين.

- **شدة الإضاءة:** أثر الضوء علي التنفس يكون بطريقة غير مباشرة، وذلك عن طريق زيادة معدل البناء الضوئي أي تكوين السكريات وزيادة تركيزها، بالتالي يزداد تركيز المادة التي يقوم عليها التنفس (Substrate) ومن ناحية أخري فأن العمليات الحيوية التي ينشطها الضوء تحتاج إلى طاقة لأتمامها. وتزداد أهمية الضوء وأثرة علي التنفس في الثمار الخضراء أو غير مكتملة النضج عن الثمار الناضجة.
- **الأضرار الميكانيكية للثمار:** من المعروف أن حدوث الخدوش أو الكدمات على الثمار يزيد من معدل تنفسها بالتالي يقلل من العمر التخزيني للثمرة.
- **طبيعة الثمار وتركيبها الكيميائي :** بصفة عامة كلما ذادت نسبة الكربوهيدرات (وخاصة السكريات) في الثمار كان من المتوقع أن تكون سرعة التنفس أعلي. كما إن الثمار الغضة المحتوية علي نسبة عالية من الماء غالبا ما يكون معدل تنفسها أعلي من الثمار الجافة أو المنخفضة في محتواها من الرطوبة. وطبيعة الثمار ونوع الطبقة التي تغطي جلد الثمرة لهلا أثر واضح علي معدل التنفس. ففي حالة الثمار سميكة الجلد المحتوية علي عدد من الثغور أقل فأن التبادل الغازي مع الوسط يكون أقل بالتالي يقل معدل التنفس.

تقدير سرعة التنفس

وتقدر سرعة تنفس الثمار بقياس معدل إنتاج ثاني أكسيد الكربون أو معدل استهلاك الأكسيجين خلال مدة زمنية معينة وفي درجة حرارة ثابتة وذلك باستخدام الكروماتوجراف الغازي (الجهاز وتركيبة وطريقة عملة موضح في الباب الخاص بالأجهزة المعملية). كما يمكن تقدير معدل إنتاج الأيثلين أيضا بنفس الجهاز كدليل للحكم علي نضج الثمار. ويتم قياس معدل التنفس بوضع الثمار (وزن معين) داخل عبوة زجاجية محكمة الغلق (ذات حجم معين) وتوضع العبوة تحت درجة حرارة معينة وثابتة ولتكن ٢٠ درجة مئوية. تترك العبوة لمده زمنية محددة وكل ساعة يتم سحب عينة من الفراغ الغازي حول الثمار وتحليلها لتقدير نسبة الأكسجين وثاني أكسيد الكربون. ويتم تحليل العينة باستخدام جهاز الكروماتوجراف الغازي. ومن النتائج المتحصل عليها نحسب معدل استهلاك الأكسجين ومعدل إنتاج ثاني أكسيد الكربون لكل كيلوجرام ثمار لكل ساعة علي درجة حرارة ٢٠ درجة مئوي.

13- انفصال الأغلفة الخارجية للبذرة

يؤخذ هذا المقياس كدليل للنضج في بعض الفواكه مثل مجموعة النقليات حيث أنه في مرحلة نضج الثمار تجف وتتشقق الأغلفة الخشبية الخارجية المحيطة بالثمار وتتفتح (ويكتفي أحاينا بتشققها). ويؤخذ هذا كدليل علي وصول هذه الثمار إلى مرحلة النضج وعندها يوصي بجمع الثمار لتجنب تساقطها علي الأرض.

14- بعض الاختبارات الحسية التي تدل علي نضج الثمار

هذا المقياس يعتمد على حاستي الشم والتذوق، حيث انه عند اكتمال نمو الثمار وفى مرحلة النضج تظهر للثمار رائحة مميزة نتيجة تخليق وظهور مركبات كيميائية أروماتية معينة بتركيزات محددة. هذه المواد تكسب الثمار طعما معينا وهو الطعم المميز لها كنتيجة لتحلل مركبات معينة إلى مركبات أخري بسيطة أو ظهور مركبات ذات طعم ونكهة مميزه للثمار أو انخفاض تركيز بعض المواد بصور ملحوظة. على سبيل المثال تحلل النشا واختفاءه في ثمار الموز أو تحلل التانينات أو اختفاءها في ثمار البلح والكاكى والرمان، وكذلك ظهور رائحة معينة مميزة للثمار مثل الرائحة المميزة لثمار الجوافة الناضجة وكذلك النكهة المميزة للعنب المسكات (مسكات إسكندرية ومسكات همبورج). وفى هذا المقياس نقوم بتقدير الطعم والرائحة عن طريق الشم والتذوق بواسطة مجموعة من الأفراد المدربين والمحايدين.

ولكن هذا الدليل محدود ويصعب الاعتماد عليه للأسباب التالية:

- يحتاج إلى خبرة شخصية كبيرة.
- اختلاف قوة حاسة التذوق والشم من شخص لأخر.
- بعد تقدير عدد من الثمار تقل قوة التحكم في الحاسة.
- يختلف الطعم من صنف لأخر داخل نفس النوع.

والمقاييس السابقة للنضج تعرف أو تسمي بالمقاييس الطبيعية أو المقاييس الفيزيائية للنضج وكما سبق أن أشرنا أنة لا يفضل الاعتماد على مقياس واحد لتحديد النضج وموعد جمع الثمار بل يفضل استخدام اكثر من مقياس للتأكد من الوصول إلى مستوي النضج المطلوب.

المقاييس الكيميائية المستخدمة لتحديد النضج

وأهم التحليلات التي تجري علي الثمار

وهذه المقاييس تعتمد على التحليل الكيميائي وتقدير بعض المركبات الضرورية في الثمار والتي تنقص أو تزداد خلال مراحل نمو الثمار حتى نصل إلى مستوى معين وعندها يقال أن الثمار وصلت إلي مرحلة النضج أو إلى المرحلة التي يجب عندها قطف تلك الثمار. وسوف نوضح الطرق المعملية المتبعة في تقدير هذه المواد.

ومن أهم المقاييس الكيميائية:

- النسبة المئوية للمواد الصلبة الذائبة في عصير الثمار
- نسبة الحموضة في عصير الثمار
- نسبة السكريات المختزلة في عصير الثمار
- نسبة السكريات الكلية في عصير الثمار
- نسبة الكربوهيدرات الكلية في الثمار
- نسبة النشا في بعض الثمار
- نسبة الألياف في الثمار
- نسبة التانينات في الثمار
- نسبة فيتامين ج (C) وفيتامين ب (B) في عصير الثمار
- نسبة البكتين في الثمار
- نسبة السليولوز في بعض الثمار
- تركيز بعض الصبغات النباتية في الثمار (مثل الكلوروفيل والكاروتين و الأنثوثيانين والليكوبين)

وفيما يلي سوف نوضح الأساس العلمي والطرق الأكثر شيوعا والأسهل تطبيقا لقياس المركبات الكيميائية الهامة في ثمار الفاكهة والخضر:

نسبة المواد الصلبة الذائبة في العصير
Total Soluble Solids Ratio

بتقدم الثمار في النمو يزداد تركيز المواد الصلبة الذائبة في العصير. وفي معظم ثمار الفاكهة يمثل السكر نسبة كبيرة جدا من المواد الصلبة الذائبة تصل في بعض الأحيان إلى 98 بالمائة. بالتالي تعتبر نسبة المواد الصلبة الذائبة كمؤشر جيد على نسبة السكر بالثمار. ونسبة المواد الصلبة الذائبة في الثمار لاتهم علماء البساتين فحسب ولكنها أيضاً عامل هام ورئيسي في مجال الصناعات الغذائية القائمة علي هذه الثمار مثل صناعة المربات من ثمار الفاكهة ومركزات الطماطم (الصلصة والكاتشب) من ثمار الطماطم.

الرفراكتوميتر اليدوي

ولتقدير نسبة المواد الصلبة الذائبة نستخدم جهاز الرفراكتوميتر سواء اليدوي ويسمى أيضا رافراكتوميتر أبي Abe or Hand Refractometer أو الرفراكتوميتر المعملي في التقدير. وفكرة عمل هذا الجهاز معتمدة على معامل الانكسار حيث يؤخذ معامل انكسار الماء المقطر على أنة صفر التدريج وبوجود مواد ذائبة في المحلول المقدر يختلف معامل انكسار الشعاع الضوئي الساقط علي المنشور الزجاجي. وجهاز الرفراكتوميتر يتم تصميمه على درجة حرارة 20 درجة مؤوية بالتالي في حلة زيادة درجة الحرارة أو انخفاضها عن هذا الحد يتم تصحيح القراءة باستخدام الجدول التالي

درجة الحرارة	قراءة الرافراكتوميتر									
	في حالة نقص درجة الحرارة عن ٢٠ يتم طرح القمة التالية من القراءة									
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
15	٠,٢٩	٠,٣١	٠,٣٣	٠,٣٤	٠,٣٤	٠,٣٥	٠,٣٦	٠,٣٧	٠,٣٧	٠,٣٨
16	٠,٢٤	٠,٢٥	٠,٢٦	٠,٢٨	٠,٢٨	٠,٢٨	٠,٢٩	٠,٣٠	٠,٣٠	٠,٣٠
17	٠,١٨	٠,١٩	٠,٢٠	٠,٢١	٠,٢١	٠,٢١	٠,٢٧	٠,٢٢	٠,٢٣	٠,٢٣
18	٠,١٣	٠,١٣	٠,١٤	٠,١٤	٠,١٤	٠,١٤	٠,١٥	٠,١٥	٠,١٥	٠,١٥
19	٠,٠٦	٠,٠٦	٠,٠٧	٠,٠٧	٠,٠٧	٠,٠٧	٠,٠٨	٠,٠٨	٠,٠٨	٠,٠٨
في حالة زيادة درجة الحرارة عن ٢٠ يتم إضافة القمة التالية للقراءة										
21	٠,٠٧	٠,٠٧	٠,٠٧	٠,٠٧	٠,٠٨	٠,٠٨	٠,٠٨	٠,٠٨	٠,٠٨	٠,٠٨
22	٠,١٣	٠,١٤	٠,١٤	٠,١٤	٠,١٥	٠,١٥	٠,١٥	٠,١٥	٠,١٦	٠,١٦
23	٠,٢٠	٠,٢١	0,22	٠,٢٢	٠,٣٠	٠,٢٣	٠,٢٣	٠,٢٣	٠,٢٤	٠,٢٤
24	٠,٢٧	٠,٢٨	٠,٢٩	٠,٣٠	٠,٣٨	٠,٣١	٠,٣١	٠,٣١	٠,٣١	٠,٣١
25	٠,٣٥	٠,٣٦	٠,٣٧	٠,٣٨	٠,٤٦	٠,٣٩	٠,٤٠	٠,٤٠	٠,٤٠	٠,٤٠
26	٠,٤٢	٠,٤٢	٠,٤٤	٠,٤٥	٠,٥٥	٠,٤٧	٠,٤٨	٠,٤٨	٠,٤٨	٠,٤٨
27	٠,٥٠	٠,٥٢	٠,٥٣	٠,٥٤	٠,٦٣	٠,٥٥	٠,٥٦	٠,٥٦	٠,٥٦	٠,٥٦
28	٠,٥٧	٠,٦٠	٠,٦١	٠,٦٢	٠,٦٣	٠,٦٣	٠,٦٤	٠,٦٤	٠,٦٤	٠,٦٤
29	٠,٦٦	٠,٦٨	٠,٦٩	٠,٧١	٠,٧٢	٠,٧٢	٠,٧٣	٠,٧٣	٠,٧٣	٠,٧٣
30	٠,٧٤	٠,٧٧	٠,٧٨	٠,٧٩	٠,٨٠	٠,٨٠	٠,٨١	٠,٨١	٠,٨١	٠,٨١

وغالباً يدرج الرفراكتوميتر تدرجان إحداهم يدل على النسبة المؤوية للمواد الصلبة الذائبة في المحلول والثاني يعبر عن معامل الانكسار.

وأيضا يمكن استخدام الهيدروميتر لقياس تركيز المواد الصلبة الذائبة في المحلول وذلك عن طريق تقدير كثافة المحلول (من المعروف أن كثافة الماء النقي تساوي الواحد الصحيح وعند ذوبان ملح أو سكر في الماء فأن الكثافة تزيد كلما ذادت نسبة الملح أو السكر في المحلول بالتالي تبني فكرة التقدير علي ذلك) ويصب العصير في مخبار ويملئ بالعصير ويتم وضع الهيدروميتر في المخبار مع لفة بسرعة وتركة حتى يستقر وتأخذ القراءة من علي ساق الهيدروميتر وتسجل درجة حرارة المعمل وتصحح في ضوءها القراءة.

وقياس نسبة المواد الصلبة الذائبة لا يمكن الاعتماد علية بصورة مطلقة (أي بمفردة) إذ انه يحتاج إلى إحدى الأدلة الأخرى لتدعيمه وغالبا ما يؤخذ نسبة المواد الصلبة الذائبة إلى نسبة الحموضة كمقياس للنضج.

حموضة الثمار Fruit acidity : (نسبة الحموضة ورقم الـ PH)

يمكن التعبير عن حموضة الثمار بطريقتين: إما باستخدام رقم الـ pH وهو عبارة عن اللوغاريتم السالب لتركيز أيونات الهيدروجين في عصير الثمار أو بتقدير نسبة الحموضة في عصير الثمار (وهو ما يسمى بالحموضة المعايرة حيث تتم المعايرة حتى نصل إلي نقطة التعادل) وليس من الدقة أن يطلق عليها الحموضة الكلية حيث انه عمليا في أثناء المعايرة لا نستطيع تقدير اكثر من 85% من جملة الأحماض العضوية الموجودة في العصير ولكن يطلق عليها الحموضة الكلية مجازا في كثير من المراجع.

والأحماض العضوية الموجودة في الثمار هي أحماض ضعيفة، ولكن مدي ثبات وقوة هذه الأحماض متباينة ومختلفة من حامض لأخر. وللتعبير عن قوة الحامض يراعى معرفة رقم الـ pK للحمض ومدى تأثيره على رقم الـ pH. وسوف نتعرض لهذا الرقم بالإيضاح في موضع أخر.

تقدير رقم الحموضة Measurment of pH

لابد أن نتعرف في البداية علي بعض المعلومات الخاصة بالـ pH قبل معرفة كيفية قياسه ومن الأساسيات التي يجب معرفتها هي الحاصل الأيونى للتفاعل.

أولاً الحاصل الأيونى للماء the Ion Production of Water: الماء النقي غير موصل للتيار الكهربائي من الناحية النظرية. ولكن عمليا وجد أن بمرور تيار كهربي في الماء النقي فأن أن نسبة بسيطة منة تتأين وتعطي أيونات هيدروجين موجبة وأيونات هيدروكسيل سالبة وفقا للمعادلة التالية:

$$[HOH] \longrightarrow [H^+] + [OH^-]$$

حيث يعطى كل 10^7 أي (10.000000) من الماء 1 مول فقط من أيونات الهيدروجين الموجبة و الهيدروكسيل السالبة. بالتالي Kw أو الحاصل الأيونى للماء يكون كالتالي:

$$Kw = \frac{[H^+][OH^-]}{[HOH]}$$

إذاً

$$[H^+] = [OH^-] = 1x10^{-7} \text{ mole/litre in HOH}$$

وعلى ذلك يكون الجزء المتأين من الماء ضئيل جدا بالمقارنة بالجزء الغير متأين إي إن تركيز الماء في المحلول كبير جدا بالنسبة لتركيز أيونات كل من الهيدروجين و الهيدروكسيل. بالتالي يمكن اعتبار تركيز الماء الغير متأين ثابت وقدره ما يقرب من الواحد الصحيح عند درجة حرارة قدرها ٢٢ درجة مئوية

وبالتالي يمكن صياغة المعادلة كالتالي:

$$Kw = [H^+] \times [OH^-] = 10^{-7} \times 10^{-7} = 10^{-14}$$

وبالتالي فأن تدريج مقياس الـ pH يبدأ بالصفر وينتهي عند رقم ١٤. أما في حالة الوسط المتعادل فأن تركيز أيونات الهيدروجين الموجبة يساوى تركيز أيونات الهيدروكسيل السالبة يساوى أيضا 10^{-7} وفى حالة إضافة حامض للماء المتعادل أو للوسط المتعادل يزداد تركيز أيونات الهيدروجين الموجبة في الوسط ويكون أعلى من الهيدروكسيل السالبة أي أعلى من 10^{-7}، والعكس في حالة الوسط القلوي حيث يزداد تركيز أيونات الهيدروكسيل السالبة.

وحيث أن تركيز أيون الهيدروجين و الهيدروكسيل ضئيل جدا بالتالي أصبح من الصعب التعبير عنة بالجرامات المكافئة في اللتر. وقد أقترح العالم Sorensen 1909 طريقة سهله وعملية للتعبير عن تركيز أيون الهيدروجين في المحلول وهى استخدام أس تركيز أيون الهيدروجين وهى فكرة قياس الـ pH وأستخدم اللوغاريتم السالب لتركيز أيونات الهيدروجين، حيث يعرف الـ pH علي أنة اللوغاريتم السالب لتركيز أيونات الهيدروجين في الوسط

$$pH = - Log [H^+] = Log 1 / [H^+] = 10^{-OH}$$

أي أنه كلما كانت قراءة الجهاز قليلة كلما دل ذلك علي زيادة حموضة المحلول. ولتقدير الـ pH يستخدم جهاز الـ pH meter ويراعى معايرة الجهاز قبل استخدامه (تركيب الجهاز وفكرة عملة موضحة في الباب الخاص بالأجهزة العلمية).

ورقم الـ pH ذات أهمية كبيرة في التدليل علي حموضة المحلول ولتوضيح ذلك نسوق المثال التالي:

نذكر أن حجم معين محلول الصودا الكاوية NaOH تركيزة ٠.١ عياري يعادل أو يعاير نفس الحجم من حامض HCl عياريتة ٠.١ عياري وكذلك يعادل نفس الحجم من حامض الخليك تركيزة ٠.١ عياري. في حين أننا من ناحية أخري نجد أن قوة

حامض الهيدروكلوريك ٠.١ عياري تساوي ٧١ مرة تقريبا قوة محلول حامض الخليك ٠.١ عياري. ويرجع السبب في هذا إلى أن كل ذرات الهيدروجين الموجودة في حامض الهيدروكلوريك (٠.١ عياري) توجد في صورة متأينة أو منفصلة (H^+) بينما في حالة حامض الخليك فأن ذرات الهيدروجين المنفصلة أو المتأينه لا تزيد عن ١.٣ ٪ فقط، وهذا يوضح الفارق بين المحلولين.

وفي حالة الاعتماد علي قياس رقم الـ pH نجد أن محلول حامض الهيدروكلوريك الذي تركيزة ٠.٠١ عياري يعطي رقم pH قدرة ٢ بينما محلول من حامض الخليك له نفس التركيز يعطي رقم pH يساوي ٣.٣٥ وهذا يوضح لنا أهمية قياس الـ pH.

الأحماض العضوية المنتشرة في ثمار الفاكهة:

ينتشر في ثمار الفاكهة العديد من الأحماض العضوية وتكون معظمها بتركيزات منخفضة أو في صورة أثار فيما عدا ٢ إلى ٣ أحماض منتشرة وشائعة الوجود وهي الماليك والطرطريك والستريك. والصيغة العامة للأحماض العضوية هي-R COOH. وتتباين هذه الأحماض في تأثيرها علي رقم الـ pH حيث أنها ليست بنفس القوة (ذات أرقام pK مختلفة). كما أن درجة ثباتها تختلف من حامض إلى أخر وأهم الأحماض التي توجد في ثمار الفاكهة والخضر تتلخص في التالي:

حامض الفورميك Formic acid:

يوجد على هيئة أثار في بعض الثمار مثل ثمار العنب والكريز وتكافؤه أحادي إذ يحتوي علي مجموعة كربوكسيل واحدة.

حامض الخليك Acetic acid:

يوجد على هيئة أثار في بعض الثمار مثل البلح أو العنب.وهو من الأحماض الطيارة وله رائحة مميزة جدا. وهو حامض أحادى الكربوكسيل بالتالي تكافؤه أحادى ووزنة الجزئي يساوى وزنه المكافئ يساوى ٦٠.٠٥ و رمزه الجزيئي هو:

$\{ CH3 - COOH \}$ ورقم الـ Pk له = 4,37

وانتشار هذا الحامض وزيادة نسبته في الثمار يدل على أن الثمار وصلت إلى مرحلة متقدمة جدا في النضج وبدأت في التحلل و التخمر. وتقديره يدل علي نسبة الحموضة الطيارة في الثمار. ومعظم إنتاجه راجع إلى أكسدة هوائية للكحول في الثمار كما بالمعادلة.

$$CH_3 - CH_2OH + O_2 \longrightarrow CH_3 - COOH + H_2O$$

وهو من الأحماض الضعيفة فهو أقل قوة من الماليك والطرطريك والستريك.

حامض الشكميك Shikimic acid:

شائع الوجود في ثمار التفاح والكمثرى والسفرجل والجوسبرى والموز ولكن نسبته أو تركيزه يكون منخفض في هذه الثمار مقارنة بالأحماض العضوية الأخرى.

حامض الستريك Citric acid:

وهو حامض واسع الانتشار ومعروف جداً في ثمار الخضر والفاكهة وهو مركب وسطى في دورة كربس وهذا الحامض كثير الوجود في ثمار الفاكهة مثل الموالح والجوافة والتين والمانجو والموز. وهو حامض ثلاثي التكافؤ حيث يحتوى على ثلاثة مجموعات كربوكسيل، ووزنه المكافئ ٦٤.٣ ووزنة الجزيئي ١٩٢.١٢. وهو من الأحماض التي تمتاز بدرجة ثبات عالية وفى مرحلة النضج نجد أن معدل تناقصه يزداد ويكون معدل تناقصه أقل من الأحماض الأخرى مثل حمض الماليك نظرا لأن استهلاكه في عمليات التنفس يكون اقل بكثير من الماليك. ولتحضير محلول تركيزه 1 ملي مكافئي منه نحتاج إلى ٦٤.٣ ملى جرام من الحامض النقي لكل لتر ماء والرمز الجزيئي لهذا الحامض هو:

$$\{ HOOC - CH_2 - COH - COOH - CH_2 - COOH \}$$
$$Pk_1 = 3.09 \qquad Pk_2 = 4.39 \qquad Pk_3 = 5.74$$

حامض الماليك Malic acid :

وهذا الحامض يخلق في النبات بكثرة ويزداد معدل تخليقه في الأعضاء النباتية الكلوروفيليه وخاصة في الأوراق البالغة والمسنة. هو ناتج ثانوي لدورة كربس Tri-carboxylic acids cycle أي إنه يصنع خلال تنفس الثمار. وهو الحامض الأكثر وجودا وانتشار في ثمار الفاكهة ووزنه الجزيئي ١٣٤.٠٩ وتكافؤه ثنائي حيث يحتوي علي مجموعتين كربوكسيل ووزنه المكافئ67. وهو كثير الوجود في ثمار التفاحيات و الحسليات والموز والعنب. وهو حامض اقل قوة واقل ثبات من حامض الطرطريك والستريك. ولتحضير محلول تركيزه ١ ملى مكافئي منه نحتاج إلى 67 ملى جرام تذاب في لتر من الماء المقطر. والرمز الجزئي لهذا الحامض كالتالي

$$\{ HOOC - CHOH - CH2 - COOH \}$$
$$Pk_1 = 3.40 \qquad Pk_2 = 5.11$$

حامض الطرطريك Tartaric acid :

وهذا الحامض أكثر ثبات واكثر قوة من المليك والستريك. ووزنة الجزئي 150 وتكافؤه ثنائي لوجود مجموعتين كربكوسيل بالتالي وزنه المكافئ 75 ولتحضير تركيز قدرة 1 ملى مكافئي منة نحتاج إلى 75 ملى جرام لكل لتر ماء. وهو الحامض الأساسي في ثمار العنب ويوجد بكثرة في ثمار الأفوكادو والراسبرى. ورمزه الجزئي كالتالي

$$\{ HOOC - CHOH - CHOH - COOH \}$$
$$Pk_1 = ٣.٠٤ \qquad Pk_2 = 4,34$$

تأثير هذا الحامض على رقم الـ pH يكون أقوى من الأحماض الأخرى لانخفاض رقمي الـ pK عن الأحماض السابقة، وهو أكثر ثبات من الماليك والستريك ونادرا ما يستخدم كمصدر للطاقة. بالتالي هو أقوى من الأحماض الأخرى ولا يحدث له

احتراق لأنتاج طاقة ألا إذا وصلت درجة حرارة الثمار إلى 35 درجة مئوية (حمدي إبراهيم ٢٠٠١).

وخلال نمو الثمار وخاصة ثمار العنب (هو الحامض الرئيسي في الثمار) نجد أن معدل تخليقه يزداد بمعدل بطيء نسبيا عن الماليك حتى نصل إلى مرحلة اكتمال الحجم وبداية دخول اللون النهائي للثمار فيبدأ المحتوي في الانخفاض نتيجة التخفيف الراجع إلى زيادة نسبة الماء بالثمار وهذا التناقص يكون أقل من حامض الماليك حتى نصل إلى مرحلة اكتمال النضج أو القطف يكون تركيزه أعلي قليلاً من الماليك أو مساوي في أصناف النبيذ أو أقل قليلاً من الماليك في أصناف المائدة (علي حسب الصنف). وتركيز حامض الطرطريك في ثمار العنب يلعب دورا هام للغاية في جودة الخمور المصنعة من الثمار ومدي قابليها للتخزين أو التعتيق.

تقدير الحموضة القابلة للمعايرة في ثمار الفاكهة والخضر

الأساس العلمي في التقدير هو معادلة حامض ضعيف (الأحماض العضوية الموجودة في الثمار) بقاعدة قوية (الصودا الكاوية) حتى نصل إلى نقطة التعادل والتي يستدل عليها عن طريق الدليل اللوني المستخدم.

أهم الأدلة المستخدمة في المعايرة:

(١) أحماض ضعيفة تستخدم كأدلة:

البارانيتوفينول Paranitrophenol وهو حامض ضعيف جزيئاته الغير متأينة عديمة اللون أما أيوناته فهي ذات لون اصفر

الفينول فيثالين Phenol-phthalein

وهو حامض ضعيف جزيئاته عديمة اللون و يتأين أولا إلى صورة تركيبية عديمة اللون والتي تفقد أيون الأيدروجين الثاني بالتالي يتحول لون الأيونات إلى اللون الأحمر. وهذا الدليل شحيح الذوبان في الماء ولكن يذوب بسهولة في الكحول

(٢) قواعد ضعيفة تستخدم كأدلة:

برتقالي الميثيل Methel-Orange في الوسط الحمضي يكون لون الدليل أصفر يتحول إلى اللون الأحمر في الوسط القلوي أما عند نقطة التعادل يعطى اللون البرتقالي.

أحمر الميثيل Methel- Red وتركيبة يشبه تركيب برتقالي الميثيل ولكن مجموعة السلفوناي تستبدل بمجموعة الكربوكسيل.

الأدوات المطلوبة للتقدير:

ماصات مختلفة الحجم ١ و ٥ و١٠ ملى

دوارق معيارية ١٠٠ و ٢٥٠ ملى. ودوارق مخروطية ١٠٠ و ٢٥٠ ملى

وكؤوس زجاجية مختلفة السعة

أقماع ترشيح وحوامل ترشيح

ورق ترشيح سريع عالي الجودة Whatman .

المحاليل المطلوبة:

(١) حامض الاكساليك ٠.١ عياري : يحضر بذوبان ٦.٣ جرام من الحامض النقي في ١٠٠ ملى ثم يكمل الحجم باستخدام الماء المقطر إلى ١ لتر " ويستخدم في ضبط قوة الصودا الكاوية".

(٢) صودا كاوية ٠.١ عياري: وتحضر بذوبان ٤ جم من الصودا الكاوية في كمية من الماء ثم يكمل الحجم حتى ١ لتر باستخدام الماء المقطر.

(٣) دليل الفينوفيثالين تركيزه ٠.٠٥ ٪ ويتم تحضيره بذوبان ٠.٠٥ جم في ١٠٠ملى كحول تركيزه ٥٠ ٪.

طريقة التقدير:

- يتم عصر الثمار باستخدام الخلاط أو العصر اليدوي "في حالة الثمار اللبية مثل الموز أو الجوافة نحتاج آلي تخفيف بنسبة ١ : ١ ويراعى في الحساب هذا التخفيف" يتم أخذ ١٠ جم من عصير الثمار في دورق معياري ١٠٠ ملي ويكمل الحجم بالماء المقطر

حتى ١٠٠ملي. يؤخذ من هذا المحلول ١٠ جم وتوضع في دورق مخروطي ١٠٠ ملي، يضاف إليها بعض النقاط من الدليل اللوني.

- تملى السحاحة بالصودا الكاوية ٠.١ عياري. تتم المعايرة حتى نصل إلى نقطة التعادل والتي يتحول عندها لون المحلول إلى اللون الوردي الذي يستمر دون تغير لمدة ١٥ ثانية. وتؤخذ قراءة السحاحة وتدون (*ولتكن س*).
- يتم تقدير قوة الصودا الكاوية بالضبط كالتالي: بواسطة الماصة يؤخذ ١٠ ملي من حامض الأكساليك ٠.١ عياري وتوضع في دورق مخروطي ١٠٠ملى ويضاف ١ ملي من الدليل السابق. يتم المعايرة باستخدام الصودا الكاوية (٠.١ عياري تقريبا) حتى الوصول للون الوردي الذي يستمر ١٥ ثانية دون اختفاء. وتدون قراءة السحاحة ولتكن س".

ح Xع للأكساليك = ح" Xع" للصودا.

١٠ X ٠.١ = س" Xع" للصودا

قوة الصودا (ع") = ١/ قراءة السحاحة

طريقة الحساب:

يعبر عن الحموضة أما كنسبة مؤوية أو بالجرام لكل ١٠٠ جم وذلك في صورة الحامض السائد في الثمار (ماليك ، طرطريك، سيترك) كالتالي:

تقدير حموضة العصير كنسبة مؤوية

وحموضة الثمار يعبر عنها كنسبة مئوية من عصير الثمار الطازج ولكن في حالة الثمار وخاصة ثمار الفاكهة فأن الحموضة يعبر عنها كنسبة مئوية للحامض السائد في الثمار فمثلا في العنب نعبر عنها في صورة حامض طرطريك ولكن في التفاح والكمثري والموز في صورة حامض ماليك أما في الموالح فيعبر عنها في صورة حامض ستريك وتحسب كالتالي:

التحليلات التي تجري علي الثمار

(١) في حالة حساب الحموضة على صورة حامض ستريك:

١٠٠٠ ملي من الصودا الكاوية ١ عياري تكافئي ٦٤ جرام حامض ستريك

١ ملي من الصودا الكاوية ١ عياري تكافئي ٠,٠٦٤ جرام حامض ستريك

١,٠ ملي من الصودا الكاوية ٠,١ عياري تكافئي ٠,٠٠٦٤ جرام حامض ستريك

٪ للحموضة = عدد مليمترات الصودا الكاوية X (١٠٠٠٠/٦٤) X (١/١٠٠)

ولما كان من الصعب ضبط قوة الصودا بالضبط "بحيث تكون ٠,١ عياري" بالتالي

٪ للحموضة = حجم الصودا الكاوية X (١٠٠٠/٦٤) X (١/١٠٠) X عيارية الصودا

٪ للحموضة = حجم الصودا الكاوية X ٦,٤ X عيارية الصودا الكاوية.

٪ للحموضة = قراءة السحاحة X ٦,٤ X قوة الصودا

(٢) في حالة حساب الحموضة على صورة حامض طرطريك:

وزن حامض الطرطريك الجزئي هو ١٥٠ ووزنة المكافئ هو ٧٥ بالتالي تكون المعادلة كالتالي.

٪ للحموضة = قراءة السحاحة X ٧,٥ X قوة الصودا

(٣) في حالة حساب الحموضة على صورة حامض ماليك:

وزن حامض الطرطريك الجزئي هو ١٣٤ ووزنة المكافئ هو ٦٧ بالتالي تكون المعادلة كالتالي.

٪ للحموضة = قراءة السحاحة X ٦,٧ X قوة الصودا

وبقي أن نذكر أن في بعض البلدان مثل فرنسا تحسب حموضة ثمار العنب وعصائره وكذلك الخمور المصنعة منه في صورة حامض كبريتيك وليس طرطريك والتحويل بالنسبة للكبريتيك سهل وبسيط بأتباع نفس القواعد المذكورة كالتالي.

٪ للحموضة = قراءة السحاحة X ٤,٩ X قوة الصودا

ولسهولة التعبير عن الحموضة والتحويل من حامض لأخر يمكن أجراء ذلك عن طريق استخدام المعامل الموجود بالجدول التالي.

	طرطريك	ماليك	سيتريك	لاكتيك	كبريتيك	خليك
طرطريك	١,٠٠٠	٠,٨٩٣	٠,٨٥٣	١,٢٠٠	٠,٦٥٣	٠,٨٠٠
ماليك	١,١١٩	١,٠٠٠	٠,٩٥٥	١,٣٤٣	٠,٧٣١	٠,٨٩٦
سيتريك	١,١٧٢	١,٠٤٧	١,٠٠٠	١,٤٠٦	٠,٧٦٦	٠,٩٣٨
لاكتيك	٠,٨٣٣	٠,٧٤٤	٠,٧١١	١,٠٠٠	٠,٥٤٤	٠,٦٦٧
كبريتيك	١,٥٣١	١,٣٦٧	١,٣٠٦	١,٨٣٧	١,٠٠٠	١,٢٢٥
خليك	١,٢٥٠	١,١١٧	١,٠٦٧	١,٥٠٠	٠,٨١٧	١,٠٠٠

الطريقة السابقة تستخدم لتقدير الحموضة بصورة إجمالية. هذا وقد يستدعي البحث فصل وتقدير حامض عضوي معين من الثمار مثل متابعة الماليك أو الطرطريك في ثمار العنب دون غيرة من الأحماض العضوية. وفي حالة الدراسات الأكثر تخصصا فأننا نحتاج إلى تقدير الأحماض العضوية كلاً على حدا. ولتنفيذ هذا يوجد عدة طرق أهمها استخدام جهاز الكروماتوجراف السائل الـ HPCL والفصل الكهربائي باستخدام الـ Capillary Electrophoresis وشرح الجهازين ونظرية عملهم موضحة في الباب الخاص بالأجهزة العلمية.

وتتلخص خطوات العمل في التالي:

- تجهيز عينة الثمار بالعصر والترشيح والترويق وإزالة اللون بالفحم النباتي وأجراء التخفيف المطلوب

- تجهيز محلول قياسي من الأحماض المراد فصلها تركيزة متقارب مع تركيز تلك الأحماض في الثمار ففي حالة ثمار العنب وعصائره المتخمرة أو غير المتخمرة يكون

كالتالي: ٣ جم طرطريك، ٣ جرام ماليك ٠.٥ جرام خليك، ٠.٢ جرام شكميك و ٠.٢ جرام حامض لآكتيك لكل لتر ماء مقطر. يجري تخفيف مماثل لعينة الثمار

- يتم تشغيل الجهاز وضبط البرنامج الخاص به ويتم ضبط الطول الموجي في حالة الـ Capillary Electrophoresis يستخدم طول موجي قدرة ٢٢٠ نانوميتر وأجراء غسيل للكولون Capillary قبل التقدير باستخدام الصودا الكاوية ٠.١ عياري والماء المقطر النقي

- في حالة الـCapillary Electrophoresis يستخدم محلول منظم من حامض البنزويك (١٠ ملي مول/اللتر) والهستادين (١٠ ملي مول/اللتر) ومادة التترا دي أثيل أمونيوم بروميد (١ ملي مول /اللتر)

- توضع العينات في زجاجات صغيرة خاصة بالعينات ومعها المحلول القياسي في بداية الترتيب وفي نهايته ويدون البرنامج الخاص بالكمبيوتر الملحق بالجهاز ونترك الجهاز يمرر العينات تباعاً.

- بعد التحليل نحصل علي النتيجة في صورة قمم picks تخرج علي زمن معين يتم التعرف عليها بالمقارنة بالمحلول القياسي. ومن مساحة القمة أو ارتفاعها يتم حساب التركيز لكل حامض.

الكربوهيدرات
Carbohydrates

الكربوهيدرات من المواد الواسعة الانتشار في النباتات الراقية وتُعرف علي أنها الدهيدات وكيتونات عديدة الهيدروكسيل. والصيغة العامة للكربوهيدرات هي $(CH_2O)_n$. وتقسم المواد الكربوهيدراتية في الثمار إلى سكريات ذائبة وتشمل السكريات المختزلة والسكريات الغير مختزلة، والسكريات المختزلة تشمل السكريات الأحادية مثل الجلوكوز وهو سكر سداسي الدهيدي والفركتوز وهو أكثر السكريات الطبيعية حلاوة ويسمي سكر الفاكهة وهو سكر كيتوني. والجلوكوز والفركتوز من أهم السكريات الأحادية وأكثرها انتشارا، والسكريات الثنائية مثل المالتوز، أما السكريات الثنائية الذائبة والغير مختزلة فيقع تحتها السكروز. والسكريات الغير ذائبة (عديدة التسكر polysaccharides) فيقع تحتها السكريات العديدة التسكر المتجانسة homo polysaccharides مثل النشا الذي يتكون من وحدات عديدة من الجلوكوز والدكسترين ويتكون من وحدات عديدة من الجلوكوز ولكن أقل من النشا والسليولوز ويتكون من وحدات عديدة من الجلوكوز في صورة سلسة مستقية ترتبط مع بعضها بروابط (1-4) β ، والسكريات العديدة التسكر الغير متجانسة Hetero polysaccharides وهي التي تحتوي علي نوعين أو أكثر من الوحدات البنائية مثل الهيالورونيك والهيبارين (لا يوجد بالنبات). كما يمكن تقسم السكريات علي حسب عدد ذرات الكربون إلى سكريات ثلاثية ورباعية وخماسية وسداسية وسباعية.

تقدير الكربوهيدرات الكلية في الثمار

أولاً: طريقة الفينول – حامض الكبريتيك

وتتلخص خطوات هذه الطريقة في التالي :

- يتم تجفيف العينات في فرن تجفيف حتى ثبات الوزن وتطحن جيدا ويتم وزن ٠,١ جرام من العينة الجافة وتوضع في أنبوبة اختبار ويضاف عليها ٨,١ ملى من حامض

الكبريتيك المركز + ١.٩ ملى من الماء المقطر. ولا تغلق الأنبوبة غلق تام وتترك على درجة حرارة المعمل حتى الصباح (حوالي 12 ساعة)

- يضاف ١٢.٥ ملى ماء مقطر إلي محتويات الأنبوبة وترج جيدا وتوضع الأنابيب على درجة حرارة 110 درجة مئوية لمدة 9 ساعات.
- تنقل المحتويات التي بالأنبوبة كميا على ورقة ترشيح مع الغسيل بالماء المقطر لعدة مرات ويستقبل الراشح في دورق معياري 100 ملى ويكمل إلى العلامة بالماء المقطر.
- يؤخذ 1 ملى من المحلول السابق ويضاف إليه 1 ملى من محلول الفينول ٥ ٪ في الماء (يحضر بإضافة 5،5 ملى من محلول الفينول إلي ٩٤.٥ ملى ماء مقطر) ويتم الرج جيدا.
- يتم قراءة امتصاص اللون على جهاز الأسبكتروفوتوميتر Spectrophotometer علي طول موجي قدرة ٥٥٠ نانوميتر.
- يتم عمل المنحنى القياسي كالتالي: أولا يحضر محلول قياسي من الجلوكوز (25 جرام جلوكوز/50 ملى ماء مقطر) وتؤخذ منة ; 0.3 ; 0.2 ; 0.1 0.5 ; 0.4 ملى وتخفف في 50 ملى من الماء المقطر يؤخذ من كل محلول ٠.١ في أنبوبة اختبار وتخفف باستخدام 10 ملى من حامض الكبريتيك (٨.١ ملى حامض كبريتيك مركز + ١.٩ ملى ماء مقطر) وترج جيدا.
- ويؤخذ من الأنبوبة السابقة ٠.١ ملى يضاف إليه 1 ملى فينول ٥٪ وترج جيدا ثم تؤخذ القراءة على جهاز الأسبكتروفوتوميتر Spectrophotometer على طول موجي قدرة 550 نانوميتر.
- من المنحني القياسي يتم حساب تركيز الكربوهيدرات الكلية في العينة.

ثانياً: طريقة Shaffer and Hartiman Method

وهذه الطريقة تعتمد على فكرة تحلل المواد الكربوهيدراتية مائيا في وجود حامض الهيدروكلوريك إلي سكريات بسيطة يمكن تقديرها بالمعايرة وحساب نسبتها. ويمكن تلخيص خطوات هذه الطريقة كالتالي:

الكيماويات والمحاليل المطلوبة:

- محلول حامض هيدروكلوريك ١ عياري: يضاف ٨٥.٤ ملي من HCl مركز نقي إلى ٣٠٠ ملي ماء مقطر ويكمل الحجم إلى لتر بالماء المقطر.
- محلول صودا كاوية ١ عياري: يحضر بذوبان ٤٠ جرام NaOH في كمية من الماء ويكمل الحجم إلى ١ لتر بالماء المقطر. ومن هذا المحلول يتم تحضير محلول ٠.١ عياري بالتخفيف ١٠ مرات بالماء المقطر.
- محلول يودور البوتاسيوم ٢ ٪ : ويحضر بذوبان ٢٠ جرام من يودور البوتاسيوم في لتر من الماء المقطر.
- محلول ثيوسلفات الصوديوم : وذلك بذوبان ١٣.٥ جرام من ثيوسلفات الصوديوم في لتر من الماء المقطر
- حامض كبريتيك ٢ عياري : يحضر بذوبان ٥٤.٥ من H_2SO_4 مركز نقي في ٢٠٠ ملي ماء ويكمل الحجم بالماء المقطر إلى ١ لتر.
- محلول يودات البوتاسيوم ٠.٧ جرام بالضبط / اللتر
- دليل النشا : ويحضر بإذابة النشا القابل للذوبان إلى الماء الساخن حتى التشبع يتم تبريد المحلول علي حرارة الغرفة ويؤخذ الجزء الرائق للاستخدام.
- محلول فهلنج أ + ب : ويحضر فهلنج أ بذوبان ٣٤.٦٤ جم كبريتات نحاس لامائية في كمية من الماء المقطر وترشح ويكمل الحجم إلى ٥٠٠ ملي بالماء المقطر. وفهلنج ب يحضر بذوبان ٥٠ جم من الصودا الكاوية في كمية من الماء المقطر ثم يذاب ١٧٣ جم من طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم في كمية من الماء المقطر ويتم الترشيح ويخلط مع محلول الصودا الكاوية ويكمل الحجم إلى ٥٠٠ ملي بالماء المقطر. بعد تجهيز محلول فهلنج أ ومحلول فهلنج ب يخلط كميتان متساويتان من المحلولين ويطلق عليه محلول فهلنج أ+ب.

الأجهزة والأدوات:

- ميزان حساس عالي الدقة

- أدوات زجاجية : وتشمل أنابيب اختبار وحوامل للأنابيب ودوارق معيارية وأقماع زجاجية بحاملها وسحاحة دقيقة مدرجة وماصات زجاجية ذات أحجام مختلفة
- ورق ترشيح عالي الجودة Whatman
- مكثفات زجاجية عاكسه

التجربة وطريقة التقدير

- يتم وزن من ٠.٢ إلى ٠.٥ جرام من المادة الجافة المطحونة جيدا وتوضع في كأس زجاجي ويضاف لها 15 ملى من حامض الهيدروكلوريك 1 عياري وتوضع علي حمام مائي لمدة 6 ساعات.
- يتم ترشيح محتويات الكأس مع الغسيل بالماء المقطر ويستقبل الراشح في دورق معياري 250 ملى.
- يوضع ثلاثة نقاط من دليل الفينول فيثالين في الراشح ويتم ضبط الحموضة بالصودا الكاوية 1 عياري حتى يظهر اللون الأحمر الخفيف ثم للدقة نستخدم حامض الهيدروكلوريك ٠.١ عياري حتى الحصول علي اللون الوردي الذي يدل علي نقطة التعادل. ويتم استكمال الحجم بالماء المقطر حتى العلامة:
- يؤخذ 5 ملى من المحلول السابق في أنبوبة اختبار ويضاف لها 5 ملى من مخلوط محلول فهلنج أ + فهلنج ب وتوضع علي حمام مائي يغلي لمدة ربع ساعة ثم تترك لتبرد لمدة 3 دقائق.
- يضاف إلى محتويات الكأس 2 ملى من محلول يودور البوتاسيوم ٢ ٪ ثم 2 ملى من حامض كبريتيك ٢ عياري ويرج حتى ينتهي الفوران.
- يتم أجراء لمعايرة بمحلول الثيوسلفات حيى يتحول اللون إلي اللون الأخضر المصفر
- يتم أضاف دليل النشا (قطرة أو قطرتين) إلي الكأس فيتحول اللون إلى الأزرق وتكمل المعايرة حتى يختفي اللون الأزرق وعندها تدون قراءة السحاحة.

- بنفس الطريقة يتم عمل البلانك (العينة الخالية Blank) مع استخدام الماء المقطر بدلا من مستخلص العينة وتدون قراءة السحاحة.
- تقدر قوة الثيوسلفات كالتالي: يؤخذ 5 ملى من محلول يوديد البوتاسيوم + 2 ملى من حامض الكبريتيك 2 عياري + 5 ملى يودور بوتاسيوم ٢ ٪ ثم تعادل بمحلول الثيوسلفات (يلاحظ هنا أن المخلوط هذا يؤدى إلى انفراد اليود ويعادل بالثيوسلفات في وجود النشا) ولنفرض أن اليود أحتاج إلى *(س)* ملى ثيوسلفات إذاً:

ح x ع للثيوسلفات = حَ x عَ للأيودات

ح x ع للثيوسلفات = 5 ملى x {(0.8) / (الوزن المكافئ لأيودات البوتاسيوم)}

ح x ع للثيوسلفات = 5 x 0.8 / (214.01 / 6)

= 4 / 35.67

ع للثيوسلفات = 4 × 22 / (35.67 س)

عدد مليجرامات السكر = (ع للثيوسلفات × التخفيف) × (قراءة اللعينة – قراءة البلانك) × (100 / وزن العينة)

تقدير السكريات المختزلة في ثمار الفاكهة

Determination of reducing sugars

السكريات الموجودة في ثمار الفاكهة تعطى الثمرة الطعم الحلو المرغوب للمستهلك من ناحية كما أنها عنصر مهم جداً في التصنيع الغذائي من ناحية أخري. ومن الواجب هنا أن نذكر أن السكريات ليست متساوية في قوة حلاوتها حيث تتباين فيما بينها تباين كبير فأكثرها حلاوة هو سكر الفركتوز الذي يطلق علية سكر الفاكهة والجدول التالي يوضح درجة حلاوة السكريات منسوبة إلى حلاوة السكروز.

السكر	حلاوة السكر مقارنة بالسكروز	السكر	حلاوة السكر مقارنة بالسكروز
اللاكتوز	١٦ ٪	الزايلوز	٤٠ ٪
الرافينوز	٢٢ ٪	الجلوكوز	٧٤ ٪
جالاكتوز	٣٢ ٪	سكر محول (جلوكوز: فركتوز ١:١)	١٣٠ ٪
الرامينوز	٣٢ ٪	الفركتوز	١٧٣ ٪
المالتوز	٣٢٪	الساكارين	٤،٥٠٠
سكر السكروز ١٠٠ ٪			

ومن الضروري معرفة نسبة السكريات في الثمار للحكم علي نضجها أو لدراسة القيمة الغذائية لها. وسوف نذكر هنا الطرق الأكثر شيوعا لتقدير السكريات المختزلة في الثمار من خلال المراجع المتاحة:

طريقة Lane and Eynon

الأساس العلمي للطريقة: طريقة Lane and Eynon طريقة حجميه تعتمد على ظهور اللون الأحمر الطوبى المميز لأكسيد النحاسوز ويمكن توضح ذلك بالمعادلات التالية:

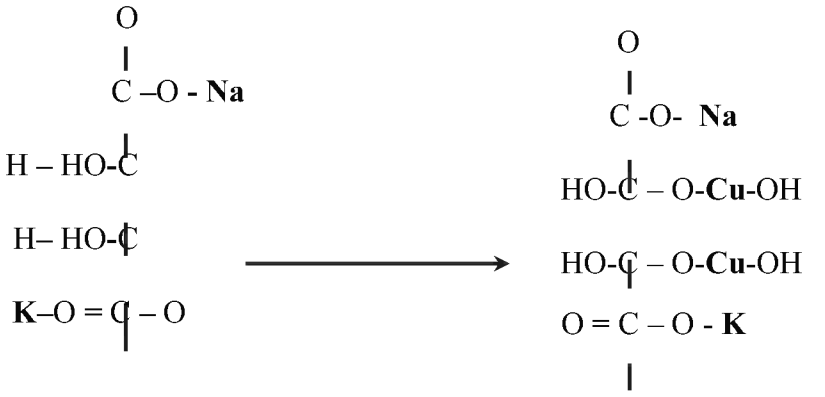
- عند خلط محلول فهلنج أ $CuSO_4$ مع محلول فهلنج ب طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم تتفاعل الصودا الكاوية مع كبريتات النحاس كالتالي:

$$CuSO_4 + NaOH \longrightarrow Cu(OH)_2 + NaSO_4$$

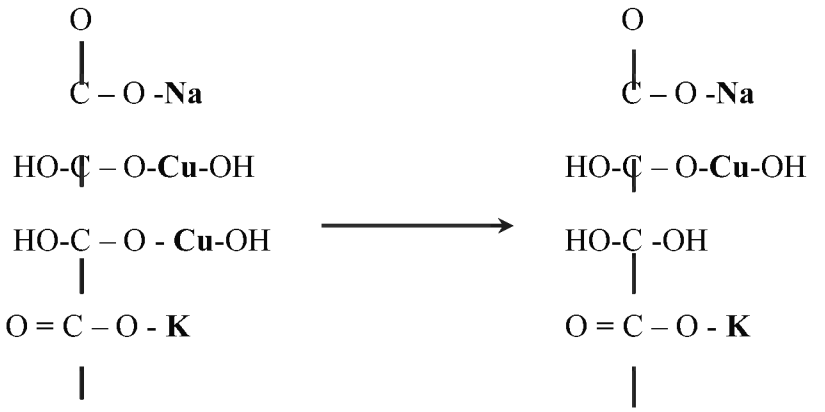
- يتأين جزء بسيط من أيدر وكسيد النحاسيك معطيا أيونات أيدروكسيد + أيونات نحاسيك

$$^{-}Cu(OH)_2 \longleftrightarrow Cu^{++} + OH$$

- تتفاعل طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم مع $Cu(OH)_2$ الغير ذائب ويتكون معقد ذائب.



والمركب الناتج قابل للذوبان والتأين بالحرارة وهذا المركب يتحول كالتالي:



+ Cu^{++} O

- وهنا نجد أن هناك حالة توازن أو أتزان ما بين أيونات النحاسيك وأيونات الأيدروكسيل، فعند اختفاء أيونات النحاسيك لا يلبث النحاس أن ينفرد من المركب المعقد عند تأينه ليعوض النقص ويحافظ على حالة التوازن.
- كما أن هناك حالة أتزان ما بين المعقد وبين ملح روشل وكبريتات النحاس (إذ يتحد ملح روشل مع أيدروكسيد النحاسيك الغير ذائب لتكوين مركب معقد جديد) بدلا من المعقد الذي يتأين كما سبق.
- يحدث اختزال مستمر لأيونات النحاس عند إضافة المحلول السكري ويتكون هيدروكسيد نحاسوز غير ذائب. مع ملاحظة أن المركب المعقد يمد الوسط باستمرار بأيونات نحاسيك كلما أستهلك جزء منها مع السكر وتستمر هذه العملية حتى تنتهي كل أيونات النحاسيك في المخلوط.
- $Cu(OH)_2$ المتكون يفقد ماء نتيجة التسخين ويتكون أكسيد نحاسوز غير ذائب. وعند انتهاء كل أيونات النحاسيك في وسط التفاعل فأن أول نقطة من المحلول السكري تختزل أزرق الميثلين إلي عديم اللون. وهذا دليل داخلي أي انه يحتفظ

بلونه مع وجود النحاس على صورة نحاسيك فأذ أنتهي النحاسيك يصبح عديم اللون وبالتالي يظهر لون أكسيد النحاسوز الأحمر.

الأدوات المطلوبة :

(1) سحاحة 50 ملى

(2) دوارق معيارية 250 ملى و ٥٠٠ ملي و١ لتر

(3) ورق ترشيح وات مان Whatman

(4) كأسات زجاجية 250 ملى تتحمل الحرارة العالية

(5) ماصات 10 ; 5 ; 1 ملى

(6) دوارق مخروطية 250 ملى

(7) حوامل ترشيح وحامل للسحاحة

(8) أقماع زجاجية

(٩) سخان كهربائي.يمكن التحكم في درجة حرارته.

المحاليل والكيماويات المستخدمة في التقدير :

(1) محلول فهلنج أ

(2) محلول فهلنج ب

(3) دليل أزرق الميثلين ٠.٢ ٪

(4) محلول مشبع من خلات الرصاص

(5) محلول مشبع من فوسفات الصوديوم الثنائية

(6) محلول صودا كاوية 1 عياري و ٠.١ عياري

(7) حامض HCl 1 عياري

(8) حامض خليك ٢ ٪

(9) كحول إيثيل ٩٥ ٪ وكحول أيثيل ٤٠ ٪

(10) فحم نباتي لقصر الألوان

تحضير المحاليل المستخدمة في التقدير :

- محلول فهلنج أ : يحضر بإذابة ٣٤,٦٤ جرام كبريتات نحاس لا مائية في كمية من الماء المقطر وترشح ويكمل الحجم في دورق معياري ½ لتر إلي العلامة بالماء المقطر. يراعى ترشيح المحلول قبل الاستخدام
- محلول فهلنج ب : يحضر بإذابة 50 جرام صودا كاوية في كمية كافية من الماء المقطر ثم يتم أذابه 173 من ملح روشل (طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم) في كمية مماثلة من الماء المقطر ويخلط المحلولين مع التسخين حتى يكتمل الذوبان ويكمل الحجم بالماء المقطر إلى ½ لتر. ويراعى ترشيح المحلول قبل الاستخدام.
- دليل أزرق الميثلين ٠,٢ ٪ : يحضر بإذابة ٠,٢ جم من الدليل في 100 ملى من الماء المقطر.
- محلول 1 عياري من الصودا الكاوية : يحضر بإذابة 40 جم من NaOH في كمية من الماء المقطر ويكمل الحجم إلى ١ لتر ومنة يتم تحضير محلول ٠,١ عياري بالتخفيف ١ إلى ١٠.
- حامض هيدروكلوريك ١ عياري ويحضر بأخذ ٨٥,٤ ملي من الحامض المركز (كثافته = ١,١٨) وتضاف ببطء إلى كمية من الماء المقطر ويكمل الحجم إلى ١ لتر بالماء المقطر.
- محلول مشبع من خلات الرصاص وذلك بإضافة خلات الرصاص إلى الماء المقطر علي الساخن مع التقليب حتى يتوقف الذوبان ويبرد المحلول ويؤخذ الجزء الرائق للاستخدام.
- محلول مشبع من فوسفات الصوديوم ويحضر بنفس الطريقة المتبعة مع محلول خلات الرصاص المشبع.

طريقة التقدير

- يتم أخذ عينة ممثلة من الثمار المراد تقدير السكريات بها، وتضرب جيدا في الخلاط ثم يوزن منها 50 جرام (في حالة العينات اللُبيه مثل الموز والجوافة تخفف العينة بمقدار 1:1 ويراعى هذا التخفيف عند حساب التركيز).

- يضاف للعينة (50 جرام) قدر وزنها كحول أي 70 ملى حيث أن كثافة الكحول = ٠,٧ جم/سم^{٣} + جزء قليل من الماء المقطر. وتوضع العينة على حمام مائي يغلي والهدف من إضافة الكحول والتسخين في حمام مائي هو قتل الأنزيمات وتجميع الغرويات واستخلاص أكبر كمية من السكر. كما أن أضافه الكحول تؤدى إلى إمكانية حفظ العينات لمدة طويلة تصل ألي ستة أشهر.
- يتم الترشيح مع الغسيل بالكحول ٤٠ ٪ ويستقبل الراشح في دورق معياري 250 ملى ويكمل الدورق بالماء المقطر حتى العلامة.
- يتم أخذ 50 ملى من الراشح ويطرد الكحول على حمام مائي، ثم يتم التبريد مع إضافة 50 ملى من الماء المقطر.
- يتم إضافة 5 ملي من محلول خلات الرصاص مع التقليب لمدة 10 دقائق.
- يضاف 10 ملي من محلول فوسفات الصوديوم الثنائية مع التقليب لمدة 5 دقائق، يفضل أضافتها نقطة بنقطة ونوقف الإضافة مع بداية تكوين راسب.
- يضاف 1 جرام من الفحم النباتي ويقلب لمدة 10 دقائق ثم ترشح العينة في دورق معياري 250 ملى ويكمل الحجم بالماء المقطر حتى العلامة "وهنا تصبح العينة في صورة مستخلص جاهز للتقدير"
- تثبت السحاحة على الحامل وتملئ من المستخلص السابق الأعداد.
- يتم خلط حجمين متساويين من فهلنج أ و فهلنج ب ويؤخذ منهم 10 ملى في دورق مخروطي 250 ملى.
- تتم المعايرة على الساخن وتبدأ بإضافة 15 ملى من السحاحة للدورق مع التسخين حتى بداية الغليان، وعندها يختفي اللون الأزرق لمحلول فهلنج ويظهر اللون الأحمر لأكسيد النحاسوز CuO
- يتم إضافة ٣ نقط من دليل أزرق الميثلين فيتحول اللون إلي اللون الأزرق مرة أخرى.

- يتم استكمال المعايرة على الساخن حتى نحصل على اللون الأحمر الطوبى، نوقف المعايرة ونسجل قراءة السحاحة ويتم حساب نسبة السكريات المختزلة كنسبة مؤوية من جدول Lane & Eynon المرفق.

بعض الملاحظات على الطريقة:

(١) إذا تم إضافة 15 ملى من المستخلص (الراشح) إلى مخلوط فهلنج أ + ب ولم يختفي اللون الأزرق المميز لمحلول فهلنج ويظهر اللون الأحمر المميز لأكسيد النحاسوز فأن ذلك يدل على قلة تركيز السكر في العينة، وهنا يمكن تخفيف محلول فهلنج بنسبة 1:1 مع قسمة النتيجة النهائية لتركيز السكر على 2.

(٢) إذا تم إضافة دليل أزرق الميثلين ولم يتحول اللون إلي الأزرق بل ظل أحمر طوبى ... دل هذا على زيادة تركيز السكر في العينة، وهنا يمكن تخفيف العينة بنسبة 1:1 مع الماء المقطر. مع مراعاة ضرب القراءة لمأخوذ من الجدول في 2.

البروتين في عينات الثمار

Determination of total protein

البروتين أحد المكونات الرئيسية والهامة في ثمار الفاكهة والتي يزيد من قيمتها وأهميتها الغذائية. وأصل كلمة بروتين مشتق من المصطلح اللاتيني proteios والذي يعني الأول نظرا لأهميته الغذائية. والبروتين عبارة عن سلاسل من الأحماض الأمينية التي ترتبط ببعضها بروابط ببتيدية. ويميز الأحماض الأمينية عن غيرها من الأحماض احتوائها علي مجموعة أو أكثر من مجموعات الأمين Amino group (NH_2) وقد تتحول هذه المجموعة في بعض الأحماض الأمينية إلى مجموعة إيمينو Imino (NH) وذلك بعد فقد ذرة هيدروجين. وكما هو واضح أن مجموعة الأمين تحتوي علي ذرة نيتروجين وذرتين هيدروجين بالتالي تقدير البروتين يبني علي أساس تقدير النيتروجين بطريقة كلداهل ثم ضرب القيمة المتحصل عليها في معامل تحويل.

تقدير البروتين في العينات النباتية

يتم تقدير البروتين بصفة عامة بطريقة كلداهل سواء باستخدام الـ Macro-Kjeldahl أو الـ Micro-Kjeldahl والمستخدم غالبا في عينات الثمار والأغذية هو الـ Macro-Kjeldahl والتي تبني علي أساس هضم النيتروجين العضوي باستخدام حامض الكبريتيك المركز النقي في وجود مادة منشطة للهضم (مثل أكسيد السلينيوم selenium oxide أو كبريتات النحاس Copper sulphate) بالتالي يتحول النيتروجين إلى سلفات الأمونيوم ويتم تحرير الأمونيا بجعل الوسط قلوي بإضافة الصودا الكاوية NaOH تركيزها ٤٠ ٪ ثم التقطير. ويستقبل الأمونيا المتحرر من التقطير في دورق يحتوي علي حجم معلوم (يكفي وزيادة) من حامض معلوم العيارية. ويتم معادلة الزيادة باستخدام الصودا الكاوية معلومة العيارية في وجود دليل لوني.

الكيماويات والمحاليل المطلوبة:

- مخلوط هضم (يتكون من ٩٨ جزء من K_2SO_4 + ٢ جزء من $CuSO_4$)
- محلول صودا كاوية تركيزه ٤٠ ٪
- محلول صودا كاوية تركيزه ٠,١ عياري
- حامض كبريتيك H_2SO_4 مركز نقي
- حامض كبريتيك تركيزة ٠,١ عياري
- دليل أحمر الميثيل Methyl red ويحضر بذوبان ٠,١ جرام من الدليل في ٦٠ ملي من الكحول ويكمل الحجم بالماء المقطر إلى ١٠٠ ملي

الطريقة وكيفية التقدير:

- يتم وزن ٠,٢ إلى ١ جرام من عينة من الثمار المجففة المطحونة وتوضع في دورق كلداهل نظيف ومجفف ويضاف عليها ١ جرام من مخلوط الهضم ثم يضاف ٢٠ ملي من H_2SO_4 المركز النقي وتترك لتتفاعل.
- تثبت وحدة كلداهل علي السخان الخاص لذلك وترفع الحرارة تدريجيا ويتم الهضم لمدة ٤ إلى ٥ ساعات حتى يتحول لون المخلوط إلى اللون الأبيض الرائق. تترك بعدها العينة علي السخان لمدة ساعة لتمام الهضم
- يتم ترك المخلوط ليبرد وبعدها يضاف كمية من الماء المقطر ثم يتم إضافة الصودا الكاوية ٤٠٪ بكمية كافية (حوالي ٧٥ ملي)
- يتم تثبيت وحدة التقطير. يجري التقطير لتحرر الأمونيا التي تستقل في دورق يحتوي علي ٢٥ ملي من حامض H_2SO_4 تركيزه ٠,١ عياري حتى تمام التقطير
- يتم معايرة الزيادة من الحامض باستخدام الصودا الكاوية ٠,١ عياري وذلك في وجود دليل أحمر الميثيل (٣ نقاط من الدليل) وتسجل القراءة ولتكن B (ومنها يحسب الحجم الفعلي للحامض الذي يكافئ الأمونيا المتحررة يرمز له بالرمز D)

- يتم أجراء تجربة خالية من العينة Blank ويجري لها الهضم والتقطير بنفس الطريقة وتعاير وتسجل القراءة ولتكن C.

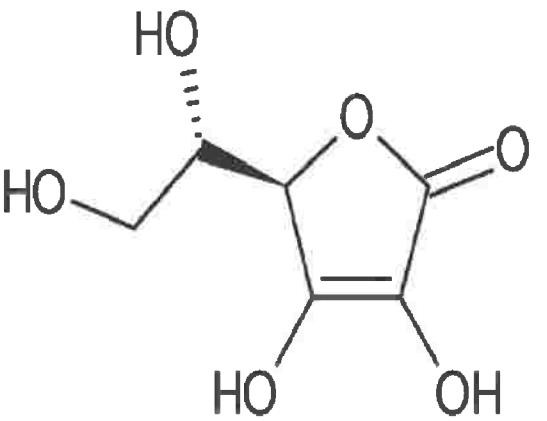
حساب نسبة البروتين

يتم حساب النسبة المئوية للبروتين بالجرام لكل ١٠٠ جرام عينة من المعادلة التالية:

$$protien.g/100g.sample. = \frac{(B-C)\times 14D\times 6.25}{A\times 1000}\times 100$$

حامض الأسكوربيك (فيتامين ج)

Ascorbic acid (Vitamin C) $C_6H_8O_6$



رمز الـ L-Ascorbic acid

التحليلات التي تجري علي الثمار

تعد ثمار الفاكهة من أهم المصادر الطبيعية لهذا الفيتامين. وهو من أهم الفيتامينات الذائبة في الماء ويوجد تقريبا في كل الخلايا النباتية الحية. ويطلق علية فيتامين ج أو حامض الأسكوربيك. وهذا الفيتامين مهم جدا لجسم الإنسان وفى حالة نقصه في الجسم يصاب الإنسان بمرض الأسكربوت Scurvy بالتالي يطلق علية Antiscorbutic vitamin وما يتناوله الإنسان في غذائه اليومي من خضر وفاكهة كفيل بإعطائه الحد ألازم من هذا الفيتامين. وفيتامين ج هو أحد مشتقات الـ L- Glucose ويطلق علية اسم لاكتون ثنائي – كيتو جلوكونيك.

وسوف نورد فيما يلي احتياجات الإنسان من هذا الفيتامين محسوبة بالمليجرام / اليوم وكذلك تركيز هذا الفيتامين في ثمار الفاكهة والخضراوات مع مراعاة أن هناك عوامل كثيرة من شأنها التأثير على محتوى الثمار والخضراوات من هذا الفيتامين أهمها عوامل المناخ وعوامل التربة والصنف. كما تجدر بنا الإشارة إلى أن أجزاء الثمرة غير متساوية في محتواها من هذا الفيتامين فنجد مثلا أن القشرة أو جلد الثمرة في التفاح تحتوى على من ٢ إلى ٣ أضعاف النسبة الموجودة في اللب. والجدول التالي يوضح أهم مصادر فيتامين ج النباتية مقدرة بالمليجرام لكل 100 جرام وزن طازج:

النوع	مليجرام / 100جرام	النوع	مليجرام / 100جرام
الجوافة	200	الفلفل الأحمر	190
الكيوى	90	البروكلى	90
المانجو	20	الليمون الحلو	45
الليمون	50	أوراق الكرنب	30
اليوسفي	30	السبانخ	30
التنجارين	30	الشمام و الكانتلوب	40
الفراولة	60	البطيخ	10
الجريب فروت	40	كريز الهند الغربية	1300
الليمون الأضاليا	50	الموز	15

البرتقال البلدي	80	الزبدية	8
الباباظ	60	الكريز	7
العنب	10	الخوخ	7
المشمش	10	التفاح	6
البرتقال السكري	45	البرتقال أبو سرة	60
الأناناس	25	الرمان	6
البرقوق	10	الكمثرى	4

واحتياجات الجسم البشرى من هذا الفيتامين بالمليجرام لكل يوم تختلف علي حسب الفئة العمرية كالتالي:

الفئة العُمرية	الاحتياج (مليجرام/يوم)	الفئة العُمرية	الاحتياج (مليجرام/يوم)
حديثي الولادة ١ : ٦ شهور	30	بنات سن البلوغ ١٥ : ١٨ سنة	65
أطفال رضع ٦ : ١٢ شهر	35	أولاد سن البلوغ ١٥ : ١٨ سنة	75
أطفال من ١ : ٣ سنوات	40	ذكور فوق 18 سنة	90
أطفال من ٤ : ٦ سنوات	45	إناث فوق 18 سنة	75
أطفال من ٧ : ١٠ سنوات	45	الأمهات المرضعة أول 6 شهور	95
أطفال من ١١ : ١٤ سنة	50	الأمهات المرضعة بعد 6 شهور	90

وهنا يجب أن ننوه بأن الجسم البشرى لا يستطيع تخليق فيتامين C من تلقاء نفسه كما أنة لا يخزن هذا الفيتامين ومصدره الطبيعي الوحيد هو الغذاء. وفيتامين C من المركبات السهلة الذوبان في الماء كما يذوب بسهولة في الكحول ويوجد على صورتين أما المشابه L أو المشابه D والصورة D أقل فاعلية من الصورة L

وهذا الفيتامين يوجد في صوره مؤكسدة أو مختزلة. وقد تم فصلة وعرف تركيبة أيضاً بواسطة كل من سانت جورجى و كنج في الفترة من ١٩٢٧م : ١٩٢٣م وهذا الفيتامين سريع التأكسد وخاصة إذا عرض للضوء مدة طويلة.

واستطاع Albert Szent-Györgyi الحاصل على جائزة نوبل في علوم الطب عام 1937 فصل هذا الفيتامين لأول مرة وتخيل التركيب الفراغي له وذلك في عام 1948.

ومن أهم خصائص هذا الفيتامين :

- ذات قدرة عالية على الاختزال حيث أنة سريع الأكسدة ويعطى مركب يعرف بال dehydroascorbic acid وهو صورة فعالة للفيتامين ولكن أقل فاعلية من الصورة الأولى. بالتالي عملية تقطيع الفاكهة والخضار وعملية العصر تؤدي إلى فقد نسبة من هذا الفيتامين بواسطة أكسجين الهواء الجوي.
- يحتوى التركيب الكيميائي للفيتامين على ذرتين كربون غير متماثلتين وهما رقم ٤ ورقم ٥ وبالتالي هناك زوجان من المتشابهات الفعالة ضوئيا .
- حامض الأسكوربيك الفعال يوجد على الصورة L أما الصورة D فهي أقل فاعلية من الصورة L.
- لا يحتوي هذا الفيتامين علي مجموعات كربوكسيل حرة ويرجع نشاطه إلى تفكك مجموعة الهيدروكسيل المتصلة بذرة الكربون الثالثة.
- فيتامين C غير مقاوم للحرارة بالتالي المعاملات الحرارية للخضر والفاكهة تؤدي إلى فقد نسبة كبيرة من هذا الفيتامين
- هذا الفيتامين أكثر ثبات في الوسط الحامضى عن الوسط القلوي

تخليق فيتامين C

وهذا الفيتامين يتخلق في النبات من السكريات السداسية. بالتالي تخليق هذا الفيتامين مرتبط بعملية البناء الضوئي في النبات ومدى كفاءتها. وتخليقه يبدأ أما من D-Glucose أو الـ D-Galactose .

ثبات فيتامين C

يتأكسد فيتامين C بسهولة في وجود الأكسجين وبعض العوامل المساعدة الأنزيمية والغير أنزيمية (حيث أن كل من الحديد والنحاس في أملاحهما يساعدان في أكسدة الفيتامين ونتيجة وجودهما يعنى فقد نسبة كبيرة من الفيتامين) وكذلك الأنزيمات التي تحتوي على مجموعات فعالة بها الحديد أو النحاس من أكثر العوامل

المساعدة على أكسدة الفيتامين. كما يوجد أيضا في أنسجة الثمار عدد من الأنزيمات مسؤولة عن أكسدة هذا الفيتامين أهمها: Ascorbic acid oxidase;
Phenolase ; Cytochrome enzymes; Peroxidase

والأنزيم الأول يؤكسد الفيتامين مباشرة في توافر الأكسجين. والباقي يعمل بصورة غير مباشرة. كما أن هناك مواد أو مركبات نباتية طبيعية موجودة بالثمار من شأنها أن تمنع أو تقلل من أكسدة هذا الأنزيم مثل: المركبات التنينية، مركبات الأنثوثيانين، الفلافونات، المركبات الفينولية والمواد المخلبية. أي أن هناك مركبات نباتية تساعد علي حماية هذا الفيتامين من الأكسدة والفقد وهناك مركبات أخري تعمل علي فقد هذا الفيتامين ولكن في النبات نجد أن هناك توازن طبيعي بين تلك المركبات.

الطرق الكيميائية لتقدير فيتامين C:

معظم الطرق الكيميائية لتقدير هذا الفيتامين مبنية على أساس قوته الاختزالية.

الطريقة الأولى: التقدير الحجمى بالمعايرة بجوهر تليمان

واستخدام جوهر تليمان أو ما تسمى بصبغة ٢ و ٦ داى كلوروفينول اندوفينول الظاهرية 2,6 Dichlorophenol Endophenol هي من أكثر الطرق شيوعا وتبني على أساس معايرة مستخلص فيتامين C مع الصبغة المذكورة والتي يتحول لونها من الأزرق إلي الوردي، والتقدير هنا يكون في وسط حامضي عند رقم pH في حدود 4، حيث أنه عند هذا الرقم يكون اختزال الصبغة كاملا كما أن ثبات اللون الوردي في المعايرة يكون أطول.

الأدوات المطلوبة للتقدير :

(1) ميزان حساس

(2) خلاط لاستخلاص العصير

(3) أقماع زجاجية

(4) كؤوس زجاجية أحجام مختلفة

(5) دوارق معياري 100 ; 250 ; ٥٠٠ ملى

(6) ورق ترشيح Whatman No. 4

(7) ماصات زجاجية 1 ; ٥ ; 10 ملي

(8) سحاحات 10 ; 25 ملى

المحاليل المطلوبة:

(1) محلول صبغة ٢ و ٦ ثنائي كلوروفينول أندوفينول قوتها ٠,٠٢٥ وتحضر بإذابة 50 ملجم من الصبغة في حجم 150 ملى من الماء المقطر الساخن (دافئ) المحتوى على 42 مجم من بيكربونات الصوديوم ($NaHCO_3$) ثم تبرد ويكمل الحجم حتى 200 ملى بالماء المقطر.

كل 100 ملى من المحلول يحتوى على 25 مجم من الصبغة

كل 1 ملى من المحلول يحتوى على ٠,٢٥ مجم من الصبغة

(2) حامض خليك تركيزة ١٠% و حامض خليك تركيزة ٨ %

(3) حامض ميتا فوسفوريك تركيزة ٦ ٪ وحامض ميتا فوسفوريك تركيزة ٣ %

(4) حامض أكساليك بتركيزات ٢ % و ٣ ٪ و ٦ %

(5) مخلوط حامض الخليك + حامض الميتا فوسفوريك (يحضر بخلط 15 جم من ميتا فوسفوريك أسيد + 40 ملى من حامض الخليك ويكمل الحجم إلى ½ لتر بالماء المقطر) ويحفظ هذا المحلول في الثلاجة لتلافى تكون حامض الأورثوفوسفوريك.

(6) مخلوط حامض الأكساليك مع حامض الخليك (15 جم حامض أكساليك + 40 ملى حامض خليك)

خطوات التقدير :

- **تقدير قوة الصبغة :**
  - يتم أخذ 100 ملجم من فيتامين C النقي وتذاب في كمية من الماء المقطر وتوضع في دورق معياري 100 ملى ويكمل حتى العلامة بالمحلول الحافظ . كل 1 ملى من هذا المحلول يحتوى على 1 ملجم من الفيتامين، يتم أخذ 2 ملى من هذا المحلول

في دورق مخروطي وينقط عليها من السحاحة المملوءة بالصبغة حتى ظهور اللون الوردي .

- نفترض أننا وصلنا إلى اللون الوردي عند قراءة سحاحة = 20 ملى

كل 20 ملى صبغة تكافئ 2 ملجم فيتامين C

كل 1 ملى صبغة تكافئ ٠,١ ملجم فيتامين C

إذا قوة الصبغة = ٠,١

- **تقدير نسبة الفيتامين في عصير الثمار:**

يتم وزن 200 جرام من عينة العصير المصفي وتكمل إلي 500 ملى بالمحلول الحافظ ويؤخذ منها 25 ملى بها 10 جرام من العينة وتكمل إلي 100 ملى بالماء المقطر ثم يؤخذ منه 10 ملى للمعايرة بالصبغة (تحتوي علي ١ ملي عصير).

أو يتم أخذ 10 ملى عصير وتكمل حتى 100 ملى بالمحلول الحافظ في دورق معياري 100 ملى يؤخذ منها 10 ملى للتقدير (حجم العصير هنا 1 ملى)

يتم المعايرة بالصبغة حتى نصل إلى اللون الوردي الذي يستمر لمدة 15 ثانية وعندها نأخذ قراءة السحاحة ولتكن L

- تركيز فيتامين C بالملجم لكل 100 ملى عصير يحسب كالتالي:

$$Vita\ \min .C.mg\ /100\ g = \frac{(L \times M \times 100)}{W}$$

حيث الـ L عبارة عن قراءة السحاحة والـ M قوة الصبغة والـ W هي وزن العينة المستخدمة بالجرام

بالتالي فيتامين C بالملجم/100 ملى عصير = {(L x ٠,١ x 100) / (1)}

الطريقة الثانية: تقدير حامض الأسكوربيك بالطريقة الأنزيمية

يتم القياس باستخدام جهاز الأسبكتروفوتوميتر في التقدير ويضبط الطول الموجي علي ٥٧٨ نانوميتر.

الأساس العلمي للطريقة:

حامض الأسكوربيك يختزل ملح التترازوليم MTT

Bromure 3-(4,5-dimethyl thiazolyl -2)- 2,5-diphenyltetrazolium)

في وجود 5-methylphyenazimum sulfate de methyle (PMS)

كناقل للإلكترونات كما بالمعادلة التالية:

$$\text{(1) Ascorbate + MTT} \xrightarrow{\text{PMS}} \text{Dihydroascorbate + MTT formazan + H}$$

وفي التجربة الخاوية Blank حامض الأسكوربيك يتم أكسدته بواسطة الـ Ascorbate oxydase والذي نرمز له بالـ (AAO) في وجود الأكسيجين ويتكون داي هيدرو أسكوبات كما بالمعادلة التالية:

$$\text{(2) Ascorbate + } \tfrac{1}{2}\,O_2 + H^+ \xrightarrow{\text{AAO}} \text{dihydroascorbate + } H_2O$$

والفارق في الامتصاص الضوئي علي جهاز الأسبكتروفوتوميتر بين العينة و Blank (التجربة الخالية من العينة) يتناسب مع كمية حامض الأسكوربيك الموجودة بالعينة المراد تقديرها. ووجود الـMTT فورمازان هو المؤثر علي درجة الامتصاص الضوئي نتيجة خواصه الامتصاصية. ويتم القياس علي طول موجي مقداره ٥٧٠ nm

الكيماويات والمحاليل اللازمة للتقدير:

- **المحلول رقم (١):** يوضع في زجاجة نظيفة ٤٣ ملي من محلول منظم مكون من : حامض ستريك / فوسفات أحادي الهيدروجين (رقم الـ pH لهذا المحلول ٣.٢) + MTT محلول الفورمازان. ويستخدم هذا المحلول دون تخفيف ويخزن بعيدا عن الضوء (في الظلام). ويمكن تخزين هذا المحلول لمدة ١٢ شهر علي درجة حرارة ٤ درجة مئوية في حالة إضافة مثبت للمحلول.

- **المحلول رقم (٢):** يوضع في زجاجة نظيفة ٢٠ قرص (قياسية) من أنزيم الأسكوربات أوكسيديز AAO كل قرص يحتوي علي ١٧ U (وحدة) ويمكن حفظة لمدة ١٢ شهر في حالة إضافة المثبت للمحلول علي حرارة الغرفة ٢٠ : ٢٥ درجة مئوية.
- **المحلول رقم (٣):** يوضع في زجاجة نظيفة ٤ ملي من محلول الـ PMS. ويستخدم هذا المحلول دون تخفيف. وفي حالة إضافة مثبت للمحلول يمكن تخزين هذا المحلول لمدة ١٢ شهر بعيدا عن الضوء (في الظلام) وعلي درجة حرارة ٤ درجة مئوية.

التجربة والتقدير

- يتم تشغيل الأسبكترو وضبط الطول الموجي علي ٥٧٠ نانوميتر.
- الكيوفت أو خلية الجهاز المستخدمة تكون من الزجاج وذات قطر يساوي ١ سم.
- الحجم النهائي للاختبار يساوي ٢,٧٠ ملي.
- حجم العينة المأخوذة للتقدير يتراوح من ٠,١ إلى ١,٦ ملي عصير.
- يتم ضبط الجهاز أولاً باستخدام الماء المقطر بدلا من العينة ثم تقاس المحاليل القياسية ثم العينات.
- يتم تجهيز العينة ومحلول المقارنة (القياسي) وأخذ القراءات كالتالي:

المحاليل المضافة	المحلول القياسي	العينة
المحلول رقم (١) يسخن إلى ٣٧ مئوي	١,٠٠ ملي	١,٠٠ ملي
ماء مقطر	١,٥٠ملي	١,٥٠ ملي
العينة	٠,١٠ ملي	٠,١٠ ملي
المحلول رقم (٢)	١ قرص (١٧ وحدة)	- - -
يتم الرج دون حدوث فقاعات وتمليء الكيوفت بعد تمام اختفاء الـ AAO وتترك لمدة ٦ دقائق علي درجة حرارة ٣٧ درجة مئوي. يتم قياس الامتصاص الضوئي علي الأسبكتروفوتوميتر للعينة ومحلول المقارنة وتدون القراءة (A1)		
المحلول رقم (٣)	٠,١٠ ملي	٠,١٠ ملي
يتم الرج وترك المحاليل تتفاعل لمدة ٥ دقائق علي درجة حرارة ٣٧ مئوي، ينتظر حتى نهاية التفاعل ثم يقاس الامتصاص الضوئي بالأسبكتروفوتوميتر للعينة ومحلول المقارنة ويدون (A2)		

يتم حساب الفرق في الامتصاص للعينة ومحلول المقارنة (A2-A1)، ثم يحسب معدل التغير في الامتصاص للمحلول القياسي ΔA_{temon} والعينة ΔA_{sample}

$$\Delta A = (\Delta A_{sample} - \Delta A_{temon})$$

ويجب ألا تقل قيمته الـ ΔA عن ٠.١ (وإلا نعدل التخفيف أو زيادة حجم العينة)

طريقة الحساب:

يتم حساب تركيز حامض الأسكوربيك C من المعادلة التالية:

$$C = \frac{(V \times PM)}{(\varepsilon \times d \times v \times 1000)} \times \Delta A$$

علما بأن V عبارة عن حجم الاختبار (٣.٢٣ ملي) والـ v عبارة عن حجم العينة (٠.١ ملي) والـ PM الوزن الجزيئي لحامض الأسكوربيك L (176.13) والـ d عبارة عن قطر الكيو في المستخدم للجهاز (١ سم) والـ ε عبارة عن معامل الامتصاص لـ MTT-formazan علي ٥٧٨ نانوميتر = ١٦.٩

بالتالي تختصر المعادلة لتصبح كالتالي:

$$C = 0.2814 \times \Delta A$$

الطريقة الثالثة: تقدير فيتامين C بالمعايرة باليود

استخدمت هذه الطريقة لأول مرة عام ١٩٣٣ لتقدير نسبة هذا الفيتامين في عصائر الفاكهة بواسطة Bessy and King (إبراهيم حسن و عاطف أبو عرب ٢٠٠٢) وفي هذه الطريقة يتم معايرة الفيتامين بمحلول قياسي من اليود وتتم المعايرة بسرعة ودون انتظار حتى لا تتدخل مركبات أخري في المعايرة مثل الجلوتاثيون والسستئين اللذان يتأكسدا ببطء بواسطة محلول اليود.

وتتلخص خطوات الطريقة في التالي:

خطوات الطريقة:

- يتم استخلاص العصير مباشرة قبل التقدير ويتم تصفيته وترويقه ولا يخزن حتى لا نفقد جزء من الفيتامين عن طريق التأكسد

التحليلات التي تجري علي الثمار

- يتم أخذ ٥ ملي من العصير بواسطة ماصة نظيفة مدرجة وتنقل إلى دورق سعته ٢٥٠ ملي
- يضاف حوالي ٢٠ ملي ماء مقطر وتخلط جيدا مع العصير ثم يضاف ٢ ملي من دليل النشا (تركيزه ١٪)
- يتم معايرة محتويات الدورق باستخدام محلول قياسي من اليود تركيزة ٠,٠١ عياري ويحضر بذوبان ١٦ جرام من يوديد البوتاسيوم في الماء المقطر ويكمل الحجم إلى ١ لتر بالماء المقطر.
- يتم تدوين قراءة السحاحة ومنها يحسب تركيز الفيتامين علي أساس أن كل ١ ملي من محلول اليود ٠,٠١ عياري تكافئ ٠,٨٨ ملجم من فيتامين C

الثيامين (فيتامين B1)
Thiamin (Vitamin B1)

الثيامين هو الفيتامين المقاوم لمرض البري بري والذي عرف منذ زمن بعيد وأنتشر في الصين، ويؤدي هذا المرض إلى ترهل الجسم وصعوبة المشي مع ضعف الأطراف وزيادة خفقان القلب. ويوجد الثيامين في الأنسجة النباتية في صورة حرة. وهو عبارة عن نواة بيروميدين ونواة ثيازول مرتبطين مع بعضهما بمجموعة ميثلين (CH_2) والثيامين ثابت في الوسط الحامضى ولكن يتلف ويفقد مفعولة في الوسط القلوي.

وتعتمد الفكرة الرئيسية في تقدير الثيامين علي أكسدة الثيامين إلى الثيوكروم (Thiochrome) الذي يمكن قياسه عن طريق استخدام الأشعة الفوق بنفسجية UV عن طريق قياس طيف الإشعاع الناتج عنه نتيجة لامتصاص ضوء معين عند طول موجي محدد وذلك في عدم وجود مواد أخري لها نفس الخاصية الفلوروسنتية (Fluoresences) علي نفس الطول الموجي المستخدم. والانبعاث الضوئي الناتج عن الثيوكروم يتناسب مع تركيزة في العينة الذي يتناسب بدورة مع تركيز الثيامين.

أعداد مستخلص العينة والمحاليل المطلوبة للتقدير

- يتم وزن عينة من ١٠ إلى ٢٠ جرام من الثمار (علي حسب تركيز الثيامين بالعينة) وتجفف وتطحن جيدا ثم يضاف عليها ١٠٠ ملي من محلول الخلات المنظم (Acetat buffer solution) والذي رقم الـ pH له ما بين ٤.٠ إلى ٤.٢ . (ويحضر المحلول المنظم بخلط ٣٠ ملي من محلول أسيتات الصوديوم تركيزة ١ مول مع ٧٠ ملي من حامض الخليك تركيزة ١ عياري ويكمل الحجم إلى ٥٠٠ ملي بالماء المقطر)
- تخلط الكميات السابقة جيدا ثم يضاف ٥ ملي من معلق أنزيمي يحتوي علي ١٥٠ ملجم من الـ Taka-diastase و ٧٥ ملجم من الباباين Papain في ٥ ملي من محلول الأسيتات المنظم. مع أعداد عينة خالية Blank للمقارنة عبارة عن الأنزيم والمحلول المنظم وتستبد العينة النباتية بالماء المقطر. ثم يضاف ١ ملي من

التولوين Toluens ويتم حفظ العينة لمدة ليلة كاملة علي درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية.

- يتم التسخين علي درجة حرارة قدرها ٨٠ درجة مئوية لمدة ٥ إلى ١٠ دقائق ثم يعقب ذلك التبريد إلى درجة حرارة المعمل.
- يجري طرد مركزي للمخلوط ويفصل الراشح الرائق من الأنبوبة. وهذا الراشح يستخدم لتقدير الثيامين والريبوفلافين.
- تحضير محلول قاعدي من خلات الرصاص Basic Lead acetate solution وذلك بإذابة ١٨٠ جرام من خلات الرصاص في حوالي ٧٠٠ ملي من الماء المقطر ثم يتم غلي المخلوط. وعند درجة الغليان يتم إضافة كمية قليلة من أكسيد الرصاص (حوالي ١٨٠ ملجم) ويغلي المخلوط لمدة ٣٠ دقيقة، ثم يبرد ويكمل الحجم إلى ١ لتر بالماء المقطر ثم يرشح.
- تحضير محلول نقي من الثيامين Pure thiamine solution. وذلك بذوبان ٢٥ ملجم من الثيامين النقي في ٢٥٠ ملي من حامض الهيدروكلوريك تركيزة ١ عياري. وكل ١ ملي من هذا المحلول يحتوي علي ١٠٠ ميكروجرام من الثيامين. ومن المحلول السابق يتم تخفيف ١ ملي من المحلول إلى ١٠٠ ملي باستخدام حامض الهيدروكلوريك تركيزة ١ عياري، ليعطي محلول تركيزة ١ ميكروجرام ثيامين لكل ١ ملي محلول.

طريقة التقدير Procedure

- يتم أخذ ٢٠ ملي من مستخلص العينة السابق إعداده ويضاف لها ١٠ ملي من محلول خلات الرصاص القاعدية وتخلط جيدا ثم يتم الطرد المركزي.
- يؤخذ حوالي ٢٠ إلى ٢٥ ملي من الجزء الرائق وتوضع في أنبوبة اختبار وتعامل بـ ٣ ملي من حامض الكبريتيك H_2SO_4 تركيزة ٣٠٪ ثم يضاف الكمية الكافية من الماء المقطر لجعل الحجم الكلي ٤٠ ملي. ثم تجري عملية الطرد المركزي
- يضاف علي الرائق ٢ ملي من الصودا الكاوية تركيزها ٤٠٪. يستخدم أقماع فصل سعتها ١٠٠ ملي (عدد ٣ أقماع أحدهم للعينة والثاني لـ Blank والثالث يستخدم كـ Recovery) وتنقل المحتويات لأقماع الفصل مع إضافة ١٠ ملي من مستخلص

الثيامين لأقماع الفصل وبالنسبة للـ Recovery يضاف ١ ميكروجرام من المحلول القياسي للثيامين

- ترج الأقماع وتترك المحتويات لمدة ٢ دقيقة ثابتة دون حركة. ثم يضاف ١٥ ملي من كحول الأيزوبيوتيل وترج لمدة دقيقتان وتترك.
- يتم أخذ الجزء الرائق، إذا كانت هناك عكارة يتم إضافة ١ ملي من كحول الأيثانول للترويق.
- يأخذ المستخلص الرائق ويقاس الانبعاث الضوئي له Fluorescence بالطريقة الضوئية (Fluorimeter)
- ويتم حساب التركيز للثيامين بالميكروجرام / ١٠٠ جرام عينة كالتالي:

$$thia\ \min e.\mu g/100\,g.sample = \frac{S-B}{R-S} \times dilution \times \frac{100}{W}$$

حيث S قراءة مستخلص العينة و B قراءة الـ Blank و R قراءة الـ Recovery و W وزن عينة الثمار الجافة.

التانينات في الثمار
Tannins

التانينات من المركبات الثانوية التي توجد في عديد من النباتات وهي ذات وزن جزيئي يتراوح من ٥٠٠ إلى ٢٠٠٠٠. وهي أيضاً من المركبات التي تذوب في الماء (باستثناء بعض الأنواع منها ذات الوزن الجزيئي العالي جداً)، كما يمكنها الارتباط بالبروتين وتكوين معقد غير ذائب في الماء.

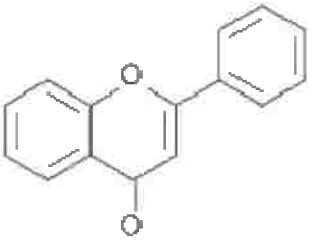
والتانينات هي المركبات المسؤولة عن الطعم القابض أو المر في الثمار، ويكون تركيزها عالي في الثمار الغير ناضجة ويعزي الطعم المر في ثمار الكاكى والزيتون والرمان والبلح الغير ناضجة وغيرها من الثمار إلى وجود التانينات بتركيزات عالية. ويختفي الطعم المر أو القابض الناتج عن وجود المركبات التنينية في الثمار في مرحلة النضج لسبب أو أكثر من الأسباب التالية:

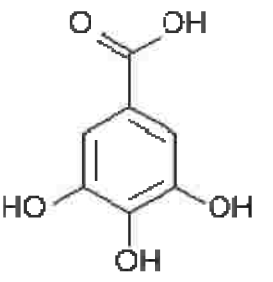
- تحلل التانينات إلى مواد بسيطة مثل أحامض البيروجاليك Pyrogalic acids وحامض الكافييك Caffic acid وحامض الخليك Acetic acid.
- تحلل الجليكوسيدات إلي مركبات أبسط منها لا تمتاز بالطعم المر أو القابض.
- تحوصل الخلايا المحتوية على التانينات بالتالي لا يظهر تأثيرها وتفقد طعمها القابض أو المر.
- حدوث إدمصاص للمواد التنينية على الأسطح واختفاء أثرها. بالتالي حدوث اختفاء مؤقت لهذه المواد.
- اتحاد التانينات مع مواد أخرى وتكوين معقدات لا تعطى الطعم المر.

وتركيز التانينات في النباتات يتفاوت بصورة كبيرة علي حسب النوع النباتي والصنف والنسيج الذي يقدر فيه التانين وكذلك مرحلة النمو أو طور نمو الثمار. كما إن الظروف البيئية المحيطة بالنبات قد تكون ذات أثير معنوي علي محتواه من هذه المواد.

وتخليق التانينات في الثمار أو الأنسجة النباتية يبدأ من حامض الشكميك. والتانينات من المركبات التي لها فوائد طبية عديدة ومثبتة بواسطة العديد من الدراسات الأكاديمية نختصر ذكر بعضها فيما يلي:

- الثمار المحتوية علي نسبة عالية من التانينات تستخدم في حالات إيقاف الإسهال
- التانينات يذكر البعض أن لها فائدة عالية في تقوية عضلة القلب
- مفيدة في تنشيط الدورة الدموية





علي اليمين رمز حامض الجاليك Gallic acid (Hydrolyzable tannins)

وعلي اليسار رمز الفلافون Flavone (Condened tannins)

تقدير التانينات في الثمار:

الطريقة الأولى: طريقة الترسيب

وتتلخص خطوات هذه الطريقة في التالي:

- يتم تجفيف العينات الثمرية في فرن تجفيف ذات دفع هوائي على درجة حرارة 50 درجة مئوية حتى تمام التجفيف ويؤخذ الوزن وتحسب نسبة الرطوبة ثم تطحن العينات جيدا وتخزن في زجاجات لحين التقدير.
- يتم وزن 2 جم من العينة المجففة والمطحونة جيدا وتوضع في كأس زجاجي يتحمل الحرارة العالية

- يتم استخلاص التانينات الموجودة في العينة عن طريق الذوبان في الماء المقطر الساخن مع التقليب والغليان لمدة ساعة
- ثم يتم الترشيح على ورق ترشيح عديم الرماد Whatman No.4
- يأخذ الراشح ويسخن حتى الغليان ويضاف له 30 ملى من خلات النحاس 5% مع التحريك لمدة طويلة (نصف ساعة)
- يتم الترشيح على ورق ترشح عديم الرماد ويجمع الراسب الموجود على ورقة الترشيح ويكون عبارة عن تانينات النحاس
- يغسل الراسب بالماء المقطر عدة مرات وهو على ورقة الترشيح للتخلص من عنصر النحاس وكذلك خلات النحاس الذائدة
- يتم حرق الراسب الموجود على ورقة الترشيح في فرن حراري
- بعد الحرق يضاف 5 نقط من حامض النيتريك المركز للتخلص من أكسيد النحاس المتبقي ويستمر الحرق حتى يثبت وزن الراسب المحروق
- تحسب نسبة التانينات علي أساس نسبة أكسيد النحاس المنفرد :

حيث أن كل 1 جم من أكسيد النحاس تعادل ١,٢٠٥ جرام تانين

الطريقة الثانية: الطريقة الحجميه

وهذه الطريقة تعتمد على قابلية التانينات للتأكسد. بالتالي يمكن استخدام مادة مؤكسدة مثل برمنجانات البوتاسيوم المعلومة العيارية وتستخدم في المعايرة ومنها نحسب نسبة التانينات في العينة.

المحاليل المطلوبة للتقدير:

- محلول برمنجانات البوتاسيوم $KMnO_4$ قوته ٠,٤ عياري ويحضر بإذابة ٥,٣٢ جرام من برمنجانات البوتاسيوم في كمية من الماء المقطر ويكمل الحجم إلى 1 لتر بالماء المقطر.

- محلول الأنديجو كارمن Indigo Carmen : يحضر بذوبان ١.٥ جرام من الأنديجو كارمن الخالي من أزرق الأنديجو في لتر من الماء المقطر المحتوى على 50 ملى من حامض الكبريتيك المركز H_2SO_4
- محلول الجيلاتين: ويتم تحضيره عن طريق نقع 25 جرام من الجيلاتين في محلول مشبع من كلوريد الصوديوم لمدة ساعة مع التقليب. ثم يتم التسخين حتى يختفي الجيلاتين ويذوب ثم يبرد المحلول ويكمل الحجم بمحلول كلوريد الصوديوم المشبع إلي 1 لتر.
- محلول كلوريد الصوديوم المشبع المحمض: ويحضر بإضافة 25 ملى H_2SO_4 المركز إلى ٩٧٥ ملي من محلول كلوريد الصوديوم المشبع.

طريقة التقدير:

- يتم تنقية العصير الطازج للثمار وترشيحه.
- ويؤخذ من ١٠ إلى ٢٠ ملى من العصير يضاف عليها 20 ملى من محلول الأنديجو كارمن ثم يضاف من ٥٠٠ إلى ٧٠٠ ملى من الماء مقطر.
- يتم التنقيط من السحاحة المملوءة ببرمنجانات البوتاسيوم ٠.٤ عياري نقطة بنقطة حتى نحصل على اللون الأصفر الشفاف أو الصافي (أو البني الفاتح) عندها تسجل قراءة السحاحة ولتكن A وهذه القراءة تكافئ كل المركبات التانينية الكلية الموجودة في العصير.
- يتم أخذ 50 ملى من العصير المرشح الرائق في دورق معياري 250 ملى ثم يضاف لهم 25 ملى من محلول الجيلاتين ويكمل الحجم حتى العلامة بمحلول كلوريد الصوديوم المشبع المحمض.
- يتم نقل محتويات الدورق إلي دورق مخروطي ويضاف قليل من مادة مساعدة للترشيح مثل Little filter aid, Kaolin Kieselguhror cel .
- يتم الرج لمدة 30 ثانية ثم الترشيح.

- يؤخذ 50 ملى من الراشح (تحتوى على 10 ملى من العصير) يتم أضافه 20 ملى من الأنديجو كارمن ثم يضاف حوالي ٥٠٠ إلى ٧٠٠ ملى من الماء المقطر.
- يتم المعايرة ببرمنجانات البوتاسيوم ٠,٤ عياري حتى نقطة التعادل كما سبق شرحه وعندها تسجل قراءة السحاحة ولتكن B وهذه القراءة تمثل المواد الغير تانينية.
- يتم حساب كمية البرمنجانات اللازمة لأكسدة التانينات النقية أو الحقيقية بطرح الـ B من الـ A ونرمز لها بالرمز Y.

طريقة الحساب Calculation

القراءة A تكافئ المواد التنينية الكلية في العصير Total tannin like materialy

القراءة B تكافئ المواد الغير التنينية في العصير Non tannin materials

قيمة الـ Y تساوي A – B وتكافئ المواد التنينية الحقيقية True tannins في العصير

1 ملي من $KMnO_4$ ١,٠ عياري تكافئ 42 مجم تانين نقى في صورة حامض الجالونيك

1 ملي من $KMnO_4$ ٠,١ عياري تكافئ ٤,٢ مجم تانين نقى في صورة حامض الجالونيك

1 ملي من $KMnO_4$ ٠,٠١ عياري تكافئ ٠,٤٢ مجم تانين في صورة حامض الجالونيك

$$\%.\ of\ .Tannins \quad \cdots = \frac{Y \times 0.42}{L \times 100}$$

حيث الـ Y هي الفرق بين الـ A و B و الـ L حجم العصير المأخوذ للتقدير

الطريقة الثالثة: التقدير اللوني للتانينات

وتبنى هذه الطريقة على أساس قياس تركيز اللون الأزرق الناتج عن اختزال حامض الفوسفوتنجستون موليبديك Phosphotungston molybdic acid عن طريق المركبات التنينية أو المركبات الشبيه بالتانينات.

المحاليل المطلوبة للتقدير :

- **دليل Folin-Denis:** يحضر بإذابة 100 جرام تنجستات الصوديوم($Na_2WO_4.2H_2O$) في 750 ملى ماء مقطر + 20 جرام حمض فوسفوموليبديك مع إضافة 50 ملى حمض فوسفوريك (H_3PO_4) ٨٥٪ ويعاد تدفق المخلوط تحت مكثف عاكس لمدة ساعتان. ثم يبرد المخلوط إلي درجة حرارة 25 درجة مئوية ويكمل الحجم إلي لتر بالماء المقطر
- **محلول مشبع من كربونات الصوديوم:** يذاب 35 جرام كربونات الصوديوم اللامائية في 100 ملى من الماء المقطر يسخن إلي درجة ٧٠ إلى ٨٠ درجة مئوية مع التقليب لتمام الذوبان ويترك ليبرد خلال الليل ويسحب المحلول الرائق في الصباح للاستخدام.
- **محلول قياسي من حامض التانيك:** يذاب 100 مجم من حامض التانيك في دورق معياري سعته لتر ويكمل الحجم إلي العلامة بالماء المقطر (كل 1 ملى من هذا المحلول يحتوى على ٠.١ مجم حمض تانيك) ويحضر هذا المحلول طازجاً ولا يتم تخزينه.

عمل المنحنى القياسي :

في دوارق معيارية سعتها 100 ملى تحتوى على 75 مل ماء مقطر تؤخذ تركيزات مختلفة من محلول حامض التانيك القياسي (من 0 : 10 مل) يضاف على الدورق 5 ملى من دليل Folin-Denis ثم 10 ملى من محلول كربونات الصوديوم ويكمل

الحجم إلي 100 ملى بالماء المقطر. يتم المزج جيدا ويترك لمدة نصف ساعة ثم يقاس تركيز اللون على جهاز الـ Spectrophotometer على طول موجي 760 نانوميتر.

تجهيز العينة وطريقة التقدير :

يتم الحصول على العصير الرائق للثمار وتخفيفه بحيث لا يزيد تركيز التانينات بها عن ٠.١ مجم وفى حالة زيادة تركيز التانينات كما في الثمار الغير ناضجة يتم التخفيف. يؤخذ من 1 إلي 5 ملى من الراشح في دورق معياري 100 ملى ويكمل الحجم ويقاس تركيز اللون على جهاز الـ Spectrophotometer على طول موجي 760 نانوميتر. ويحسب التركيز من على المنحنى القياسي وتطبق المعادلة التالية.

طريقة الحساب Calculation

$$\%.\tan nin.as.\tan nic.acid = \frac{mg.\tan nic.acid \times 100}{1000 \times W \times L}$$

حيث الـ W هي وزن العينة بالجرام و الـ L هو حجم مستخلص العينة المأخوذة للتقدير بالملي

الألـــياف النباتيـــة
Crude fiber

تعد الألياف من المكونات النباتية الهامة والتي أوضحت الدراسات أن لها أهمية غذائية وصحية للإنسان وسوف نتعرض هنا بشيء من الشرح لمكونات الألياف النباتية. والألياف النباتية هي الجزء الذي لا يهضم في الأمعاء الدقيقة للإنسان بفعل الأنزيمات الهاضمة. أي أن روابطها الجليكوسيدية تقاوم التحلل. ولكن يمكن تقسيمها إلى ألياف ذائبة وهي التي تمتص الماء وتكون مزيج غروي مثل الصموغ والبكتين وألياف غير ذائبة مثل السليلوز والهيمي سليلوز واللجنين وهي لاتتشرب بالماء.

والألياف مكون رئيسي في العديد من ثمار الخضر والفاكهة وكذلك الحبوب والبقول. والألياف لا تساهم في مد الإنسان بالعناصر الغذائية ولكن لها دور فسيولوجي هام في تغذية الإنسان، ووفقا لما ذكرته العديد من المراجع الغذائية والطبية فأن هذا الدور يمكن تلخيصه كالتالي:

- تعمل علي الإحساس بالشبع حيث تتشرب بالماء ويزداد حجمها كما أن الألياف الذائبة تزيد من لزوجة الكتلة الغذائية بالمعدة مما يجعل الإنسان يشعر بالشبع لمدة طويلة بالتالي هي جيدة الاستخدام في برامج التخسيس
- تقلل الألياف من تكوين الجيوب أو الحويصلات علي جدار القولون بالتالي تقلل من فرصة الإصابة بسرطان القولون. كما أنها تحسن من حركة الأمعاء الدقيقة وتقلل من أعراض القولون العصبي.
- لا تحتوي الألياف علي عناصر الغذائية كما أنها لا تمد الجسم بالطاقة بالتالي هي مفيدة في برامج التخسيس ومعالجة البدانة.
- تحمي الإنسان من الإصابة بأمراض القلب والشرايين حيث تقلل من نسبة الكوليسترول والدهون بالدم مما يقي الإنسان من الإصابة بتصلب الشرايين
- تعد الألياف من المواد المانعة للإمساك وتعمل علي تنظيم خروج الفضلات الغذائية.

- وجود الألياف يعمل علي امتصاص الأصول الحرة وأرتباطها معها مما يقلل من تأثيرها الضار عل صحة الإنسان.
- تعمل علي خفض معدل أو نسبة السكر في الدم بالتالي تقلل من الأصابة بمرض السكر. كما إنها مفيدة لمرضي ضغط الدم.

وعموما يمكن تقسيم الألياف إلى ألياف غذائية غير ذائبة وتشمل السليولوز Cellulose والهيمي سليلوز Hemi cellulose واللجنين Lignins وألياف ذائبة وتشمل المركبات البكتينية والتي تتحد مع السليولوز لتكون البروتوبكتين والصموغ . والجدول التالي يوضح محتوي بعض ثمار الفاكهة والخضر من الألياف مقدرة بالجرام لكل ١٠٠ جرام

الفاكهة أو الخضر	نسبة الألياف جم/١٠٠ جرام
التمور الجافة	٨,٩٠
ثمار البرتقال	٢,١٠
ثمار الفراولة	٢,١٦
ثمار الخوخ	٢,٣٠
ثمار الأناناس	١,٠٣
البرقوق المجفف	١٦,٠
ثمار التفاح	٢,٤٠
ثمار الموز	١,٧٥
ثمار التين	٢,٥٠
ثمار التين المجففة	١٨,٥
ثمار العنب	٠,٩٠
بسلة خضراء طازجة	٧,٩٠
فاصوليا خضراء طازجة	٣,٢٨
الكرنب	٢,٤٧
الجزر الطازج	٢,٩٠
ثمار الطماطم	١,٥٠
البطاطا	٣,٩٠

تقدير الألياف Crude fiber determination

- يتم تجفيف الثمار وطحنها وأخذ عينة ممثلة منها حوالي ٥ جرام (يجب أن تكون العينة خالية من الدهون) وتوزن بدقة وتوضع في كأس حجمه ٥٠٠ ملي ويضاف عليها ٢٠٠ ملي من حامض الكبريتيك المغلي تركيزة ٠,٢٥٥ عياري (١,٢٥% وزن / حجم).

- يغلي المخلوط لمدة ٣٠ دقيقة مع جعل الحجم ثابت باستمرار وذلك عن طريق تعويض الفاقد بإضافة الماء المقطر. ثم يتم ترشيح المخلوط باستخدام وسادة قطنية مع الغسيل عدة مرات بالماء الساخن للتخلص من بقايا الحامض ويستقبل الراشح في دورق مخروطي .

- يأخذ الراسب وينقل كميا إلى الدورق السابق استخدامه ويضاف عليه ٢٠٠ ملي من محلول الصودا الكاوية المغلي تركيزة ٠,٣١٣ عياري (١,٢٥ % وزن / حجم) ويتم الغلي لمدة ٣٠ دقيقة مع جعل الحجم دائما ثابت بتعويض الفاقد عن طريق إضافة الماء المقطر.

- يتم الترشيح علي قماش قطني سميك (وسادة قطنية) مع الغسيل عدة مرات باستخدام الماء الساخن للتخلص من بقايا الصودا الكاوية ثم يتم الغسيل بالكحول والأيثير. وينقل الراسب كميا إلى بوتقة.

- توضع البوتقة داخل فرن حراري علي درجة حرارة تتراوح من ٨٠ إلى ١٠٠ درجة مئوية وتجفف خلال ليلة كاملة. تخرج البوتقة وتوزن ويسجل وزن الراسب ويرمز له بالرمز We .

- تنقل البوتقة إلى فرن إحتراق حراري muffle furnace وتضبط درجة الحرارة علي ٦٠٠ درجة مئوية لمدة ٢ إلى ٣ ساعات وذلك للحصول علي الرماد. ثم تترك لتبرد ويسجل الوزن والذي يرمز له بالرمز Wa والتي تمثل وزن الرماد

- ويتم حساب وزن الألياف الخام بطرح قيمة Wa من قيمة We ويتم حساب وزن الألياف بالجرام لكل ١٠٠ جرام عينة نباتية من المعادلة التالية:

$$Crude\ .fiber\ .g\ /100 = \frac{((100 - (F + W)) \times fibre\ .wight\ )}{wight\ .of\ .sample\ .(\ free\ .of\ .water\ .and\ .fat\ )}$$

حيث الـ F عبارة عن محتوي العينة من الدهون، و الـ W محتوي العينة من الرطوبة

النشا في عينات الثمار
Starch

النشا عبارة عن مركب كربوهيدراتي وهو إحدى السكريات العديدة المتجانسة (Homo polysaccharides) ويتكون من ارتباط العديد من وحدات الجلوكوز مع بعضها في صورة سلسلة. ويتحلل النشا مائيا إلى وحداته الرئيسية (الجلوكوز) بواسطة أنزيم الأميليز .وفي بعض الثمار يعد اختفاء النشا أو انخفاض تركيزة بدرجة كبيرة مؤشر جيد على اكتمال نمو الثمار أو نضجها وإمكانية قطفها دون حدوث ضرر فسيولوجي للثمار كما في ثمار التفاح. وفي ثمار الموز في أصناف الاستهلاك الطازج يعد اختفاء النشا أو انخفاض تركيزة بدرجة كبيرة أهم المقاييس لصلاحية الثمار للاستهلاك.

تقدير النشا في الثمار

Determination of Starch

الطريقة الأولي

تعتمد الفكرة الرئيسية في تقدير النشا على تحلله في الوسط الحامضى (في وجود حامض الـ HCl) إلى الجلوكوز حيث تعطى كل 9 جزيئات نشا 100 جزئ من الجلوكوز.

$$(C_6H_{10}O_5)_n + H_2O \xrightarrow{\text{أنزيم الأميليز}} n\,(C_6H_{12}O_6)$$

وطريقة التقدير كالتالي:

- يتم خلط 5 ملى من عصير الثمار النقي مع 50 ملى من الماء المقطر في كأس زجاجي وتمزج جيدا
- يتم الترشيح مع الغسيل بالماء المقطر 3 مرات
- ينقل الراسب كميا إلى دورق مخروطي 250 ملى ويضاف 50 ملى من الماء المقطر ثم 20 ملى من حامض HCl مركز ويترك الدورق على حمام مائي لمدة ساعة ثم يترك ليبرد
- يتم معادلة الزيادة من HCl باستخدام NaOH بتركيز ٢٥ % في وجود دليل ألفينول فيثالين PhTh ويكمل الدورق إلي الحجم 250 ملى بالماء المقطر
- يتم تقدير السكريات المختزلة في المستخلص بطريقة Lane and Eynon ومنها تحسب نسبة النشا

النسبة المئوية للنشا = نسبة السكريات X ٠,٩

والـ ٠,٩ تسمي بمعامل التحويل.

الطريقة الأنزيمية لتقدير النشا

وهذه الطرق تبني علي فكرة أجراء جلتنة للنشا بالماء علي درجة حرارة مرتفعة ثم يتحلل النشا مائيا إلى جلوكوز حر باستخدام إنزيم الأميليز أو الأميلوجليوكوزيداز علي درجة حرارة 55 إلى ٦٠ درجة مئوية في وسط حامضي. وبعد ذلك يتم تقدير الجلوكوز الحر الناتج

ونذكر من الطرق الأنزيمية الطريقة التالية والمستخدمة في معامل الـ Boehringer Mannnhein بفرنسا وتفاصيلها كالتالي:

الأساس العلمي للطريقة

أنزيم الأميلوجليكوزيداز Amyloglucosidase (AGS) ينشط تحلل النشا إلى جلوكوز في الوسط الحامضى (pH = ٤.٦) والجلوكوز الناتج بواسطة ATP يعطي جلوكوز- ٦ - فوسفات وفقا للمعادلات التالية:

$$(1)\ \text{Amidon} + (n-1)\ H_2O \xrightarrow{AGS} n\ \text{glucose}$$

$$(2)\ \text{Glucose} + ATP \xrightarrow{HK} \text{G-6-P} + ADP$$

وفي تفاعل ينشطه أنزيم جلوكوز- ٦- فوسفات ديهيدروجينيز (G6P - DH) glucose-6-phosphate dehydrogenase يتم تحويل G-6-P إلى جليكونات – ٦ - فوسفات gluconate-6-phosphate في وجود أنزيم الـ nicotinamide-adenine-dinucleotid (NADPH) في صورة مختزلة كما في المعادلة التالية:

$$(3)\ \text{G-6-P} + NADP^+ \xrightarrow{G6P\text{-}DH} \text{gluconate-6-phosphate} + NADPH + H$$

ومعدل تكوين الـ NADPH يتم تقديره عن طريق الزيادة في الامتصاص الضوئي بالأسبكتروفوتوميتر علي طول موجي مقداره ٣٣٤ نانوميتر (ويمكن أيضا استخدام الطول الموجي ٣٦٥ نانوميتر في هذا التقدير) وهذه الزيادة تتناسب مع كمية الجلوكوز المتحرر بالتالي تتناسب مع تركيز النشا الموجود بالعينة.

ملحوظة: في حالة الثمار المحتوية علي جلوكوز حر مثل ثمار العنب يجب تقدير الجلوكوز الحر أولا حتى لا يدخل في التقدير. كما أن البكتين المتحد مع الفوسفور أو المؤكسد لا يدخل في هذا التقدير.

الكيماويات وتحضير المحاليل:

- **المحلول رقم (١)**: في زجاجة نظيفة يتم وضع ١٠٠ ملجم في صورة مجفدة من محلول منظم من السترات pH = ٤,٦ + أنزيم أميلوجليكوزيداز في حدود ٨٤ U (وحدة) وتذاب هذه الكمية في ٦ ملي من الماء المقطر.
- **المحلول رقم (٢)**: ٥ جرام من محلول منظم من الـ triethanolamine رقم الـ pH = ٧,٦ + ٦٤ ملجم من أنزيم الـ NADP + ١٦٠ ملجم من الـ ATP ، وتذاب المحتويات في ٢٧ ملي من الماء المقطر النقي.
- **محلول رقم (٣)**: ويتكون من ٠,٧ ملي من معلق أنزيمي مكون من ١٠٠ U (وحدة) من أنزيم Glucose-6-phosphate-dehydrogenase + ٢٠٠ U (وحدة) من أنزيم الـ Hexokinase هكسوكينيز. ويستخدم هذا المعلق دون تخفيف.

أجراء التجربة وكيفية التقدير:

- يتم تشغيل جهاز الأسبكتروفوتوميتر ويضبط الطول الموجي أما علي ٣٤٠nm أو 365nm حيث يمكن القياس علي كلا الطولين.
- الخلية المستخدمة في الجهاز (كيوفت) قطرها ١سم.
- درجة حرارة التجربة ٥٥ إلى ٦٠ درجة مئوية.
- الحجم النهائي للمحلول المستخدم للتقدير = ٢,٣٢ ملي.
- حجم العينة المأخوذة يتراوح من ٠,١ إلى ١ ملي عصير ثمار.
- يتم ضبط الجهاز قبل القراءة باستخدام الماء المقطر أولا بدلا من العينة.
- يتم أعداد العينات والمحلول القياسي (معلوم التركيز) كما بالجدول التالي:

الكمية المأخوذة	المحلول القياسي	العينة
محلول رقم (١)	٠,٢ ملي	٠,٢ ملي
عينة عصير	- - -	٠,١ ملي
ماء مقطر	٠,١	- - -
يتم الرج جيدا دون أحداث فقاعات وتغلق الزجاجات جيدا وتوضع في حمام مائي علي درجة حرارة من ٥٥ إلى ٦٠ درجة مئوي لمدة ١٥ دقيقة		
محلول رقم (٢)	١,٠ ملي	١,٠ ملي
ماء مقطر	١,٠ ملي	١,٠ ملي
يتم الرج دون أحداث فقاعات وتترك لمدة ٣ دقائق ثم تقرأ علي الأسبكترو ويدون الامتصاص ونرمز له بالرمز (A_1)		
محلول رقم (٣)	٠,٠٢ ملي	٠,٠٢ ملي
يتم الرج وتترك مدة ١٠ إلى ١٥ دقيقة لأتمام التفاعل ثم تأخذ قراءة الجهاز وتدون (A_2) . في حالة عدم التأكد من انتهاء التفاعل يتم القياس كل ٥ دقائق حتى نحصل علي نفس القراءة مرتين متتاليتين.		

يتم تقدير الفرق في امتصاص الضوء المأخوذ من قراءات الجهاز لكل من المحلول القياسي والعينة ويرمز له بالرمز ΔA

$$\Delta A_{sample} = (A_2 - A_1)$$
$$\Delta_{\ stander\ solution} = (A_2 - A_1)$$
$$\Delta A = (\Delta A_{\ sample} - \Delta A_{\ stander\ solution})$$

وفي حالة أن تكون قيمة الـ ΔA قليلة جدا (أقل من ٠,١) يعاد أجراء التجربة مع أخذ كمية أكبر من العينة (مضاعفة حجم العينة).

ويتم حساب تركيز النشا بالجرام / اللتر من المعادلة التالية:

$$C = \frac{V \times PM}{\varepsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta\ Ag \quad / \ L$$

علما بأن الـ V عبارة عن حجم الاختبار (٣,٢٣ ملي) والـ V عبارة عن حجم العينة (٠,١ ملي) PM الوزن الجزيئي للنشا (PM للجلوكوز – PM للماء) = ١٦٢,١ والـ d عبارة عن قطر الكيوفيت المستخدم للجهاز (١ سم) والـ ϵ عبارة عن معامل الامتصاص لـ NADPH علي ٣٤٠ نانوميتر = ٦,٣، وعلي ٣٦٥ نانوميتر = ٦,١٨

بعد التعويض تصبح المعادلة كالتالي:

$$C = 3.761 \times \frac{\Delta A}{\varepsilon} \cdots g / L$$

وفي حالة زيادة نسبة النشا في الثمار بدرجة كبيرة كما في ثمار الموز النشوي أو الموز الغير ناضج يجري تخفيف للعصير علي حسب نسبة النشا كالتالي:

نسبة النشا في العصير		معامل التخفيف
في حالة طول موجي 340nm	في حالة طول موجي 365nm	
أقل من ٠,٤ جم/اللتر	أقل من ٠,٧ جم / اللتر	١ (لا يتم تخفيف)
من ٠,٤ إلى ٤ جم/اللتر	٠,٧ إلى ٧ جم/اللتر	١٠
من ٤,٠ إلى ٤٠ جم/اللتر	٧,٠ إلى ٧٠ جم/اللتر	١٠٠
أكبر من ٤٠ جرام/اللتر	أكبر من ٧٠ جم/اللتر	١٠٠٠

تقدير نسبة السليلوز في الثمار

Determination of Cellulose

السليلوز إحدى المكونات الرئيسية للألياف النباتية وهو من المركبات التي لا يتم هضمها بفعل العصارات الهاضمة في الجهاز الهضمي للإنسان. والسليلوز مادة لا تذوب في الماء ويدخل في تركيب جدر الخلايا النباتية. ويتكون السليولوز من سلسلة مستقيمة من الجلوكوز مرتبطة ببعضها بروابط من النوع β ١- ٤ . ويتحلل السليولوز بفعل الحرارة في الوسط الحامضى إلى الوحدات الأساسية في التركيب (الجلوكوز).

ويتم تقدير السليولوز كالتالي:

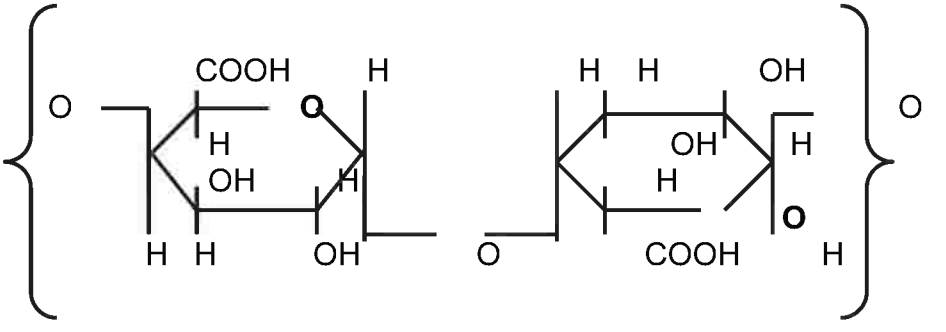
- يتم تجفيف عينة الثمار في فرن علي درجة حرارة 70 درجة مئوية
- بعد تمام التجفيف يتم طحن العينة جيدا
- يوزن 1 جرام من البودرة الناتج عن الطحن وتوضع في كأس زجاجي
- يضاف للكأس 15 ملي من حامض الخليك تركيزة 80 % ثم يضاف ١.٥ ملي من حامض النيتريك المركز
- يتم وضع الكأس علي السخان ويترك حتى يغلي ثم يترك بعدها ليبرد
- يضاف لمحتويات الكأس 20 ملي من كحول الأيثايل ويترك الكأس فترة ثم يرشح من خلال بوتقة جوش
- يغسل الراسب بكحول الأيثايل وأيثيل الأيثير عدة مرات
- يتم تجفيف الراسب في فرن علي درجة حرارة 100 مئوية ويوزن بعد أن يبرد
- يتم حرق الراسب الجاف في فرن حراري للحصول علي الرماد
- يترك الرماد ليبرد ثم يأخذ وزنة

$$\text{النسبة المئوية للسليولوز} = \frac{\text{وزن الراسب بعد التجفيف} - \text{وزن الرماد بعد الحرق}}{\text{وزن العينة بالجرام}} \times 100$$

البكتين في عينات الثمار
Pectin

البكتين مركب هام جداً لثمار الفاكهة وكذلك للصناعات الغذائية القائمة علي هذه الثمار مثل صناعة المربات و الجيلى والعصائر والمرملاد حيث يعطيها القوام المتماسك المطلوب. والبكتين يحتوى على مركبات متنوعة ومختلفة على حسب المصدر المأخوذ منة فنجد أن البكتين المستخلص من البنجر يحتوى على مجموعة الأستيل Acetyl group والتي تثبط تكوين الجيلى. في حين أن البكتين المستخلص من الفاكهة يتنوع في محتواه من الميثوكسيل Methoxyl وبالتالي في قوة ثبات الجيلى المتكون (Ranganna 1977). والميثوكسيل تكون حوالي ٦٥ ٪ أو أكثر من تركيب الجيلى. والبكتين المحتوى على نسبة قليلة من الميثوكسيل ٧ ٪ أو أقل يكون جيلي عالي في محتواة من السكر بالتالي ذات محتوى حراري عالي. ينما المفضل من حيث الصحة العامة وبرامج التغذية هو الجيلى المنخفض في السكر. وأجريت عديد من الدراسات على تحويل الجيلى المحتوى على نسبة عالية من السكر إلى جيلي منخفض في محتواة من السكر باستخدام الأنزيمات ولكن أدي هذا قلة ثبات الجيلى المتكون وكذلك انخفاض القدرة على تكوين الجيلى.

رمز جزيء حامض البكتيك



والبكتين يعطى الثمار الصلابة والتماسك اللازم للب. حيث يكون في صور بكتين غير ذائب في البداية وبتقدم عمر الثمار يتحول إلى بكتين ذائب. وهذا ما يجعل أنسجة الثمار تزداد في الليونة وتقل صلابتها بتقدم عمر الثمرة. كما أن تركيز البكتين يكون أعلى في موضع اتصال الثمرة بالعنق مما يمنع الثمار من التساقط ويتناقص تدريجيا هذا التركيز عند النضج.

تقدير البكتين في الثمار Determination of Pectin

الطريقة الأولى (تقدير في صورة حامض البكتيك)

وقد وضعت هذه الطريقة لتقدير البكتين ثمار وعصائر العنب وكذلك المشروبات المصنعة منه. خطوات هذه الطريقة هذه الطريقة كما وضحها Ough and Amerine (1987) بجامعة كاليفورنيا بالولايات المتحدة الأمريكية تتلخص في التالي:

- يتم تركيز 100 ملى من العصير في دورق مخروطي حتى نصل إلى حجم 25 ملى فقط (يتم إضافة ٨ إلى ١٢ ملى من السكروز في حالة الخمور الجافة الغير محتوية على سكر).
- يتم التبريد وإضافة 200 ملى من كحول الأيثانول ٩٥ % ونتيجة لإضافة الكحول يحدث ترسيب.
- يتم الترشيح على ورق ترشيح عالي الجودة Whatman paper No. 4 مع الغسيل بالأيثانول ٨٥ %.

- ينقل الراسب نقلا كميا إلي الدورق المستخدم أولاً مع الغسيل بالماء المقطر الساخن عدة مرات أثناء النقل.
- يتم تركيز محتويات الدورق حتى يصل الحجم إلى 40 ملى .
- ثم يتم تبريد العينة إلي درجة حرارة 25 درجة مئوية. في حالة ظهور بعض الرواسب الغير ذائبة يتم التحريك بلطف حتى الذوبان، وفى حالة عدم ذوبان الرواسب التي تظهر يتم إضافة بعض قطرات من حامض الهيدروكلوريك المخفف (1 من الحامض : ٢.٥ ماء مقطر) مع التحريك
- ويترك المحلول حتى يبرد إلى درجة 25 درجة مئوية وعندها يتم إضافة 50 ملى من محلول هيدروكسيد الصوديوم المحضر كالتالي : 10 جم من هيدروكسيد الصوديوم + 100 ملى ماء مقطر يؤخذ من هذا المحلول ٢ إلى ٥ ملى وتخفف بالماء المقطر إلى 50 ملى في دورق معياري.
- يترك المستخلص لمدة 15 دقيقة ثم يضاف 40 ملى ماء مقطر ثم يضاف 10 ملى من حامض الهيدروكلوريك ويتم الغليان لمدة 5 دقائق
- يتم الترشيح مع غسيل الراسب المتكون (حامض بكتيك) بالماء الساخن لأزاله بقايا الحامض ويراعى ألا يزيد حجم محلول الغسيل بأي حال من الأحوال عن 500 ملى
- وفي هذه المرحلة نجد أن سرعة الترشيح سوف تكون عالية والراشح سوف يكون رائق (في حالة وجود راشح متعكر فأن عملية التصبن لم تكن كاملة أو إن درجة الحرارة ارتفعت عن ألازم وفى هذه الحالة يجب أعاده التصبن يتم التبريد إلى 25 درجة ويضاف القلوي ثم الحامض ويتم الغليان كما سبق) وفي بعض الثمار الأخرى يمكن استخدام كمية أكبر من الحلول القاعدي مع درجة حرارة أقل.
- بعد غسيل حامض البكتيك ينقل إلى جفنه صيني ويتم التجفيف في الفرن حتى ثبات الوزن. ويدون وزن الراسب والذي يمثل حامض البكتيك ومنة نحسب نسبة البكتين في العينة.

الطريقة الثانية (تقدير في صورة حامض بكتيك)

ومرجع هذه الطريقة هو Owens et al., (1987) في مركز بحوث Western Regional Research بالولايات المتحدة الأمريكية وتم وضع هذه الطريقة أيضا للاستخدام في ثمار و العنب والثمار المشابهة

وخطوات هذه الطريقة كالتالي :

- يتم ضرب العينات الطازجة في خلاط ويوزن منها 100 جم من العصير (في حالة العينات الصلبة تطحن ويؤخذ منها وزن مقداره 10 جم).
- توضع العينة في كأس سعته واحد لتر ثم يوضع معها 400 ملى من الماء المقطر.
- يتم إضافة ٢,١ جم من هكسا ميتا فوسفات الصوديوم ويضبط رقم الـ pH على ٤,٥ (وذلك باستخدام الصودا الكاوية ١ عياري أو حامض الستريك ١ عياري) ثم يتم التسخين على درجة حرارة مقدارها ٩٠ إلى ٩٥ درجة مئوية مع التقليب لمدة ساعة مع استبدال الماء المتبخر في أثناء الغليان بماء مقطر ويتم التوقف عن إضافة الماء في أخر 20 دقيقة.
- يتم قياس الـ pH كل ربع ساعة ويضبط دائما على ٤,٥ إذا لزم الأمر بالصودا الكاوية أو بحامض الستريك.
- يتم إضافة 4 جم من منشط الترشيح و 4 جم من عجينه ورق الترشيح ويتم الترشيح على ورق ترشيح سريع مع إضافة منشط ترشيح وترطيب الورقة.
- يتم تجميع مالا يقل عن 200 ملى من الراشح ويفضل كله ويتم تبريد الراشح بأسرع وقت ممكن ويؤخذ الوزن ويسجل على الكأس.
- تركيز البكتين في هذا الراشح يجب ألا يكون أقل من ٠,٢ ٪ وفى حالة انخفاض تركيز البكتين عن ذلك يتم التركيز تحت البخار قبل أجراء عملية الترسيب.

- يتم التبريد والوزن ثم الترسيب باستخدام مخلوط الكحول الأيثانول مع الأيزو بروبانول أو باستخدام الأسيتون المحتوى على ٠,٥ مول من حامض الهيدروكلوريك (ورقم الـ pH هنا يتراوح من 1 إلى ٠,٧)
- يتم التحريك لمدة نصف ساعة، ثم الترشيح أو الطرد المركزي ويغسل الراسب مرة أخرى ويتم غسيل الراسب (باستخدام 400 ملى من الكحول ٧٠% أو الأسيتون ٧٠ %) حتى يتم خلو الراسب من أيونات الكلوريد وعندها يكون الـ pH حوالي ٤,٠ أو أكثر.
- يتم نزع الماء وذلك باستخدام 400 ملى من الأسيتون. يتم التجفيف بالبخار في الفرن يسمح بمرور تيار هواء جاف (5 mm hg pressure) خلال ليلة.
- في الصباح يتم وزن الراسب الذي هو عبارة عن حامض البكتيك وتحسب النسبة المئوية للبكتين في العينة ومنها نحسب تركيز البكتين بالملجم لكل ١٠٠ جرام عينة.

الطريقة الثالثة: تقدير البكتين لونيا

وهذه الطريقة مبنية على تفاعل حامض الجلاكتيرونيك (وهى الجزء الأساسي في جزئ البكتين) مع الكاربازول في وجود حامض الكبريتيك وتقدير اللون الناتج على طول موجي قدرة 525 نانوميتر. ووفقا للمراجع المستخدمة يتم الحساب في صورة أنهيدروجلاكتيرونك أسيد Anhydrogalacturonic acid، بكتيك أسيد، أوبكتات كالسيوم. وأن كان من المفضل التعبير عن النتائج في صورة أنهيدروجلاكتيرونك أسيد.

المحاليل المطلوبة

- كحول ايثانول تركيزة ٩٥ ٪ و كحول ايثانول تركيزة ٦٠ % (التخفيف يتم بالماء المقطر).

- كحول ايثانول منقى: ويحضر كالتالي يتم مزج لتر من الكحول تركيزة ٩٥ % مع 4 جرام من مسحوق الزنك ويضاف 2 ملى من حامض الكبريتيك المركز ويترك لمدة 15 ساعة ثم يتم التقطير في مقطرات زجاجية ويعاد التقطير باستخدام 4 جم من مسحوق الزنك و 4 جرام من هيدروكسيد البوتاسيوم
- محلولين من هيدروكسيد الصوديوم قوة الأول ١.٠ عياري و قوة الثاني ٠.٠٥ عياري.
- حامض كبريتيك مركز H_2SO_4
- محلول كاربازول Carbazole reagent قوته ٠.١ % : يتم إعادة بلمرة الكربازول من الطلوين Toluene ويتم وزن 100 ملجم من الكربازول المعاد بلمرتها وتذاب في 100ملى من الكحول النقي.

طريقة التقدير

- تكوين اللون المرجعي للبكتين: يتم وزن 100 ملجم من البكتين النقي وتذاب ويكمل الحجم إلي 100 ملى باستخدام محلول هيدروكسيد الصوديوم تركيزه ٠.٠٥ عياري، يترك المخلوط لمدة نصف ساعة دون رج أو تحريك. يتم تخفيف 2 ملى من هذا المحلول إلي 100 ملى باستخدام الماء المقطر ثم يتم قياس اللون
- تجهيز العينة Sample preparation : يتم أخذ 2 ملى من محلول البكتين في أنبوبة اختبار ويضاف 1 ملى من محلول الكاربازول (يبدأ في تكون عكارة بيضاء) يضاف 12 ملى من حامض الكبريتيك المركز مع عدم تحريك الأنبوبة. تغلق الأنبوبة بسدادة مطاط وتترك ثابتة لتكوين اللون لمدة 10 دقائق.
- **البلانك Blank**: تعامل كما في العينة (دون وضعالعينة النباتية) ويوضع مكان الكاربازول 1 ملى من الكحول المنقى. ويترك لمدة 15 دقيقة ثم يقدر اللون
- يتم قياس اللون للعينة والبلانك وكذلك التركيز القياسي على طول موجي قدرة 525 نانوميتر.

- **عمل المنحنى القياسي Standard curve**: بدقة يتم وزن ١٢٠.٥ ملجم من Anhydrogalacturonic acid monohydrate المجفف بالبخار لمدة 5 ساعات على درجة حرارة 30 درجة مئوية. وتوضع في دورق معياري سعة واحد لتر ثم يضاف 10 ملى من هيدروكسيد الصوديوم قوته ٠.٠٥ عياري ويتم إكمال الحجم إلي العلامة. يتم خلط هذا المزيج جيدا ويترك لمدة ليلة كاملة لاستخدامه في اليوم التالي. واحد ملى من هذا المحلول القياسي يحتوى على تركيز قدره 100 ميكروجرام من أنهيدرو جلاكتيرونك أسيد Anhydrogalacturonic acid. يتم تخفيف ١٠، ٢٠، ٤٠، ٥٠، ٦٠، ٨٠ ملى من المحلول القياسي إلي 100 ملى باستخدام الماء المقطر يتم أخذ ٢ ملى من كل من التركيزات السابقة ويقاس فيها تركيز اللون على طول موجي 525 نانوميتر. ويتم رسم المنحنى القياسي حيث يمثل المحور الأفقي تركيز الـ Anhydrogalacturonic acid والمحور الرأسي يمثل قراءة الجهاز.

- **حساب التركيز يتم كالتالي** : من على المنحنى القياسي يتم حساب تركيز الـ Anhydrogalacturonic acid في العينة والذي يقابل قراءة الجهاز

$$\%\, anhydrogal\ \ acturonic\ \ .acid = \frac{n \times D \times 100}{L \times w \times 1.000000}$$

حيث الـ n عبارة عن عدد الميكروجرامات من الـ Anhydrogalacturonic acid cturonic acid في المستخلص، و الـ D هي التخفيف الذي تم، و الـ L الحجم بالملي لنر المأخوذ للتقدير، و الـ W هي وزن البكتين في العينة.

الطريقة الرابعة: التقدير في صورة بكتات الكالسيوم

ومرجع هذه الطريقة هو (1977) Ranganna. وتتلخص فكرة هذه الطريقة في أن البكتين المستخلص من مصادر نباتية يحدث له تصبن مع القلويات ويترسب في صورة بكتات. بالتالي عند إضافة كلوريد الكالسيوم يترسب البكتين في وسط حامضي في صورة بكتات كالسيوم $C_{17}H_{22}O_{16}Ca$ التي يمكن تقديرها.

المحاليل المطلوبة

- حامض خليك قوته ١ عياري : ويحضر بإذابة 30 ملى من حامض الخليك الثلجي في 500 ملى من الماء المقطر.
- محلول كلوريد الكالسيوم قوته ١ عياري : يحضر بإذابة ٢٧.٥ جرام من ملح كلوريد الكالسيوم $CaCl_2$ اللامائي في الماء ويكمل الحجم إلي 500 ملى.
- محلول نترات الفضة تركيزة ١ % : ويحضر بإذابة 1 جرام من $AgNO_3$ في الماء المقطر ويكمل الحجم إلي 100 ملى بالماء المقطر.
- محلول حامض هيدروكلوريك تركيزة ٠.٠٥ عياري

طريقة التقدير

- يتم أخذ 50 جرام من العصير وتوضع في كأس سعته ١ لتر مع 400 ملى من حامض الهيدروكلوريك ٠.٠٥ عياري ويتم الاستخلاص على درجة حرارة من 80 إلى 90 درجة مئوية لمدة ساعتان مع تعويض الحجم المفقود بالماء خلال الاستخلاص.
- يتم التبريد ونقل المحتويات إلي دورق معياري حجمه 500 ملى ويكمل الحجم إلي العلامة بالماء المقطر. ثم يتم رج محتويات الدورق جيدا وترشح العينة على ورق

ترشيح Whatman paper No.4 ويستقبل الراشح في دورق مخروطي سعته 500 ملى

في بعض الحالات في ثمار الفاكهة والخضر (وذلك عند استخدام أجزاء من اللب) يفضل غلى العينة مع الماء المقطر أولا وبدون أي أضافه بهدف إذابة البكتين الغير ذائب ثم أجراء الاستخلاص بحامض الهيدروكلوريك قوته 0.1 والغليان لمدة نصف ساعة والترشيح مع غسيل الراسب بالماء الساخن والترشيح، ثم يتم إضافة حامض الهيدروكلوريك قوته ٠,٠٥ للراسب ويغلى لمدة 20 دقيقة ويتم الترشيح مرة أخرى وعلى الراسب يضاف حامض هيدروكلوريك قوته ٠,٣عياري ويغلى لمدة عشرة دقائق ويجمع الراشح السابق كله (في الثلاث مراحل للترشيح)

- بعدها يتم التبريد وتجفيف وتنقية البكتين كما في الطريقة السابقة.
- يتم وزن 200 مجم من البكتين المجفف في كأس سعته ١ لتر ثم يتم وضع ٢ إلى ٣ ملى من الكحول ويضاف 400 ملى من الماء المقطر مع رج الكأس يتم التسخين حتى الغليان ويترك المخلوط ليبرد ويتم النقل إلي دورق معياري 500 ملى ويكمل الحجم بالماء المقطر
- يتم أخذ حجم من ١٠٠ إلى ٢٠٠ ملى من الدورق السابق وتوضع في كأس حجمه لتر وتكرر مرة أخرى ويضاف لكل نهم 250 ملى ماء مقطر، ثم يتم معادلة الزيادة من الحامض باستخدام NaOH عياريتة ١ عياري مع الرج ويترك الكأسين حتى الصباح.
- يتم إضافة 25 ملى من محلول كلوريد الكالسيوم ١ عياري مع التقليب ويترك لمدة ساعة بدون تحريك وبعدها يتم الغليان لمدة دقيقتين.

- يتم الترشيح على ورق ترشيح Whatman No. 4 تم معاملته كالتالي : يغمر الورق في ماء مغلي ثم يجفف في الفرن على درجة حرارة 102 درجة مئوية لمدة ساعتان ويبرد ويوزن وهو مغطى بطبق زجاجي. ثم يتم غسيل الراسب بالماء المغلي حتى يتم التخلص من أيونات الكلوريد ويمكن اختبار ذلك بنترات الفضة.

- يتم أخذ ورقة الترشيح والتي عليها الراسب وهو عبارة عن بكتات الكالسيوم ونقلها في جفنه ووضعها في فرن على درجة حرارة 100 درجة مئوية، يتم التبريد في مجفف والوزن.

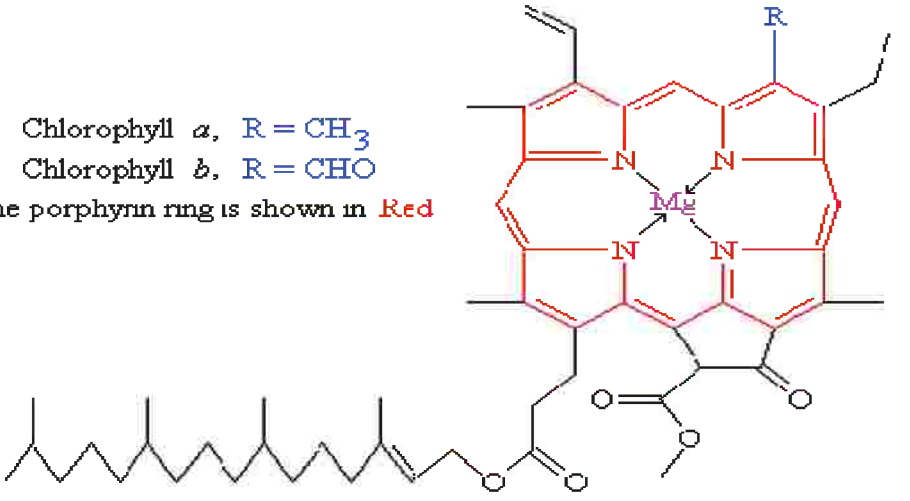
طريقة الحساب

$$\text{بكتات الكالسيوم} = \frac{(\text{وزن بكتات الكالسيوم} \times 500 \times 100)}{(\text{حجم الراشح المأخوذ} \times \text{وزن العينة النباتية})}$$

الصبغات النباتية الموجودة بالثمار

Plant pigments

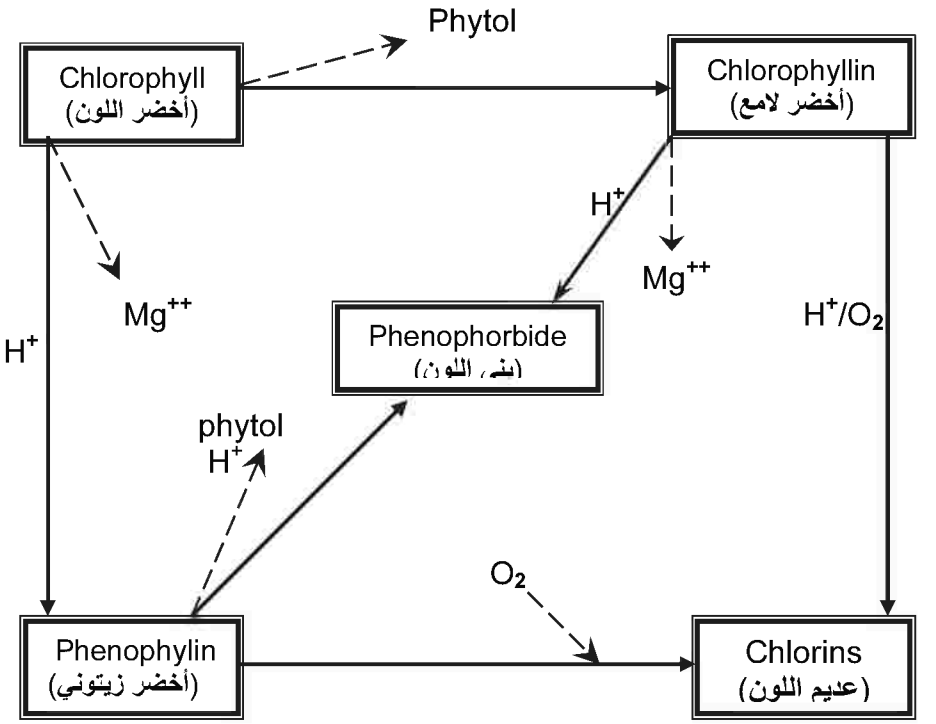
اللون المميز للثمار أو الخضراوات يرجع إلى وجود صبغات معينة بتركيزات مختلفة ينتج عنها ظهور اللون المميز للثمار. وتركيز هذه الصبغات مرتبط بعدة عوامل هامة سبق ذكرها في تقدير اللون في الثمار. وقد يختلف تلوين الثمار عند النضج علي حسب النوع والصنف. وهناك العديد من الثمار يحتفظ باللون الأخضر عند النضج مثل بعض أصناف المانجو والزبدية ونضيف إلى ذلك الخضر الورقية. بالتالي لابد من قياس تركيز الكلوروفيل حيث انه الصبغة المسؤولة عن اللون الأخضر للنبات وتوجد داخل البلاستيدات الخضراء هي المسئولة عن عملية البناء الضوئي، وبالتالي هي الفارق الجوهري بين الخلايا النباتية والحيوانية. والكلوروفيل ويوجد منه مركبين هما كلوروفيل أ وكلوروفيل ب ومجموعهم يعطى الكلوروفيل الكلى.



ورمز وتركيب جزيء الكلوروفيل

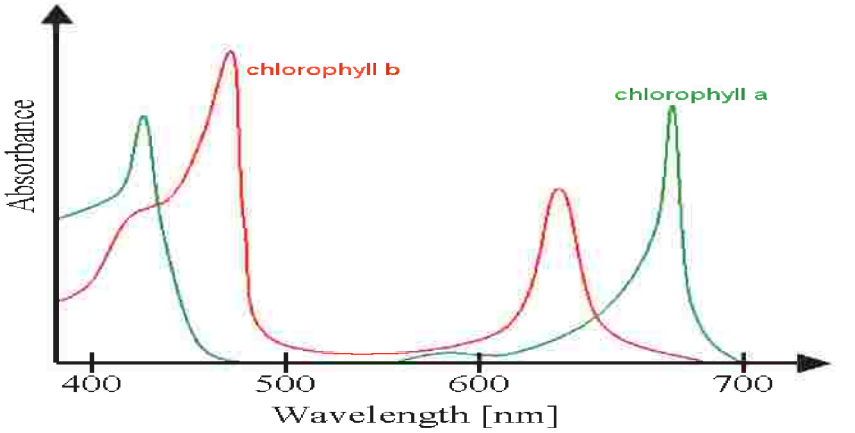
واختفاء الكلوروفيل وظهور الصبغات المسؤولة عن اللون المميز للثمار الناضجة من مقاييس النضج الرئيسية والهامة التي يسهل ملاحظتها بالعين المجردة ولكن لابد من التقدير الكيميائي للوقوف علي تركيز هذه الصبغات. والكلوروفيل يحدث له تحولات موضحة بالشكل التالي تنتج عنها اختفاء اللون الأخضر المميز له. إذاً فلابد من التقدير الكيميائي للوقوف علي تركيز هذه الصبغات

من المعروف أن الكلوروفيل يحدث له تحولات تؤدي إلى فقد اللون الأخضر المميز له كما هي موضحة بالشكل.



الطريقة الأولى لتقدير الكلوروفيل

والفكرة في تقدير الكلوروفيل تتلخص في إمكانية استخلاصه بمذيب عضوي (يستخدم الكحول أو الأسيتون أو مخلوطهما معا) ويتم تقدير اللون (OD) علي جهاز مقارنة الألوان colorimeter ويتم مقارنته بتركيزات معلومة من الكلوروفيل النقي على طول موجي معلوم (٦٦٠ نانوميتر في حالة قياس الكلوروفيل أ و ٦٤٢.٥ نانوميتر في حالة كلوروفيل ب) وفى حالة عدم وجود الكلوروفيل النقي يمكن تحضير محلول مكافئي لتركيز معين منه ويستخدم كمرجع. والشكل التالي يبين معامل الامتصاص لكل من الكلوروفيل أ ، ب وعلاقة بالطول الموجي للضوء



منحني يوضح امتصاص لكل من الكلوروفيل أ والكلوروفيل ب علي الأطوال الموجية المختلفة

المحاليل المطلوبة للتقدير:

- مخلوط الأسيتون والكحول الأيثانول (4 أسيتون : 1 كحول)
- ملح كربونات الكالسيوم أو ملح كبريتات الماغنسيوم
- **محلول مشابه للكلوروفيل النقي ويساوى تركيز معلوم منة:** يتم تحضير محلول كبريتات النحاس (١١.٤ جرام في لتر ماء مقطر) ومحلول هيدروكسيد الأمونيوم ٢ مول (يحضر بإذابة ٢٥٧.١ جرام هيدروكسيد أمونيوم تركيزة ٣٥ % في لتر من

الماء المقطر) ومحلول داى كرومات البوتاسيوم (يحضر بذوبان 20 جرام من داى كرومات البوتاسيوم في لتر من الماء المقطر). يتم أخذ 25 ملى من محلول كبريتات النحاس مع 50 ملى من محلول داى كرومات البوتاسيوم مع 10 ملى من محلول الأمونيا (2 مول) ويكمل الحجم إلي لتر بالماء المقطر ويرج جيدا ولون هذا المحلول يعادل تركيز 85 ملجم كلوروفيل نقى / اللتر.

الأجهزة والأدوات المطلوبة:

- هاون صيني
- جهاز طرد مركزي
- خلاط قوى
- دوارق معيارية حجمها ٥٠ ملي، 100 ملى، ٢٥٠ ملي و٥٠٠ ملي.
- جهاز قياس لونى Colorimeter (كلوريميتر)

طريقة العمل

- يوزن حوالي ٢ إلى ٥ جرام (على حسب تركيز الكلوروفيل في العينة) من العينة المراد تقدير الكلوروفيل بها ثم يتم سحقها جيدا مع إضافة كمية كافية من الرمل النقي مع كمية قليلة من كربونات الكالسيوم أو الماغنسيوم (حوالي ٠.٢ جرام) يتم وضع مخلوط الأسيتون والكحول وتنقل العينة كميا إلي الخلاط.
- تضرب في الخلاط لمدة 10 دقائق.
- تنقل محتويات الخلاط نقلا كميا إلي دورق معياري 100 ملى ويكمل الحجم إلى العلامة بمخلوط الأسيتون والكحول وترج جيدا وتترك لترسيب الرمل .
- يتم وضع جزء من محتويات الدورق في أنبوبة طرد مركزي سعتها ١٠ ملي ويجري الطرد المركزي على الجهاز لمدة 5 دقائق.
- يتم نقل 5 ملى من المحلول الرائق وتوضع في دورق معياري 50 ملى ويكمل الحجم للعلامة بالمحلول السابق.

- يتم قراءة التركيز على جهاز الكلورميتر Colorimeter وتدون القراءة.
- **يتم عمل المنحنى القياسي:** وذلك بتحضير محلول من الكلوروفيل النقي تركيزة 85 ملجم / اللتر في حالة تعذر وجود الكلوروفيل النقي يتم عمل محلول يساوى نفس التركيز اللوني كما سبق. يأخذ تركيزات مختلفة من هذا المحلول ويتم تقدير اللون لها على طول موجي 650 نانوميتر ويتم رسم المنحنى القياسي. و حساب تركيز الكلوروفيل في العينة من على المنحنى القياسي.

الطريقة الثانية لتقدير الكلوروفيل

يتم اختيار جزء من الثمار كعينة بشرط أن تكون ممثلة له، ويوزن من ٢ إلى ١٠ جرام وزن طازج منها، (في حالة العينات الجافة يتم الطحن وتؤخذ العينة من الجزء الناعم). يضاف مع العينة كمية قليلة من كربونات الكالسيوم أو كربونات الماغنسيوم.

الاستخلاص والتقدير

- يتم الاستخلاص باستخدام الأسيتون وتضرب العينة في خلاط قوى أو باستخدام الهاون الصيني في وجود الرمل النقي.
- يتم أعاده الاستخلاص عدة مرات حتى تعطى العينة لون شفاف.
- يتم تنقية العينة عن طريق ترشيحها مع الغسيل عدة مرات بالأسيتون ٨٥ % مع استقبال الراشح في دورق معياري 250 ملى ويكمل الحجم بالأسيتون.
- يتم تشغيل جهاز الكلورميتر وضبط الطول الموجي علي حسب الهدف من التقدير (كلوروفيل أ أو كلوروفيل ب أو الكلوروفيل الكلي) كما سبق
- يتم أخذ عينة من الدورق المعياري السابق وتوضع في أنبوبة جهاز الكلوريميتر ويتم أخذ القراءة (في حالة زيادة تركيز اللون يتم أجراء التخفيف اللازم).

- يتم مقارنة قراءة العينة بالمحاليل القياسية السابق تحضيرها وقراءتها علي الجهاز كما سبق ومنة يحسب تركيز الكلوروفيل بالـ ppm في العينة.
- ويحسب الكلوروفيل بالمليجرام لكل 100 جرام ثمار غضه أو أوراق غضه.

$$Chlorophyll e.(mg/100\,Fresh.weight) = \frac{chlorophyll.concentration.(ppm)}{Sample.weight\,(g)} \times 100$$

الطريقة الثالثة لتقدير الكلوروفيل

والفكرة في هذه الطريقة هي استخدام كحول الأيثانول فقط في الاستخلاص علي درجة حرارة مرتفعة ثم التقدير لونياً كما سبق.

ويتم الاستخلاص والتقدير كالتالي:

- يوزن ٢ جرا من العينة النباتية الغضة وتوضع في أنبوبة اختبار تتحمل الحرارة
- يضاف ١٠ لي كحول ايثانول ٧٠ % إلى الأنبوبة وتوضع في حمام مائي علي درجة حرارة ٧٠ درجة مئوية حتى يتم استخلاص الكلوروفيل
- يتم نقل الراشح نقلا كميا إلى دورق معياري ٥٠ ملي (هذا الدورق مثبت في ثلج مجروش)
- يعاد تكرار الاستخلاص مع ٥ ملي كحول ٧٠ % مرتين للتأكد من تمام الاستخلاص
- بعد تجميع كل المستخلص المحتوي عل الكلوروفيل في الدورق يكمل الحجم إلى ٥٠ ملي باستخدام الكحول ٧٠%
- يجري التخفيف اللازم ويتم قياس كثافة اللون للعينات باستخدام جهاز الكلورميتر علي طول موجي قدرة ٦٥٠ نانوميتر مع ضبط ٠ الجهاز باستخدام كحول ايثيل ٧٠%

- ويتم عمل المنحني القياسي للجهاز كما في الطرق السابقة ومنة نحسب تركيز الكلوروفيل في العينة كما في الطرق الأخرى.

صبغة الكاروتين
Carotene Pigments

الكاروتينات النباتية ($C_{40}H_{55}OH$) تعد من الصبغات النباتية الهامة في تغذية الإنسان وكذلك في تغذية الحيوان، نظراً لتحول بعضها داخل الجسم إلى فيتامين A . وتشمل الكاروتينات α-, ß-, У- Carotten والليكوبين Lycopensويتم التقدير عن طريق استخلاص الكاروتين من الثمار باستخدام مذيب مناسب (أيثر البترول) ويقارن اللون الناتج علي جهاز الكلوريميتر أو الأسبكتروفوتوميتر مع تركيز معلوم من الكاروتين النقي علي المنحني القياسي.

المحاليل المطلوبة

١- محلول بيكرومات البوتاسيوم ٢ جرام / اللتر وهذا المحلول يعط درجة لون مماثلة لتلك الذي ينتج عن ذوبان 35 مليجرام كاروتين نقي في اللتر من الماء (35 ppm) يستخدم هذا المحلول لصعوبة الحصول علي الكاروتين النقي.

٢- كحول الأيثايل تركيزة ٩٥ %

٣- محلول بوتاسا كحولية ١٢ %

٤- كبريتات صوديوم لامائية

٥- إيثر البترول

الأجهزة والأدوات المطلوبة

١- كأسات ودوارق معيارية وماصات زجاجية

٢- عجينه من ورق الترشيح

٣- أقماع فصل حجمها 500 ملي

٤- مكثف عاكس

٥- حمام مائي

٦- جهاز مقارنة الألوان colorimeter

استخلاص الكاروتين وتقديره

- يتم وضع 5 جرام من العينة في دورق مخروطي سعته 250 ملي ثم يضاف عليها 100 ملي من محلول البوتاسا الكحولية 12% ويوضع مكثف عاكس علي فوهة الدورق.
- يثبت علي حمام مائي ساخن ويترك ليغلي لمدة ٣٠ دقيقة مع إكمال الحجم الفاقد من البوتاسا الكحولية بالكحول ٩٥ % ويترك المخلوط بعد ذلك ليبرد
- يتم النقل الكمي لمحتويات الدورق إلى أقماع فصل 500 ملي باستخدام الغسيل عدة مرات بالماء المقطر.
- يتم استخلص المحلول الناتج باستخدام أثير البترول علي مرات متتابعة كل مرة كمية الأثير 50 ملي حتى نحصل علي مستخلص رائق ويكون الراشح عديم اللون.
- تجمع المستخلصات الناتجة (محتوية علي الكاروتين) في قمع فصل أخر ويضاف كمية من الماء المقطر قدرها 200 ملي وينتظر لمدة دقيقتين وتستبعد الطبقة المائية الرائقة.
- يضاف 100ملي أخري من الماء المقطر للقمع وترج جيدا وينتظر عدة دقائق ثم يتم فصل الطبقة المائية ثم يضاف 25 ملي ماء مقطر ويرج القمع بشدة لمدة ½ دقيقة ويترك حتى تتكون طبقة الفصل وتزال طبقة الماء وتكرر العملية مرة أخري.
- عندما يكون المستخلص المتبقي بالقمع رائق تمام ويعطي نتيجة متعادلة مع دليل الفينوفيثالين (لون أحمر وردي خفيف)

التحليلات التي تجري علي الثمار

- يتم نقل المستخلص إلى دورق مخروطي بواسطة قمع محتوي علي كبريتات الصوديوم اللامائية ملفوفة في طبقة صوف زجاجي.
- يركز المستخلص (المحتوي علي الكاروتين) في حمام مائي تحت تفريغ في وجود كبريتات الصوديوم اللامائية ليتطاير أيثر البترول.
- ينقل المستخلص إلى دورق معياري سعته 100 ملي ويكمل الدورق حتى العلامة بأيثير البترول.
- يتم قراءة الامتصاص علي جهاز مقارنة الألوان وتسجل القراءة ويحسب التركيز من المقارنة بالمنحني القياسي.

عمل المنحنى القياسي

يتم عمل سلسلة من التركيزات المناسبة من المحلول رقم 1 تتناسب مع تركيز الكاروتين بالمليجرام في الثمار محل الدراسة

يتم قراءة العينات علي جهاز مقارنة الألوان ويسجل قراءة كل تركيز

يتم عمل المنحني القياسي لقراءة الجهاز كدالة في تركيز اللون

بعدها توقع العينات علي المنحنى لحساب تركيزها

ثم يحسب تركيز الكاروتين بالمليجرام لكل 100 جرام نسج حي أو مادة غضه من المعادلة التالية.

$$Carotene \quad (mg \ / 100 \ g.Fresh \ .weight \ ) = 100 \times \frac{C}{W}$$

حيث الـ C عبارة عن التركيز بالـ ppm والـW هو وزن العينة بالجرام

صبغة الليكوبين
Lycopene Pigment

الليكوبين إحدى المركبات الكاروتينية ووزنه الجزئي = ٥٣٦.٨٥ هي الصبغة التي تعطي ثمار الطماطم اللون الأحمر المميز لها عند النضج ويزداد تركيز هذه الصبغة بتقدم نضج الثمار. بالتالي يمكن الاعتماد علي تركيز هذه الصبغة كدليل قوي من أدلة نضج ثمار الطماطم. أيضاً توجد صبغة الليكوبين في عديد من ثمار الفاكهة فهي المسؤولة عن اللون الوردي في لب ثمار الجوافة وكذلك توجد بكثرة في لب ثمار الجريب فروت (ذات اللون الأحمر) كما توجد أيضا في ثمار الباباظ والبرتقال أبو دمة. في حين تخلو الثمار الخضراء غالبا من هذه الصبغة.

تقدير الليكوبين في الثمار

يتم امتصاص أكبر قدر من الضوء لمحلول هذه الصبغة علي طول موجي ٤٧٣ أو ٥٠٣ نانوميتر. والفكرة في التقدير هي استخلاص هذه الصبغة باستخدام الأسيتون ثم نقلها إلى أيثير البترول (Petroleum ether) وقياس امتصاص الضوء لأيثير البترول المحتوي علي هذه الصبغة علي الطول الموجي المذكور باستخدام جهاز الأسبكتروفوتوميتر مع استخدام أيثير البترول كعينة خالية من الليكوبين (Blank). أو يتم قياس أيثير البترول المحتوي علي كل الكارويتنات بما فيها الليكوبين، وتقدير الكاروتينات الكلية بدون الليكوبين بعد ادمصاصها بواسطة عمود كروماتوجراف

والفارق بين الامتصاص الضوئي للمحلول الأول والثاني يعطي الامتصاص الضوئي لصبغة الليكوبين.

الطريقة الأولي

الكيماويات والأدوات الزجاجية المطلوبة للطريقة الأولي والثانية:

أسيتون، أيثير البترول، كبريتات الصوديوم اللامائية، أكسيد الماغنسيوم، ملح الـ Supercel، ماصات ٥، ١٠، ١٥، ٢٠ ملي، دوارق مخروطية، دوارق معيارية (٥٠ ملي، ١٠٠ ملي، ٢٥٠ ملي، ٥٠٠ ملي)، أقماع فصل، قمع بوخنر، هاون صيني، عمود كروماتوجراف أبعاده كما في البيتا كاروتين.

الاستخلاص

- يتم عصر الثمار ويؤخذ العصير. يتم وزن ٥ إلى ١٠ جرام من العصير.
- يتم استخلاص الليكوبين من العصير باستخدام الأسيتون وذلك بمساعدة الهاون الصيني. ويعاد إضافة الأسيتون والتصفية لعدة مرات حتى يصبح الجزء الصلب المتبقي عديم اللون.
- يتم نقل الأسيتون ومعه الصبغة المستخلصة كميا إلى قمع فصل محتوي علي ١٠ إلى ١٥ ملي من أيثير البترول. مع الخلط بين الأسيتون والأيثير برج القمع.
- يتم إضافة كمية من الماء المقطر (أو الماء المقطر المحتوي علي ٥ % كبريتات الصوديوم) لتخفيف الأسيتون ويترك القمع حتى تتكون طبقة الفصل بين الأسيتون+ الماء (في الطبقة السفلي) وأيثير البترول الذائب فيه الليكوبين (الطبقة العليا).
- يتم فصل الأسيتون إلى قمع فصل أخر والبترولييم أيثر يجمع في زجاجة داكنة اللون. يعاد إضافة كمية مماثلة للسابقة من البترولييم أيثر (١٠ إلى ١٥ ملي) علي الأسيتون في قمع الفصل ويتم الخلط والتخفيف بالماء كما سبق ويفصل البترولييم أيثر ويجمع مع السابق في نفس الزجاجة. وتكرر عملية الفصل حتى يصبح الأسيتون شفاف وعديم اللون.

- يتم التخلص من الأسيتون لعدم الحاجة له. أما أيثير البترول والمحتوي علي الليكوبين يضاف له كمية قليلة من كبريتات الصوديوم وينقل إلى دورق معياري ٥٠ ملي ويكمل الحجم بأيثير البترول.
- يتم تخفيف ٥ ملي من المحلول السابق إلى ٥٠ ملي باستخدام أيثير البترول ويتم قراءة الامتصاص علي جهاز الأسبكتروفوتوميتر علي طول موجي قدرة 503 نانوميتر.

طريقة الحساب :

في هذه التجربة فأن كل امتصاص ضوئي قدرة ١,٠ (OD) يكافئ ٣,١٢٠٦ ميكروجرام ليكوبين لكل ملي مستخلص (٣,١٢٠٦ ملجم كاروتين/اللتر)

ويتم التعويض في المعادلة التالية:

$$mg.Lycopene/100sample = \frac{3.1206 \times OD \times L \times D}{1 \times W \times 1000}$$

حيث الـ OD عبارة عن قراءة الجهاز والـ L الحجم النهائي، والـ D هي التخفيف والـ W تمثل وزن العينة

وللتوضيح : عند ذوبان الوزن الجزيئي لليكوبين في لتر وقياس الامتصاص الضوئي علي طول موجي قدرة ٥٠٣ nm باستخدام أسبكتوفوتوميتر ذات كيوقت ١سم يعطي OD = ١٧,٢X ١٠⁴.

فعندما يكون وزن العينة ١٠ جرام وتم استخلاصها في ٥٠ ملي فعند الطول الموجي الذكور وكان الـ OD = ٠,٤٠٥ تكون المعادلة كالتالي

(١٠٠ X ٥٠ X ٥٠ X ٠,٤٠٥ X ٣,١٢٠٦)

الليكوبين بالملجم / ١٠٠ جرام عينة = ________________

الطريقة الثانية

- يتم الاستخلاص للعينة بالأسيتون كما في الطريقة السابقة.
- يتم أعداد عمود الكروماتوجراف (أكسيد ماغنسيوم + الـ Supercel ١:٣) كما في البيتا كاروتين.
- يتم وضع ١ سم من كبريتات الصوديوم اللامائية Na_2SO_4 علي قمة عمود الكروماتوجراف ويبلل عمود الكروماتوجراف باستخدام أيثير البترول.
- يتم أخذ ٥ أو ١٠ ملي من العينة المستخلصة في أيثير البترول وتنقل إلى عمود الكروماتوجراف مع سحب الهواء من عند قاعدة العمود (لتندفع إلى داخل العمود).
- يتم غسيل العمود الكروماتوجرافي عدة مرات باستخدام الأيثير (٣ % أسيتون في أيثير البترول)، وعندما يصبح الأيثير طبقة رقيقة فوق سطح Na_2SO_4 عند قمة العمود يضاف دفعات من محلول الـ elution حتى يتم ذوبان كل الكاروتينات في الـ eluent مندفعة لأسفل (فيما عدا الليكوبين الذي يدمص عند قمة العمود).
- يستمر إضافة الـ eluent حتى يكون المحلول الخارج من قاعدة العمود شفاف مع استقبال المحلول في دورق مخروطي أسفل العمود.
- يتم فصل المحلول المتحصل علية عن طريق قمع فصل مع غسيل الأسيتون عدة مرات بالماء المقطر (كما بالطريقة الأولي).

- يتم نقل أيثير البترول المحتوي علي الكاروتينات (ما عدا الليكوبين) إلى دورق معياري ٥٠ ملي أو ١٠٠ ملي عبر قمع زجاجي يوضع بداخلة كبريتات الصوديوم اللامائية داخل صوف زجاجة أو قطن رطب ويكمل الحجم بأيثير البترول.
- يتم قياس الامتصاص الضوئي علي طول موجي قدرة 473 nm وتدون القراءة (ويرمز لها بالرمز A).
- يتم أخذ ٥ إلى ١٠ ملي من المستخلص الموجود به الكاروتينات (كمية مماثلة لتلك المأخوذة للعمود الكروماتوجرافي) وتكمل إلى نفس الحجم السابق (٥٠ ملي أو ١٠٠ ملي) باستخدام أيثير البترول. ويتم قياس امتصاص الضوء علي الطول الموجي السابق ٤٧٣ نانوميتر وتدون القراءة (ويرمز لها بالرمز B)
- القراءة A تكافئي امتصاص الكاروتينات الكلية فيما عدا الليكوبين والقراءة B تكافئي الكاروتينات الكلية بما فيها الليكوبين والفرق بين القرائتين (A-B) يكافئي امتصاص الليكوبين

ويتم الحساب وفقا للمعادلة التالية:

$$mg.Lycopene\ /100\,g.sample = \frac{2.887 \times OD_{sampl} \times D \times 100}{1.0 \times W \times 1000}$$

حيث الـ OD هي قرءة الكلورميتر، ولـ D هي التخفيف الذي تم، ولـ W هي وزن العينة.

بعض التقديرات الكيميائية الأخرى التي تجري علي الثمار

تقدير كحول الأيثانول

الأيثانول من مركبات النكهة التي توجد في الثمار الناضجة بصورة طبيعية ولكن بكميات قليلة جداً كناتج ثانوي من نواتج الميتابولزم. وفي حالة تخزين الثمار لمدة طويلة وخاصة تحت ظروف الجو الهوائي المعدل أو المتحكم فيه (Modified and control Atmosphere conditions) فان التنفس نتيجة نقص الأكسيجين وزيادة تركيز ثاني أكسيد الكربون قد يتجه ناحية التنفس اللاهوائى فينتج الأيثانول، وبعد هذه المرحلة تدخل الثمار في التلف أو العطب. لذلك يلزم في تجارب التخزين تقدير الأيثانول داخل أنسجة الثمرة أو داخل العبوة المستخدمة في التخزين.

ومن الممكن تقدير الأيثانول باستخدام جهاز الكروماتوجراف الغازي (راجع باب الأجهزة العلمية) حيث يضبط الجهاز ويتم اختبار دقته باستخدام تركيزات معلومة من الكحول وحقنها بميكروسرنجه داخل الجهاز وأخذ القراءة، ثم يأخذ بميكروسرنجة حوالي ٢٠٠ ميكروليتر من مخلوط الهواء الموجود داخل عبوة التخزين وتحقن داخل الجهاز لمعرفة نسبة الكحول بالعبوة والناتجة عن عملية التنفس.

الطريقة الأنزيمية لتقدير الأيثانول

الأساس العلمي لهذه الطريقة:

والأساس في هذه الطريقة هو في وجود أنزيم الـ Dehydrogenase –Alcoho (ADH) يتأكسد الكحول إلى أسيتلدهيد بواسطة أنزيم nicotinamide- adenin-dinucleotide (NAD) كما بالمعادلة التالية:

$$\text{(1) Ethanol} + NAD^+ \xrightarrow{\text{ADH}} \text{Acetaldehyde} + NADH + H^+$$

ولكي يستمر التفاعل في نفس الاتجاه لابد من تحويل الأسيتلدهيد المتكون إلى صورة أخري يمكن تقديرها. فيتم أكسدته في وسط قلوي ليعطي حامض الخليك وذلك في وجود أنزيم الـ Acetaldehyde dehydrogenase (AL-DH) كما بالمعادلة التالية:

$$\text{(2) Acetaldehyde} + NAD^+ + H_2O \xrightarrow{\text{AL-DH}} \text{Acetic acid} + NADH + H^+$$

وفي خلال التفاعل الأول والثاني فأن ٢ مول من NAD يتم اختزالهما لأنتاج ١ مول من الكحول. وكمية الـ NADH الناتجة يمكن تقديرها بقياس امتصاصه ضوئيا علي طول موجي ٣٣٤ نانوميتر أو 365 نانوميتر.

المحاليل المطلوبة وتحضيرها:

- **المحلول رقم ١:** ويتكون من محلول منظم من فوسفات البوتاسيوم الثنائية potassium di-phosphate ورقم الـ pH لهذا المحلول = ٩.٠ ويضاف مثبت للمحلول.
- **المحلول رقم ٢:** في زجاجة نظيفة يضاف حوالي ٣٠ قرص من أنزيم الـ NAD كل قرص يحتوي علي ٤.٠ ملجم من الـ NAD + ٠.٨ U (وحدة) من الألدهيد ديهيدروجينيز. يتم ذوبان محتوي الزجاجة في ٣.٠ ملي من المحلول رقم ١
- **المحلول رقم ٣:** ويحتوي هذا المحلول علي ١.٦ ملي من مستخلص إنزيم الكحول ديهيدروجينيز (10000 U) مع إضافة مثبت للمحلول في حالة الرغبة في تخزينه.
- محلول قياسي من الكحول يوضح تركيزه علي الزجاجة.

التجربة والتقدير:

- يتم تجهيز جهاز أسبكتروفوتوميتر ذات خلية زجاجية (كيوفت) قطره ١ سم. ويضبط الطول الموجي علي ٣٤٠ نانوميتر (من الممكن أجراء القياس أيضا علي طول موجي قدرة ٣٦٥ نانوميتر).
- درجة حرارة التجربة يجب أن تتراوح من ٢٠ إلى ٢٥ درجة مئوية. والحجم النهائي أو الكلي للتجربة = ٣,١٥ ملي.
- يتم ضبط الصفر للجهاز بالماء المقطر أولا قبل القياس. ثم يقاس المحلول القياسي وبعده العينة. يتراوح حجم العينة من ٠,١ ملي إلى ٠,٥ ملي وتحتوي علي نسبة من الكحول تتراوح من ٠,٥ إلى ١٢ ميكروجرام / الكيوفت.
- ويتم تحضير العينة والمحلول القياسي كما بالجدول التالي:

الكمية المأخوذة	المحلول القياسي	العينة
محلول رقم ٢	٣,٠٠ ملي	٣,٠٠ ملي
ماء مقطر	٠,١٠ ملي	- -
محلول العينة	- -	٠,١٠ ملي
يتم الرج وتترك لمد ٣ دقائق وبعدها تسجل قراءة الأسبكترو فوتوميتر ويرمز لها بالرمز A1		
محلول رقم ٣	٠,٠٥ ملي	٠,٠٥ ملي

- يتم خلط الأنبوبة جيدا وتترك لأتمام التفاعل. وبعد انتهاء التفاعل والذي يستغرق ٥ إلى ١٠ دقيقة يتم قراءة الامتصاص الضوئي علي جهاز الأسبكترو فوتوميتر (يقاس المحلول القياسي أولا ثم العينة) ويرمز له بالرمز A2

- يتم حساب الفارق في الامتصاص ويرمز له بالرمز ΔA بطرح قيمة A1 من قيمة A2 لكل من العينة والمحلول القياسي ومنهم يتم حساب الـ ΔA

$$\Delta A_{\text{ sample}} = (A_{2\text{ sample}} - A_{1\text{sample}})$$
$$\Delta A_{\text{ temoin}} = (A_{2\text{ temoin}} - A_{1\text{ temoin}})$$
$$\boldsymbol{\Delta A = (\Delta A_{\text{ sample}} - \Delta A_{\text{timoin}})}$$

- ويتم حساب تركيز الكحول من المعادلة التالية علما بأن ٢ مول من إنزيم الـ NAD تنتج ١ مول من الكحول.

$$Alcohol\ .g\ /\ litre = \frac{V \times PM}{\varepsilon \times d \times v \times 2 \times 1000} \times \Delta A$$

علما بأن : **V** الحجم الكلي للاختبار (٣,١٥ ملي)، **PM** الوزن الجزيء للكحول (٤٦,٠٧)، والـ **d** عبارة عن عمق الكيوفت (١ سم)، **ε** معامل امتصاص الـ NADH (عند ٣٤٠ نانوميتر = ٦,٣ (لكل ملي مول$^{-1}$ X سم$^{-1}$) وعند ٣٦٥ نانوميتر = ٦,١٨ لكل ملي مول$^{-1}$ X سم$^{-1}$)

وبالتطبيق في المعادلة السابقة فأن التركيز بالجم / اللتر يكون كالتالي :

$$\Delta A \times \{(1000 \times 2 \times ٠,١ \times d \times \varepsilon) / (٤٦,٠٧ \times ٣,١٥)\} = (C)$$

$$\frac{\Delta A}{E} \times ٠,٧٢٥٦ =$$

وفي حالة وجود تخفيف يوضع في الاعتبار حيث تضرب النتيجة السابقة في معامل التخفيف.

تقدير الحموضة الطيارة في الثمار
Determination of Volatile Acidity

تقدير الحموضة أما أن يكون بتقدير الحموضة الكلية للعصير (الحموضة القابلة للمعايرة حتى نصل إلى نقطة انتهاء المعايرة ويستدل عليها باستخدام الأدلة اللونية) أو بتقدير الحامض الرئيسي في الثمار سواء الماليك أو الطرطريك أو السيتريك... وذلك باستخدام الكروماتوجراف (HPCL) أو بالألكتروفوريزس (Elctrophorises). ولكننا في بعض الدراسات (مثل الدراسات التصنيعية أو معاملات ما بعد الحصاد) قد نحتاج إلى تقدير الحموضة الطيارة Volatile Acidity في الثمار. والمركب الأساسي في الحموضة الطيارة هو حامض الخليك ومشتقاته (وظهوره في الثمار يدل على حدوث تخمر هوائي بالثمار أي دخول الثمار في مرحلة التلف) ونسبة قليلة من حامض البروبونيك والبيوتريك.

في بعض البلدان مثل فرنسا يتم تقدير الحموضة الكلية أو الطيارة والتعبير عنها بالجرام من حامض الكبريتيك لكل ١٠٠ جرام عصير أو خمور "ولكننا نفضل حساب الحموضة الكلية كما سبق الذكر على أساس الحامض السائد في الثمار . وبالتالي فأننا سوف نقدر الحموضة الطيارة على أساس عدد جرامات حامض الخليك لكل ١٠٠ جرام عصير حيث يمثل حامض الخليك المركب الرئيسي في الحموضة

الطيارة للثمار. ويمكن الاعتماد علي تقدير هذا الحامض في الثمار للحكم علي صلاحية الثمار للاستهلاك الآدمي. ويستخدم في تقديره الطريقة الأنزيمية وتفصيلها كالتالي:

الأساس العلمي للطريقة:

- حامض الخليك يتم تحويلة إلى أسيتيل كوأنزيم- أ (Acetyl Co-A) وذلك باستخدام أنزيم الـ Acetyl CoA synthase (ACS) في وجود أدينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) والمساعد الأنزيمي Coenzyme A
- يقوم أنزيم Citrate synthase (CS) بتنشيط التفاعل ما بين الـ Acetyl Co-A وبين الأوكسالوأسيتات Oxaloacetate لكي يعطي حامض الستريك Citrate كما بالتفاعلات التالية:

$$\text{(1) Acetate + ATP + Co-A} \xrightarrow{\text{ACS}} \text{Acetyl Co-A + AMP +phosphate}$$

$$\text{(2) Acetyl Co-A + Oxaloacetate + } H_2O \xrightarrow{\textbf{CS}} \text{Citrate + Co-A}$$

- الأوكسالواسيتات اللازمة للتفاعل رقم ٢ يتم الحصول عليها عن طريق أكسدة حامض المليك بواسطة أنزيم المالات ديهيدروجينيز (Malate dehydrogenase MDH) في وجود الـ (NAD) Nicotine amide-adenine dinucleotide كما بالتفاعل التالي.

$$\text{(3) Malate + NAD} \xrightarrow{\textbf{MD}} \text{Oxaloacitate + NADH + } H^+$$

- وتعتمد فكرة القياس هنا علي تقدير معدل تكوين NADH والذي يتم قياسه بتقدير الزيادة في امتصاص الضوء علي طول موجي قدرة ٣٤٠ نانوميتر أو ٣٣٤ نانوميتر، باستخدام جهاز الأسبكتروفوتوميتر. ويلاحظ أن التفاعل الذي تعتمد علية فكرة التقدير هنا تفاعل غير مباشر.

الكيماويات وأعداد المحاليل المطلوبة للتقدير:

- **محلول رقم ١ :** في زجاجة نظيفة يتم وضع ٣٢ ملي من محلول مكون من : محلول منظم من ثلاثي ايثانول أمين (Tri ethanol amine) رقم الـ pH = ٨.٤ + ١٣٤ ملجم من حامض الماليك + ٦٧ ملجم من كلوريد الماغنسيوم + ماء مقطر.. (يستخدم هذا المحلول في التجربة دون تخفيف أي مباشرة) وهذا المحلول يمكن تخزينه لمدة سنة علي درجة حرارة ٤ درجة مئوية.
- **محلول رقم ٢:** في زجاجة نظيفة يوضع ٢٨٠ ملجم من المخلوط التالي: ١٧٥ ملجم من ال ATP + ١٨ ملجم من Co-A + ٨٦ ملجم من NAD. تذاب محتويات هذه الزجاجة في ٧ ملي من الماء المقطر النقي. ويمكن تخزين هذا المحلول لمدة شهر علي الأقل في درجة حرارة ٤ درجة مئوية.
- **محلول رقم ٣:** في زجاجة نظيفة يوضع حوالي ٠.٤ ملي من المعلق الأنزيمي المتكون من ١١٠٠ U من الـ Malate dehydrogenase + ٢٧٠ U من الـ Citrate synthase . يستخدم هذا المعلق دون تخفيف. يمكن تخزين هذا المحلول لمدة سنة علي درجة حرارة ٤ درجة مئوية

- **محلول رقم ٤ :** في زجاجة نظيفة يوضع ٥ U من Acetyle Co-A synthetase. تذاب محتويات الزجاجة في ٠,٢٥ ملي من الماء المقطر النقي. ويمكن تخزينه لمدة ٤ أيام فقط علي درجة حرارة ٤ درجة مئوية.

يلاحظ أنه في حالة عدم إضافة مثبت في تحضير المحاليل السابقة تستعمل مباشرة أما في حالة الرغبة في تخزين المحاليل يستخدم مثبت للمحلول.

طريقة التقدير :

- يتم عصر الثمار وتنقية العصير بالترشيح. وفي حالة الثمار التي تعطي عصائر ذات لون يتم التخلص من اللون باستخدام الفحم النباتي خلال الترشيح.
- في حالة العينات الغنية بالدهون يتم الاستخلاص أولا بالماء الساخن ٦٠°م ثم يترك ليبرد لمدة ٢٠ دقيقة ويكمل الحجم بالماء البارد وتفصل الطبقة الدهنية من علي السطح.
- يتم تشغيل جهاز الأسبكتوفوتوميتر ويضبط الطول الموجي علي ٣٤٠ نانوميتر
- الحجم المستعمل لهذا الاختبار سيكون ٣,٢٣ ملي
- يتم تحضير العينة ومحلول قياسي للمقارنة من المحاليل السابقة كالتالي:

يوضع في خلية الجهاز (Cuvet)	الكمية المأخوذة للمحلول القياسي	الكمية المأخوذة للعينة المراد قياسها
محلول رقم ١	٠,٠ ملي	٠,٠ ملي
محلول رقم ٢	٠,٢٠ ملي	٠,٢٠ ملي
ماء مقطر	٢,٠ ملي	١,٩ ملي
عصير ثمار	- - -	٠,١٠ ملي
يتم رج الأنبوبة دون أحداث فقاعات هوائية، ثم تؤخذ قراءة الأسبكترو (لكل من المحلول القياسي والعينة) وتدون (A_0)		
محلول رقم ٣	٠,٠١ ملي	٠,٠١ ملي

يتم الرج جيدا دون أحداث فقاعات هوائية وتترك لمدة ثلاثة دقائق ثم تأخذ قراءة الأسبكترو (لكل من المحلول القياسي والعينة) وتدون (A_1)		
محلول رقم ٤	٠,٠٢ ملي	٠,٠٢ ملي
يتم الرج بلطف ودون أحداث فقاعات وتترك لمده من ١٠ إلى ١٥ دقيقة لإنهاء التفاعل ثم تؤخذ قراءة الأسبكترو (لكل من المحلول القياسي والعينة) وتدون (A_2)		
❖ في حالة عدم انتهاء التفاعل بعد ١٥ دقيقة تترك العينة ويتم أخذ قراءة كل دقيقتين حتى نحصل علي نفس القراءة مرتين بالتالي نتأكد من انتهاء التفاعل		

- يتم حساب معدل التغير في الامتصاص ΔA من القراءات المسجلة سابقا فيتم حساب (A_1-A_0) ثم تحسب (A_2-A_1) لكل من العينة والمحلول القياسي ويطبق في المعادلة التالية :

$$\Delta A.acetate = \left\| \left[(A_2 - A_0)_{sample} \right] - \left[\frac{(A_1 - A_0)^2_{\ sample}}{(A_2 - A_0)_{sample}} \right] \right\| - \left\| \left[(A_2 - A_0)_{temon} \right] - \left[\frac{(A_1 - A_0)^2_{\ temon}}{(A_2 - A_0)_{temon}} \right] \right\|$$

ويحسب تركيز حامض الخليك C من المعادلة التالية:

$$C = \frac{(V \times PM)}{(\varepsilon \times d \times v \times 1000) \times \Delta A}$$

علما بأن الـ V عبارة عن حجم الاختبار (٣,٢٣ ملي) والـ v عبارة عن حجم العينة (٠,١ ملي) والـ PM الوزن الجزيئي لحامض الخليك (٦٠,٠٥) والـ d عبارة عن قطر الكيوفيت المستخدم للجهاز (١ سم) والـ ϵ عبارة عن معامل الامتصاص لـ NADH

بالتالي تكون المعادلة كالتالي :

تركيز حامض الخليك بالجرام/اللتر = ١,٩٣٩ ($\Delta A/\epsilon$)

- ملاحظات عامة:

في هذه الطريقة يجب ألا يزيد تركيز حامض الخليك عن ٠.١٥ جرام علي اللتر في العينة وفي حالة الزيادة يجري تخفيف للعينة قبل التقدير. درجة حرارة هذا الاختبار تتراوح ما بين ٢٠ إلى ٢٥ درجة مئوية.

في حالة الرغبة في تخزين المحاليل المستخدمة في التقدير يجب إضافة مثبت للمحلول