

# شیوه‌های مختلف طبخ روی مقدار ویتامین C فلفل سبز

## يك آزمایش زیست شیمی مقدماتی

اریک جانسون

مهادهای آنها رشته دیگری است (تکنولوژی پزشکی، پیش‌پزشکی، پیش‌دندانپزشکی، زیست‌شناسی، فیزیولوژی و منابع طبیعی) افزوده شد. این آزمایش با روشی که بعد شرح داده می‌شود در درس شیمی آلی و زیست‌شیمی مقدماتی دانشجویان پرستاری و دانشجویان دیگر رشته‌های وابسته به علوم تندرستی نیز گنجانده شده است. به دلیل ارزان بودن و کمی لوازم مورد نیاز، این آزمایش در درس شیمی مدارس متوسطه به عنوان تمرین جالبی برای نشان دادن طرح تجربی شامل تحلیل داده‌ها، مفید خواهد بود. این آزمایش موقعیتی را فراهم می‌سازد تا هردانشجو دریابد که روش تهیه، به طور مؤثری کیفیت غذایی مواد خوراکی را تغییر می‌دهد.

### تجربی

#### واکنشگرها

۱۰۵g محلول مادر N - بروموسو کسینامید (NBS) که دارای ۰۲۵g NBS ( $10^{-3}M \times 101$ ) در آب مقطر است، درست قبل از شروع ساعت آزمایشگاه تهیه می‌شود. (توجه: کمال دقت را در کار کردن با N - بروموسو کسینامید مبذول دارید. NBS شدیداً چشمها، پوست و غشاهای مخاطی را تحریک می‌کند.) محلول ۱٪ وزنی - حجمی نشاسته قابل حل در آب مقطر که تازه تهیه شده باشد، به عنوان محلول شناساگر نشاسته به کار می‌رود. محلول استاندارد ( $500 \text{mg/L}$ ) - L - آسکوربیک اسید در  $\text{H}_2\text{SO}_4$  آبی ۵٪ (حجمی - حجمی) (که توسط نیتروژن، اکسیژن زدایی شده و دور از نور نگهداری می‌شود) نیز درست قبل از شروع ساعت کار آزمایشگاه تهیه می‌شود. محلولهای آبی دیگری که برای این آزمایش مورد نیاز است عبارت انداز: KI، ۴٪ (وزنی - حجمی)، استیک اسید، ۱۰٪ (حجمی - حجمی) و  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ۵٪ (حجمی - حجمی).

افزایش تقاضای ثبت نام در دوره‌های درسی زیست‌شیمی برای کسانی که رشته اصلی آنها شیمی نیست، آزمایشهای آزمایشگاهی جدیدی را برای این دوره‌های درسی ایجاد کرده است. به دلیل زمینه‌های مختلف و وسیع دانشجویانی که عموماً در چنین کلاسهای بزرگ و مقدماتی ثبت نام کردند، استفاده از سیستمهای زیست‌شیمیایی جالب و ملموستر که هم نشان‌دهنده مفاهیم اصلی زیست‌شیمیایی و هم طرح آزمایشی معتبری باشد مورد نیاز است. برای پذیرش دانشجوی زیادتر، مواد شیمیایی و لوازم مورد نیاز آزمایش باید نسبتاً ارزان باشند و وسایل لازم باید به آنهایی محدود شود که به فراوانی در بیشتر گروههای شیمی یافت می‌شود.

توسعه برنامه‌ریزی علوم تغذیه در دانشگاه بال استیت به طور گسترده‌ای ثبت نام دانشجویان این رشته را در دوس زیست‌شیمی مقدماتی ما افزایش داده است. برای این دانشجویان آزمایشهای جدید بسیاری طرح شد. یکی از این آزمایشها بررسی اثر شیوه‌های مختلف طبخ بر روی مقدار آسکوربیک اسید مواد غذایی است. بسیاری از کتابهای زیست‌شیمی و تغذیه این نکته را بیان می‌دارند که روشهای تهیه غذا (آب‌پز کردن، بخارپز کردن و غیره) ممکن است قسمتی از آسکوربیک اسید موجود در مواد غذایی را را نابود کند. در آزمایشگاه باسنجش مقدار آسکوربیک اسید غذایی که به طرق مختلف طبخ شده است این مطلب به آسانی آزمایش می‌شود. فلفل سبز یک غذای معمولی است که در رژیم غذایی اکثر دانشجویان وجود دارد و در تمام فصول، در بیشتر مناطق یافت می‌شود و مقدار زیادی آسکوربیک اسید دارد. برای تعیین مقدار این ویتامین در فلفل سبز، عصاره نمونه‌های طبخ شده را می‌توان بایک تیتراسیون ساده اکسایشی - کاهش تجزیه کرد.

در ابتدا این آزمایش به صورت یک طرح در کلاسهای علوم تغذیه که تعداد دانشجویان کمتری داشتند، عرضه شد. به این دانشجویان اجازه داده شد تا خودشان آزمایشهایی را که برای تعیین اثر طبخهای مختلف روی مقدار آسکوربیک اسید غذاها لازم است طرح کنند. این آزمایش به طوری با استقبال دانشجویان علوم تغذیه روبرو شد که به آزمایشهای زیست‌شیمی دوره تحصیلی دانشجویانی که

\* اسیدی کردن با متافسفریک اسید معمولاً برای اینکه خود اکسایش آسکوربیک اسید را به حداقل برساند، مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این آزمایش به نظر می‌رسد اسیدی کردن با  $\text{H}_2\text{SO}_4$  که ارزانتر از متافسفریک اسید است به اندازه کافی مانع از بین رفتن آسکوربیک اسید در عصاره‌های فلفل می‌شود.

(توجه: با وجود اینکه استیک اسید و سولفوریک اسید رقیق هستند از تماس آنها با لباس، پوست و چشم باید خودداری کرد. مریبان آزمایشگاه باید شیوه‌های مناسب برای کار با اسیدها را به دانشجویان بیاموزند.) فلفل سبز در محل خریداری می‌شود.

#### روش کار

**تهیه و طبخ نمونه‌های فلفل سبز.** یک فلفل سبز تازه را بردارید و از قسمت خوراکی آن پنج قسمت که هر کدام حدود ۱۰g وزن داشته باشد، برید. وزن هر نمونه را با دقت در حدود ۱mg در ۱۰g به دست آورید و روی هر کدام از نمونه‌ها روش‌های طبخ زیر را به کار برید. ۱. قنودی کردن. یکی از نمونه‌ها را به صورت تکه‌های کوچک برید. نمونه را در یک بشر قرار داده و در یک آون (با دمای ۱۸۰ تا ۲۰۰°C) به مدت ۱۰ تا ۲۰ دقیقه پزید. با استفاده از روشی که در زیر داده می‌شود، آسکوربیک اسید را از نمونه فلفل سبز استخراج کنید. ۲. آب‌پز کردن. یک نمونه فلفل سبز را به قطعات کوچک تقسیم کنید. نمونه را در یک تکه کرباس پیچید و آن را به مدت ۲۰ دقیقه در ۲۰۰ تا ۳۰۰mL آب جوش قرار دهید. طی روشی که در زیر ذکر خواهد شد، نمونه را استخراج کنید. آبی را که برای آب‌پز کردن استفاده کرده‌اید با ۵mL  $H_2SO_4$  ۵٪ اسیدی کنید و حجم محلول را با جوشاندن ملایم به حدود ۲۵mL برسانید. حجم نهایی را اندازه گرفته و مقدار آسکوربیک اسید این محلول را با استفاده از روش تیتراسیون که در زیر شرح داده می‌شود، تعیین کنید. ۳. بخارپز کردن. نمونه فلفل سبز را تکه تکه کنید. نمونه‌ها را در یک یا دو لایه کرباس پیچید و آن را در یک کیسه که دارای نخ‌ی است قرار دهید. کیسه را در بالای ۲۰۰mL آب در حال جوشیدن آویزان کنید. این کار توسط بستن نخ به کمک یک نوار لاستیکی پهن به یک شیشه ساعت انجام می‌گیرد به طوری که نوار لاستیکی در طول قطر شیشه ساعت قرار گیرد. نمونه را ۱۰ دقیقه بخار دهید. فلفل سبز را به طریقی که در زیر شرح داده می‌شود استخراج کنید. آبی را که برای جوشاندن استفاده کرده‌اید با ۵mL  $H_2SO_4$  ۵٪ اسیدی کرده و با جوشاندن ملایم حجم را به حدود ۲۵mL کاهش دهید. حجم نهایی را اندازه بگیرید و مقدار آسکوربیک اسید این محلول را با استفاده از روش تیتراسیون که در زیر شرح داده می‌شود تعیین کنید.

۴. طبخ با کهموج. نمونه فلفل سبزی را که به قطعات کوچک تقسیم کرده‌اید در یک بشر از جنس پیرکس قرار دهید و آن را در یک آون کهموج بپزید (حدوداً ۴۵ ثانیه در یک آون ۷۰۰W). عمل استخراج را طی روشی که ذکر خواهد شد انجام دهید. ۵. به صورت خام. نمونه فلفل سبز را تکه تکه کرده و باروش زیر استخراج کنید.

**استخراج آسکوربیک اسید از نمونه‌های فلفل سبز.** نمونه فلفل سبز را در یک هاون قرار دهید، ۱۰mL آب مقطر اضافه کنید و به آهستگی آن را بادسته هاون بسایید. مایع را سرریز کرده و این عمل را دوبار دیگر و هر بار با افزودن ۱۰mL آب تکرار کنید. ذرات معلق را با عبور عصاره‌ها از پارچه کرباس یا سانتریفوژ کردن جدا کنید. به این عصاره صاف شده ۵mL  $H_2SO_4$  ۵٪ بیفزایید و حجم کل را اندازه بگیرید.

**تعیین مقدار آسکوربیک اسید در عصاره‌های فلفل سبز.** غلظت آسکوربیک اسید موجود در عصاره فلفل سبز با استفاده از تیتراسیون اکسایشی - کاهش عصاره اسیدی شده با محلول NBS استاندارد تعیین می‌شود. شناساگر نشاسته - ید برای مشخص کردن نقطه پایانی تیتراسیون به کار می‌رود.

استاندارد کردن محلول NBS. به بالونی که حاوی ۱۰۰mL ۲٪ KI، ۲mL استیک اسید ۱۰٪ و ۳mL نشاسته قابل حل ۱٪ است، ۵۰mL محلول استاندارد آسکوربیک اسید بیفزایید. ۶۰mL آب مقطر افزوده و با محلول NBS تیترا کنید. نقطه پایانی تیتراسیون با ظاهر شدن رنگ آبی تیره ثابت که مشخصه کمپلکس نشاسته - ید است، مشخص می‌شود. حجم NBS مصرف شده برای رسیدن به نقطه پایانی را جهت محاسبه میلی گرمهای آسکوربیک اسید اکسید شده به ازای هر میلی لیتر محلول NBS به کار برید. تیتراسیون را تکرار کنید تا نتایج مشابهی به دست آید.

**تیتراسیون عصاره فلفل سبز و آبی که فلفل سبز در آن طبخ شده است.**

به بالونی که حاوی ۱۰۰mL ۲٪ KI، ۲mL استیک اسید ۱۰٪ و ۳mL نشاسته قابل حل ۱٪ است، ۵۰mL عصاره فلفل سبز اسیدی شده بیفزایید. ۶۰mL آب مقطر افزوده و با محلول NBS تیترا کنید. نقطه پایانی تیتراسیون با تشکیل کمپلکس نشاسته - ید مشخص می‌شود و رنگ محلول از سبز روشن به سبز کدر یا خاکستری تغییر می‌یابد. (بسیار کم یا دوبار مشاهده این تغییر رنگ، دانشجویان به آسانی می‌توانند نقطه پایانی تیتراسیون را تشخیص دهند.) این تیتراسیون را برای هر نمونه فلفل سبز سه بار تکرار کنید. همین روش را در مورد نمونه‌های بخار پز شده و آب‌پز شده به کار برید و مقدار آسکوربیک اسید موجود در آب حاصل از طبخ آنها را به دست آورید. حجم محلول NBS لازم برای رسیدن به نقطه پایانی را برای محاسبه میلی گرمهای آسکوربیک اسید موجود در عصاره و میلی گرمهای آسکوربیک اسیدی که به ازای هر گرم نمونه فلفل سبز بازیابی شده است به کار برید. مقدار آسکوربیک اسید باقیمانده در هر نمونه و مقداری را که در اثر طبخ‌های مختلف وارد آب طبخ شده است، برحسب درصد آسکوربیک اسید موجود در نمونه خام بیان کنید.

(mLNBS) = آسکوربیک اسید (AA) موجود در عصاره

$$\left( \frac{\text{mL کل عصاره}}{\text{mLNBS}} \right) \left( \frac{\text{وزن آسکوربیک اسید استاندارد بر حسب mg}}{\text{mLNBS}} \right)$$

$$\text{mg آسکوربیک اسید در عصاره} = \frac{\text{مقدار آسکوربیک اسید}}{\text{وزن نمونه فلفل سبز}} \times \text{موجود در نمونه فلفل سبز}$$

#### نتایج و بحث

باتوجه به محدودیت‌های زمانی که در آزمایشگاه وجود دارد، دانشجویان معمولاً برای جمع‌آوری داده‌ها به صورت گروه‌های دونفری کار می‌کنند ولی هر دانشجو باید داده‌های خود را مستقلاً

درصد از نمونه خام	مقدار آسکوربیک اسید (mg/فلنل mg)	شیوه طبخ
۱۰۰	۱۰۱۸	خام
۷۳	۰۸۶	تنوری
۱۹	۰۲۲	آب‌پز
		آبی که فلنل در آن
۵۸	۰۶۸	آب‌پز شده
۸۱	۰۹۶	بخارپز
		آبی که فلنل در آن
۶	۰۰۷	بخارپز شده
۸۹	۱۰۵	کهموج

### نتیجه‌گیری

این آزمایش در درس زیست‌شیمی مقدماتی با موفقیت بسیاری همراه بوده است. روش تیتراژ نسبی ارزان به‌ما امکان می‌دهد تا از این آزمایش در کلاس‌هایی با تعداد دانشجویان زیاد استفاده کنیم. احتمال زیاد موفقیت دانشجو در این آزمایش و علاقه کلی دانشجو به علوم تغذیه توجه بیشتر دانشجویان را به این دوره جلب کرده و آزمایش فلنل سبز، معروفترین آزمایش آزمایشگاهی ما شده است.

ترجمه سایه وزیرنیا

• Determination of the Effect of Various Modes of Cooking on the Vitamin C Content of a Common Food, Green Pepper  
Eric R. Johnson  
*Journal of Chemical Education*, October 1988

گزارش و مورد تحلیل قرار دهد.

یک سری داده که توسط دانشجویی به دست آمده، در جدول نشان داده شده است. همان‌طور که از این داده‌ها نمایان است، نمونه‌هایی که توسط کهموج یا بخار طبخ شده‌اند بیشتر آسکوربیک اسید کاسته شده را در مقایسه با نمونه خام در خود نگاه داشته‌اند و فقط مقدار کمی آسکوربیک اسید در آب بخار دیده می‌شود. در اثر تنوری کردن نمونه، مقدار قابل توجهی آسکوربیک اسید از بین می‌رود، در حالی که طی آب‌پز کردن آن، قسمت اعظم این ویتامین توسط آب خارج می‌شود. همان‌طور که از این داده‌ها نمایان است، درصد آسکوربیک اسید باقیمانده در نمونه به اضافه درصد آسکوربیک اسید موجود در آب جوش، برابر ۱۰۰٪ نیست. همین موضوع در مورد نمونه‌ای هم که با بخار پخته شده است، صادق می‌باشد. این اتلاف آسکوربیک اسید احتمالاً در اثر اکسایش آن به دهیدرو-آسکوربیک اسید یا تخریب آن در طی تغلیظ آبی است که برای بخارپز کردن یا آب‌پز کردن به کار رفته است. بیشتر دانشجویان داده‌هایی به دست آورده‌اند که نشان می‌دهد مقدار آسکوربیک اسید در آبی که برای آب‌پز کردن به کار رفته است، بیشتر از مقدار این اسید در آبی است که برای بخارپز کردن به کار برده شده است. با اندکی دقت تجربی تقریباً تمام دانشجویان ارتباط‌های بالا را بین نمونه‌هایی که به طرق مختلف طبخ شده‌اند مشاهده خواهند کرد. تنها مشکل دانشجویان در این آزمایش کامل استخراج نشدن آسکوربیک اسید از نمونه خام است. نمونه‌های فلنل سبز پس از طبخ به آسانی در هاون نرم می‌شوند ولی برای خرد کردن نمونه‌های خام باید دقت و حوصله کافی مبذول داشت تا استخراج آسکوربیک اسید از نمونه‌های خام به حداکثر برسد. در فرایند خرد کردن استفاده از ماسه شسته شده ریز مؤثر است و به آسانی با سانتریفوژ کردن جدا می‌شود.

همچنین مقدار آسکوربیک اسید این نمونه‌ها را می‌توان توسط HPLC\* و با استفاده از یکی از روش‌های متعدد آن که اخیراً منتشر شده است، تعیین کرد. با وجود اینکه استفاده از HPLC در این آزمایش مورد توجه است ولی تعداد زیاد دانشجویان و محدودیت در دسترس بودن وسایل HPLC در این مؤسسه باعث می‌شود تا روش تیتراسیون برای آسکوربیک اسید مورد استفاده قرار گیرد.

High Performance Liquid Chromatography \*

### مجله شیمی آگهی می‌پذیرد

مجله شیمی در زمینه ارائه خدمات علمی و فنی (تحقیقات، مشاوره، طراحی، نظارت، و اجرا) و عرضه داروها، وسایل آزمایشگاهی، تجهیزات و ماشین آلات صنعتی آگهی می‌پذیرد.