

دراسة تأثير التخزين والتحضير المنزلي لحليب الرضع على محتواه من حمض الأسكوربيك

الدكتورة آيات عبود*

الدكتورة ديمة الدياب**

لين عزيمة***

(تاريخ الإبداع 19 / 5 / 2015. قُبل للنشر في 20 / 7 / 2015)

□ ملخص □

شملت الدراسة عينات من حليب الرضع للعمر الأول والثاني لخمس شركات A, B, C, D, E. تم اتباع طريقة (AOAC, 2006) Association of Analytical Communities في تحديد حمض الأسكوربيك من خلال معايرته حجمياً باستخدام 6,2-دي كلوروفينول إندوفينول (DCPIP) 2,6- Dichlorophenolindophenol. كان محتوى حمض الأسكوربيك في حليب الرضع للشركتين C, D قريباً من المصرح عنه في بطاقة البيان، أما حليب الرضع للشركات الباقية كان منخفضاً ووصل هذا الانخفاض إلى 34% في حليب الرضع للشركة E، وبقي المحتوى من حمض الأسكوربيك ثابتاً في عينات الحليب الجاف المحفوظة لمدة أسبوع بعد الفتح سواء في البراد أو في درجة حرارة الغرفة. انخفض المحتوى من حمض الاسكوربيك في عينات حليب عند تحضيرها باستخدام ماء حرارته 40°C أو 100°C مقارنة مع تلك المحضرة بماء الصنبور وازداد الانخفاض مع حفظ هذه العينات لمدة ساعتين بعد التحضير.

الكلمات المفتاحية: حمض الأسكوربيك، 6,2- دي كلورو فينول إندوفينول، حليب الرضع، التخزين، التحضير المنزلي.

*مدرسة - قسم الكيمياء الصيدلانية والمراقبة الدوائية - كلية الصيدلة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية

** مدرسة - قسم الكيمياء التحليلية والغذائية - كلية الصيدلة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية

*** طالبة دراسات عليا (ماجستير) - قسم الكيمياء التحليلية والغذائية في كلية الصيدلة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية

Influence of Some Home Preparation and Storage Conditions on Ascorbic Acid Content of Infant Formula

Dr. Ayat Abboud*
Dr. Dima Aldiab**
Leen Odaima***

(Received 19 / 5 / 2015. Accepted 20 / 7 / 2015)

□ ABSTRACT □

Vitamin C concentration was studied in samples of infant formula from 5 companies (referenced A-E) using the 2,6-Dichlorophenolindophenol titration (AOAC, 2006) method. Results revealed that ascorbic acid content in formulas D and C was the closest to its recommended daily intake (RDI) and to the concentrations which are mentioned on the label of the samples. Storage conditions at room temperature or in the refrigerator did not affect ascorbic acid levels. In comparison to vitamin C concentrations in milk dissolved in tap water, its levels decreased when water was warm (40°C) or hot (100°C), and its concentrations further declined in dissolved form kept for two hours after preparation.

Keywords: Ascorbic Acid, 2,6-Dichlorophenolindophenol, Infant Formula, storage, home preparation.

*Assistant Professor, Pharmaceutical chemistry and drug quality control Department, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria

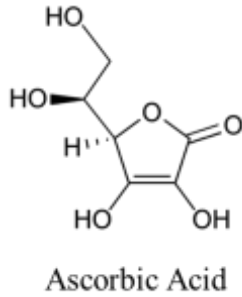
**Assistant Professor, Analytical chemistry and food Department, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria

***Postgraduate Student, Analytical chemistry and food Department, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria

مقدمة:

يعرف دستور الأغذية العالمي حليب الرضع ¹ Infant Formula بأنه الحليب البديل لحليب الأم والمصنع بحيث يلبي في تركيبه المتطلبات التغذوية للرضع خلال الأشهر الأولى من العمر حتى يصبح الطفل قادراً على تناول أغذية أخرى، ويصنع حليب الرضع بدءاً من حليب البقر بطرائق فيزيائية ثم يعلب لمنع التخرب والتلوث خلال مراحل التصنيع والتخزين والتوزيع في المكان المطلوب (CODEX STAN 72-1981).

تجرى عدة تعديلات في تركيب حليب البقر (أو أي حليب مستخدم لتصنيع حليب الرضع) للوصول إلى التركيب المثالي المناسب لعمر الطفل مثل تغيير نسب ونوعية البروتين والدهن، والتدعيم بالفيتامينات والمعادن (Allen et al, 2006; Infant Feeding Guidelines, 2012)، ومن الفيتامينات التي يدعم بها



الشكل (1): البنية الكيميائية لحمض الأسكوربيك

حليب الرضع حمض الأسكوربيك ² Ascorbic Acid (شكل 1)، يمتلك حمض الأسكوربيك العديد من الوظائف الحيوية. يدعم الحليب بحمض الأسكوربيك أيضاً لدوره المضاد للأكسدة، حيث يخلص الجسم من الجذور الحرة ويحمي الخلايا من الضرر الناتج عن المؤكسدات (منال ديب وميسم سلامي، 2013). يتميز حمض الأسكوربيك إضافةً لما سبق بتأثيره على امتصاص الحديد، حيث يحول مركبات الحديد الموجودة في الأغذية من مركبات غير قابلة للامتصاص إلى مركبات قابلة للامتصاص في الأمعاء (Teucher et

al, 2004). يقدر الوارد اليومي من حمض الأسكوربيك للأطفال دون عمر 6 أشهر بـ 40 mg/day وللأطفال بعمر 6-12 أشهر بـ 50 mg/day (Food and Nutrition Board, 2000).

تستخدم أملاح الصوديوم والكالسيوم والبوتاسيوم لحمض الأسكوربيك بالإضافة للحمض نفسه واستر البالميتات منه في تدعيم حليب الرضع (Commission Directive 2006/141/EC & Cac/GI 10-1979). يعتبر حمض الأسكوربيك ³ غير ثابت حيث يتأكسد تحت تأثير العديد من العوامل منها الأوكسجين وآثار قليلة من المعادن الانتقالية مثل النحاس والحديد (Allen et al, 2006; Belitz et al, 2009). يكون تخرب حمض الأسكوربيك في محاليله المائية سريعاً في البداية وهذا عائد لكمية الأوكسجين المنحل لكن مع الزمن يتناقص هذا التخرب تدريجياً بسبب تناقص كمية الأوكسجين المنحل. كما تؤثر قيم pH المحلول على تخرب حمض الأسكوربيك حيث يزداد معدل أكسدة حمض الأسكوربيك عند قيم pH تتراوح بين (5-11.5) ويعتبر حمض دي هيدروأسكوربيك dehydroascorbic acid من أهم نواتج تخرب حمض الأسكوربيك عند تسخينه في محاليله إضافةً إلى حمض 2,3- دي كيتوغولونيك -3,2- حمض التريونيك threonic acid، وحمض الأوكزاليك (Parker, 1997) oxalic acid. يمكن التحديد الكمي لحمض الأسكوربيك وفق عدة طرائق منها الطيفية (Pachla et al., 1985)، الالكتروكيميائية (Nollet & Toldra, 2012)، الأنزيمية (Tulley, 1995)، الكروماتوغرافية (Romeu-Nadal et al., 2006)، والرحلان الكهربائي الشعري (Nollet & Toldra, 2012). يتم معايرة حمض الأسكوربيك بـ 2,3- دي كيتوغولونيك -3,2- حمض التريونيك threonic acid، وحمض الأوكزاليك (Parker, 1997) oxalic acid.

¹ الرضع Infants: يقصد بها الرضع تحت عمر 12 شهراً.

² يتواجد في حليب الأم بمقدار 50 mg/l، بينما يكون في حليب البقر بمقادير زهيدة، ولذلك يدعم حليب الرضع بحمض الأسكوربيك ليكون بمقدار 42.5 mg/l كحد أدنى (Infant Feeding Guidelines, 2012).

³ يمثل تفاعل أكسدة حمض الأسكوربيك أكثر طرق تخربه شيوعاً.

نواتج تخريره دستورياً حسب AOAC في الغذاء من خلال تفاعل أكسدة-إرجاع مع مركب 2,6-دي كلوروفينول إندوفينول (DCPIP) 2,6-Dichlorophenolindophenol، حيث يُرجع DCPIP بتأثير حمض الأسكوربيك إلى مركب عديم اللون (AOAC, 2006; Ball, 2006; Yasmin et al., 2012).

أهمية البحث وأهدافه:

تتعدد الطرائق المتبعة في تحضير حليب الرضع من قبل الأمهات والتي من الممكن ألا تتوافق مع الطريقة الموصى بها، حيث تختلف حرارة الماء المستخدم وكذلك زمن الاحتفاظ بالحليب المحضر، مما يجعل من المهم تحديد أفضل طريقة للحفاظ على سويات حمض الأسكوربيك في حليب الرضع. يهدف هذا البحث إلى تحديد سويات حمض الأسكوربيك في حليب الرضع ومدى توافرها مع المتطلبات التغذوية للرضيع، بالإضافة إلى تحديد أفضل طرائق التحضير المنزلي لحليب الرضع للحفاظ على سويات حمض الأسكوربيك وذلك من خلال مقارنة سوياته بعد تطبيق عدة شروط في التحضير.

طرائق البحث و مواده:

1.2-المواد والأجهزة والأدوات:

تم استخدام الأجهزة التالية: ميزان حساس (Precisa XB 220 A)، مثقلة (Heraeus- Labofuge 200)، حمام مائي (Bandelin- Sonorex Digitec). كما تم استخدام المواد التالية: حمض الأسكوربيك (SURECHEM)، كلور الصوديوم (AVONCHEM)، حمض الخلال ثلجي (BDH, England)، 2,6-دي كلوروفينول إندوفينول (Fluka)، بيكرونات الصوديوم (Qualikems)، وماء مقطر.

2.2 - الاعتيان:

تم تحديد محتوى حمض الأسكوربيك في عينات لحليب الرضع تعود لخمس شركات مختلفة وتشمل العمر الأول والثاني الجدول (3)، وتم شراء العينات المدروسة من صيدليات مختلفة في مدينة اللاذقية. استخدم حليب الرضع العائد للشركة A للعمر الأول لمراقبة تخرّب حمض الأسكوربيك بتأثير شروط الحفظ والتحصير، وأجريت هذه الاختبارات في الشهر التاسع 2014 في مخابر كلية الصيدلة - جامعة تشرين.

جدول (1): العينات التجارية المستخدمة في الدراسة مبيناً الطبخة، تاريخ الانتاج، تاريخ انتهاء الصلاحية، محتوى الحليب من حمض الأسكوربيك

الشركة	العمر	الطبخة	تاريخ الانتاج	تاريخ انتهاء الصلاحية	محتوى الحليب من حمض الأسكوربيك المدون على العبوة mg/100gr
A	الأول A1	1	8/2013	6/2015	87
		2	01/ 2014	07/ 2015	
		3	8/2014	2/2016	
A	الثاني A2	1	12/2013	6/2015	78
		2	1/2014	7/2015	

64	6/2015	12/2013	1	B2 الثاني	B
100	12/2015	12/2013	1	C1 الأول	C
100	7/2016	7/2014	1	C2 الثاني	
60	11/2015	11/2013	1	D1 الأول	D
	4/2016	4/2014	2		
52	12/2015	12/2013	1	D2 الثاني	
105	12/2014	6/2013	1	E1 الأول	E

3.2 - الطرائق

1.3.2- تحضير محلول ترسيب البروتين:

حُضِرَ محلول ترسيب البروتين بحل 35.9 gr من كلور الصوديوم في 8 ml من حمض الخل الثلجي و 0.6 ml من حمض الفوسفور وإكمال الحجم بالماء المقطر إلى (AOAC, 2006;Zhang, 2012) 100 ml.

2.3.2- تحضير محلول DCPIP:

حُضِرَ المحلول بتركيز 0.001N من خلال حل 0.256gr من DCPIP، و 0.21gr من بيكربونات الصوديوم في ماء مقطر وإكمال الحجم حتى (AOAC, 2006) 1000ml.

3.3.2- تحضير العينات وتحديد المحتوى من حمض الأسكوربيك:

تم وزن (6 gr) حليب من العينات المدروسة وُحِلت في (50 ml) من ماء مقطر له درجة حرارة الغرفة ثم أخذ 10ml من العينة المحضرة (موزعة على أنبوبي ثقيل) وأضيف لكل أنبوب ثقيل 5ml من محلول الترسيب ثم تم تثقيبها وترشيحها. تمت معايرة 10ml من الرشاحة ذات الطبيعة الحمضية باستخدام محلول (DCPIP 0.001N)، مع إجراء معايرة للبلانك (المحضر بإضافة 5 ml من محلول ترسيب البروتين إلى 5 ml ماء مقطر). يستدل على نهاية المعايرة بانقلاب لون محلول DCPIP من الأزرق إلى الزهري الفاتح وثباته (AOAC, 2006).

4.3.2-دراسة التكرارية والاسترداد للطريقة التحليلية المتبعة:

لتقييم تكرارية الطريقة التحليلية المتبعة تم تحديد المحتوى من حمض الأسكوربيك في محلول لحمض الأسكوربيك العياري (50mg/250 ml) وفي عينة من حليب الرضع A1 وتكرار التجربة ست مراتو حساب المتوسط الحسابي والانحراف المعياري والانحراف المعياري النسبي RSD. يعبر عن التكرارية بالانحراف المعياري النسبي الذي بلغت قيمته 0.84% بالنسبة لمحلول حمض الأسكوربيك العياري، و 1.07% بالنسبة لعينة حليب الرضع. لدراسة الاسترداد تم إضافة مقدار (50, 100 mg) إلى عينات حليب رضع A1 ومعايرة حمض الأسكوربيك فيها والتكرار ثلاث مرات، كان متوسط النسبة المئوية للاستعادة يتراوح بين 97.16 - 99.01% وقيم RSD تتراوح بين (Q2AR1 ICH, 2005) 0.75% - 1.21.

5.3.2-دراسة تأثير حفظ عينات حليب جاففي درجة حرارة الغرفة والبراد:

تمفتح عبوة حليب رضع وتوزيعها على عبوات بلاستيكية مغلقة شفاقة. حُفِظ بعضها في البراد والبعض الآخر في درجة حرارة الغرفة لمدة أسبوع، ثم تم معايرة محتواها من حمض الأسكوربيك.

6.3.2- دراسة تأثير درجة حرارة ماء التحضير والزمن على محتوى حمض الأسكوريك في حليب الرضع:

تمت الدراسة بتحضر الحليب باستخدام ماء الصنبور، ماء ذو درجة 40°C وماء ذو درجة حرارة 100°C وتكرارها على ثلاث عينات، أضيف الماء المقطر ذو درجة الحرارة المطلوبة إلى وزنة من الحليب A1 (تقريباً 6 gr) المضاف لها وزن معلوم من حمض الأسكوريك (تقريباً 54 mg). وُزعت العينة المحضرة إلى أنابيب تثقيب بمقدار 5ml في كل أنبوب، حُدد المحتوى الكلي من حمض الأسكوريك (حمض الأسكوريك الموجود في الحليب وحمض الأسكوريك المضاف) عند التحضير ثم أعيد تحديده ثلاث مرات في الساعة الأولى بعد التحضير بمعدل مره كل عشرين دقيقة ثم في الساعة الثانية كل نصف ساعة.

بعد مرور عشرين دقيقة على التحضير تم حفظ 10ml من العينة المحضرة في البراد وفي درجة حرارة الغرفة بهدف مقارنة تأثير درجة حرارة حفظ الحليب المحضر على المحتوى من حمض الأسكوريك بعد ساعتين من التحضير.

النتائج والمناقشة:**1-دراسة محتوى أنواع الحليب المختلفة من حمض الأسكوريك:**

تم تحديد محتوى عينات الحليب المدروسة من حمض الأسكوريك باستخدام طريقة المعايرة بمحلول DCPIP والجدول (4) يوضح النسب المئوية للمحتوى في العينات المدروسة مقارنةً مع المحتوى المدون على العبوة.

جدول (4): النسب المئوية لمحتوى عدة أنواع حليب رضع من حمض الأسكوريك

العمر الثاني				العمر الأول				الشركة
RSD%	متوسط %	النسبة المئوية من المحتوى الكلي %	الطبخة	RSD%	المتوسط %	النسبة المئوية من المحتوى الكلي %	الطبخة	
0.32%	77.47	77.64	1	1.08%	69.95	69.15	1	A
		77.29	2			70.65	2	
						70.05	3	
-	-	93.23	1	-	-	91.74	1	C
-	98.38	98.38	1	0.74%	99.21	98.69	1	D
						99.73	2	
		-		-	-	65.98	1	E
-	-	81.67	1			-		B

نلاحظ من الجدول السابق اقتراب محتوى حمض الأسكوريك في عينات الحليب التابعة للشركتين D,C من المحتوى المدون على العبوة، في حين أظهرت عينات الحليب التابعة للشركات الثلاث الباقية انخفاضاً في محتواها من حمض الأسكوريك، حيث وصل هذا الانخفاض في عينات الشركة A إلى (30%)، 22% عينات حليب العمر الأول والثاني على التوالي) وإلى 34% في عينات حليب العمر الأول للشركة E. يؤثر هذا الانخفاض في محتوى حمض

والأسكوريك على الوارد اليومي للطفل منه والذي يعادل 40 mg/day للأطفال دون سن الست أشهر، و50mg/day للأطفال بعمر 6 - 12 شهراً.

2.3-دراسة تأثير الحفظ في درجة حرارة الغرفة والبراد على حليب الأطفال:

من الممكن أن تقوم الأم بعد فتح عبوة الحليب بوضع وجبات لطفلها في عبوات بلاستيكية شفافة بغرض استخدامها خارج المنزل مباشرة أو بعد فترة معينة، ولمحاكاة هذا الواقع قمنا بوضع عينات موزونة من حليب الأطفال الجاف A1 في عبوات بلاستيكية شفافة مغلقة وحفظها في درجة حرارة الغرفة وفي البراد لمدة أسبوع. تم لاحقاً مقارنة محتوى حمض الأسكوريك في هذه العينات المحفوظة مع المحتوى في العبوة الأصلية عند الفتح. يظهر الجدول (5) النتائج التي تم الحصول عليها، تمثل النسبة المئوية مقدار حمض الأسكوريك المتبقي في العينة بالمقارنة مع المحتوى الذي تم تحديده عند فتح العبوة التي تم حفظها في درجة حرارة الغرفة (الزمن 0) من خلال المعايرة بمحلول DCPIP حيث كان المحتوى %100.

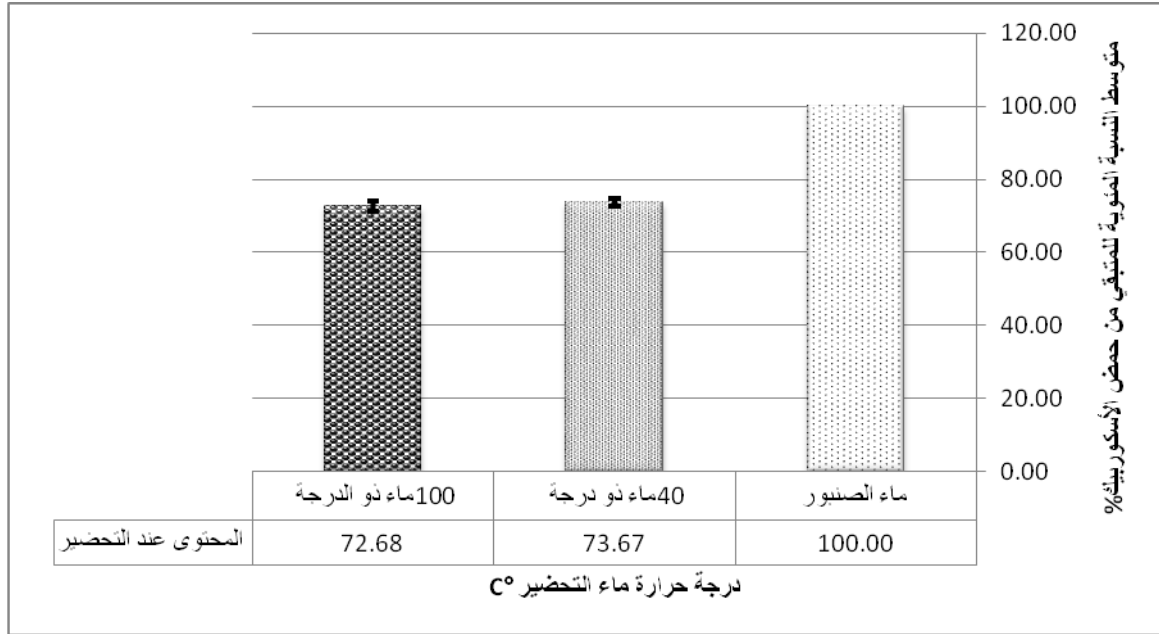
جدول (5): تأثير تخزين عينات حليب رضع جاف في درجة حرارة الغرفة والبراد على المحتوى من حمض الأسكوريك

النسبة المئوية لحمض الأسكوريك في العينة المحفوظة في حرارة الغرفة %	النسبة المئوية لحمض الأسكوريك في العينة المحفوظة في البراد %	الزمن بعد فتح العبوة (ساعة)
100	100	0 Hrs (عند الفتح)
100	100	24Hrs
100	100	48 Hrs
97.67	98.35	أسبوع

يلاحظ من الجدول السابق أن حفظ عينات الحليب في عبوات بلاستيكية سواء كان في درجة حرارة الغرفة أو في البراد لم يؤدي إلى تناقص في مستوى حمض الأسكوريك في الحليب الجاف حيث أن التناقص لم يتجاوز %1.65، %2.33 بعد الحفظ لمدة أسبوع في البراد وفي درجة حرارة الغرفة على التوالي. أظهرت دراسة أجريت لمراقبة تخرب حمض الأسكوريك في الأغذية بتأثير التخزين أن هذا التخرب لم يتجاوز %6 في الحبوب المخزنة لمدة ستة شهور في الدرجة 22°C (Anderson *et al*, 1976; Stešková *et al*, 2006).

3.3-دراسة تأثير درجة حرارة ماء التحضير والزمن على محتوى الحليب من حمض الأسكوريك:

يوصى لتحضير حليب الرضع أن يتم تبريد الماء المغلي مسبقاً إلى درجة حرارة تقريباً 40°C (ماء فاتر) ثم يضاف الحليب إليه. تقوم العديد من الأمهات بتحضير الحليب بماء نو درجة 100°C ثم تبريده إلى الدرجة 40°C . لدراسة مدى تأثير درجة حرارة الماء المستخدم في تحضير الحليب للرضيع على محتواه من حمض الأسكوريك تم إضافة ماء صنوبر، حرارته 40°C أو 100°C إلى عينات من الحليب المضاف له حمض أسكوريك.



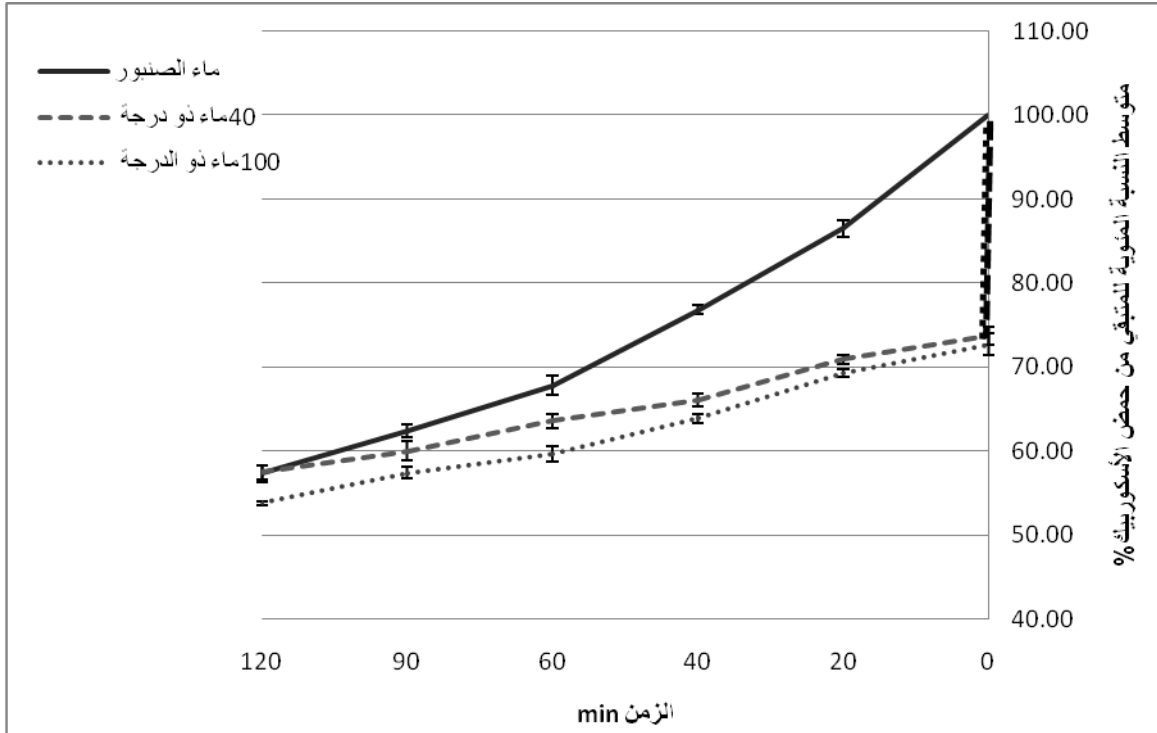
الشكل (2) : متوسط النسب المئوية لحمض الأسكوريك المتبقي عند دراسة التخريب اختلاف درجة حرارة ماء التحضير

يظهر الشكل (2) تأثير درجة حرارة الماء المستخدم في تحضير حليب الرضع على محتواه من حمض الأسكوريك، تمثل النسبة المئوية مقدار حمض الأسكوريك المتبقي في العينة بالمقارنة مع المحتوى الذي تم تحديده في العينة المحضرة بماء صنوبر لحظة التحضير (الزمن 0) من خلال المعايرة بمحلول DCPIP حيث كان المحتوى 100%.

يلاحظ من الشكل (2) انخفاض المحتوى من حمض الأسكوريك مباشرة عند استخدام ماء مسخن لتحضير حليب الرضع حيث وصل التناقص إلى 27% عند التحضير بماء حرارته 100 °C و 26% عند التحضير بماء حرارته 40°C وهذا عائد الى تخرب حمض الأسكوريك بتأثير الحرارة.

يقدر الزمن الوسطي الذي يتناول خلاله الطفل وجبة الحليب المحضر بعشرين دقيقة (Francis et al, 2008) لكن تقوم الأم أحياناً بتحضير عدة وجبات من الحليب لطفلها معاً أو تحتفظ بالحليب الزائد الذي لم يتناوله الطفل ليعطى هذا الحليب المحضر في فترات لاحقة.

تم دراسة تأثير زمن الاحتفاظ بالحليب المحضر على محتواه من حمض الأسكوريك لمدة ساعتين حيث تعتبر هذه المدة الزمن الوسطي للفواصل بين وجبتين متتاليتين للطفل الرضيع وتم مقارنة العينات المدروسة مع العينة المحضرة بماء له درجة حرارة الغرفة والمحدد محتواه من حمض الأسكوريك لحظة التحضير ولذلك تم تحديد محتوى العينات المحضرة بماء صنوبر وماء ذو درجة 40 °C وماء ذو درجة 100 °C بعد عشرين دقيقة من التحضير. يظهر الشكل (3) تخرب حمض الأسكوريك في حليب الرضع عند حفظه بعد التحضير لمدة ساعتين. تمثل النسبة المئوية مقدار حمض الأسكوريك المتبقي في العينة بالمقارنة مع المحتوى الذي تم تحديده في العينة المحضرة بماء صنوبر من خلال المعايرة بمحلول DCPIP لحظة التحضير (الزمن 0) حيث كان المحتوى 100%.



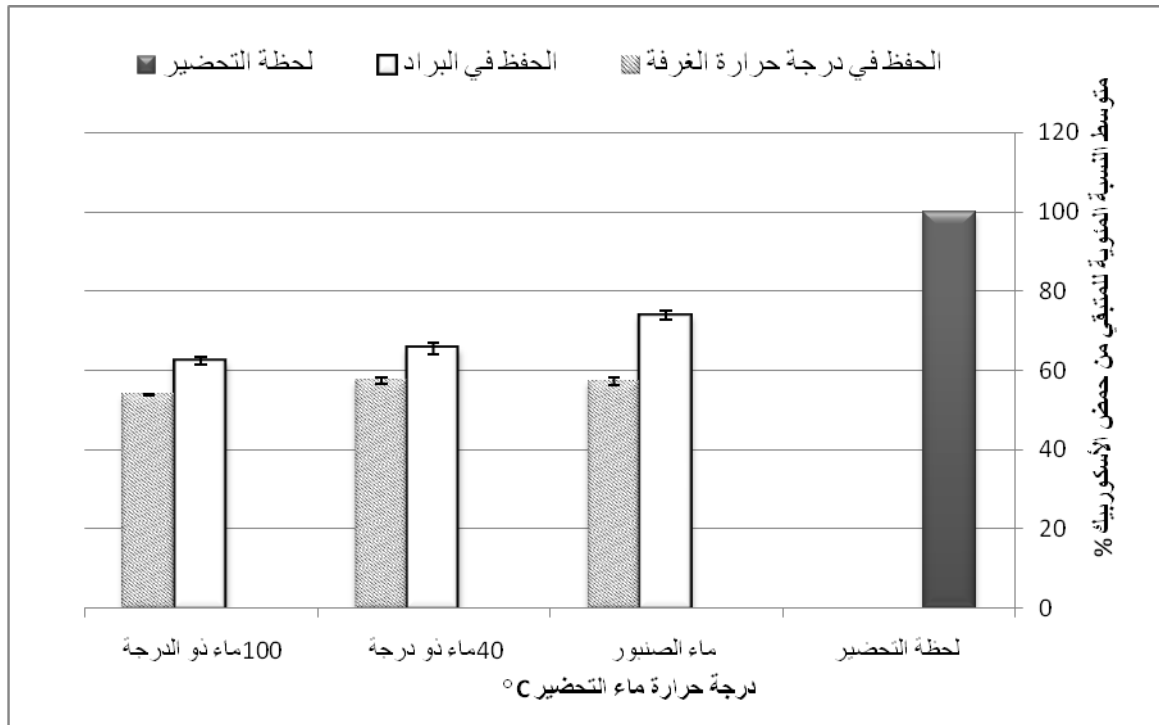
الشكل (3): متوسط النسب المئوية لحمض الأسكوريك المتبقية في حليب الرضع المحضر بماء صنبور، ماء حرارته 40°C أو ماء حرارته 100°C عند الحفظ لمدة ساعتين

يلاحظ من الشكل (3) أن حمض الأسكوريك تخرب بعد 20 دقيقة من التحضير لكن ازداد التخرب بازدياد درجة حرارة ماء المستخدم في تحضير الحليب حيث وصل التخرب إلى % 29 (حرارة ماء التحضير 40°C) وإلى % 30 (حرارة ماء التحضير 100°C) بينما كان % 13 فقط عند التحضير بماء صنبور وذلك بالمقارنة مع الكمية الأساسية الموجودة أصلاً.

تتناقص المحتوى من حمض الأسكوريك في عينات الحليب المحضرة مع الزمن حيث وصل التخرب خلال الساعة الأولى إلى % 32 في العينات المحضرة بماء صنبور، % 36 عند التحضير بماء ذو درجة 40°C و % 40 عند التحضير بماء ذو درجة 100°C .

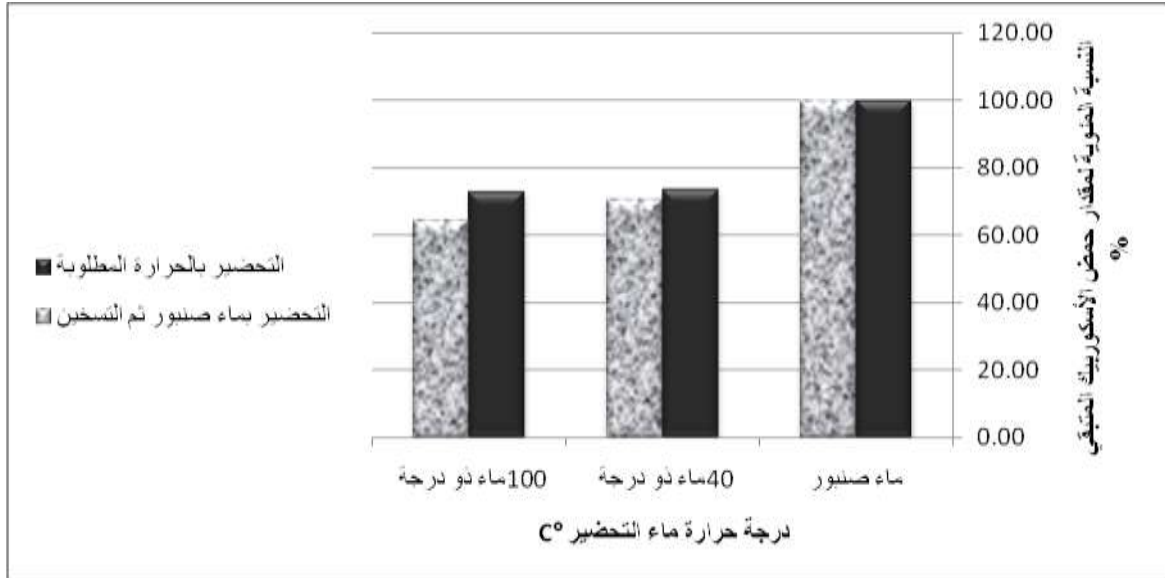
أدى الإحتفاظ بعينات الحليب المحضرة لساعة ثانية إلى ازدياد الانخفاض في محتوى حمض الأسكوريك فيها حيث وصل إلى حيث وصل التخرب إلى % 42 في العينات المحضرة بماء صنبور، % 40 عند التحضير بماء ذو درجة 40°C و % 46 عند التحضير بماء ذو درجة 100°C .

تم أيضاً دراسة تأثير الإحتفاظ بالحليب المحضر في البراد أو في درجة حرارة الغرفة على المحتوى من حمض الأسكوريك، حيث تم مقارنة محتوى حمض الأسكوريك في العينات التي وضعت في البراد لمدة ساعتين مع المحتوى في العينات الموضوعة بدرجة حرارة الغرفة لساعتين أيضاً وحصلنا على النتائج الموضحة في الشكل (4)، حيث تعتبر النسبة % 100 هي مقدار حمض الأسكوريك الفعلي الذي وُجد في عينة الحليب المحضرة بماء صنبور والمحدد مباشرة عند التحضير من خلال المعايرة بمحلول DCPIP.



الشكل (4) : متوسط النسب المتبقية بعد ساعتين من حمض الأسكوريك عند وضع الحليب المحضر في البراد

يلاحظ من الشكل (4) أن حفظ الحليب المحضر في البراد حافظ على نسبة أكبر من حمض الأسكوريك بالمقارنة مع النسبة المتبقية منه عند حفظ الحليب في درجة حرارة الغرفة، حيث كان المحتوى للعينات المحضرة المحفوظة في البراد أعلى بمقدار 8-16%. على الرغم من أن النسب المتبقية من حمض الأسكوريك في عينات الحليب المحضرة والمحفوظة في البراد كانت أعلى مقارنة مع تلك العينات المحفوظة في درجة حرارة الغرفة إلا أنها تبقى منخفضة عن الوارد اليومي المنصوح به للطفل 40-50مغ/اليوم. تم مقارنة تأثير إضافة ماء التحضير بدرجة الحرارة المطلوبة مع تأثير إضافة ماء صنبور ثم التسخين للوصول إلى درجة الحرارة المطلوبة 40°C أو 100°C على المحتوى من حمض الأسكوريك في حليب الرضع في الشكل (5)، تمثل النسبة 100% محتوى حمض الأسكوريك المحدد في اللحظة 0 في الحليب المحضر بماء صنبور.



الشكل (5): متوسط النسب المئوية المتبقية من حمض الأسكوريك في حليب الرضع المحضر باختلاف طريقة الوصول للحرارة المدروسة

يلاحظ من الشكل (5) أن تحضير الحليب بماء له درجة الحرارة 40°C أو 100°C مباشرة حافظ على نسبة حمض أسكوريك أكبر من طريقة تحضير حليب الرضع بماء صنبور ثم تسخينه إلى الحرارة 40°C أو 100°C ، حيث كان الفرق بين الطريقتين بمقدار 3% عند التحضير بماء حرارته 40°C و 8% عند التحضير بماء حرارته 100°C .

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

- وجد أن حمض الأسكوريك ثابت خلال أسبوع بعد فتح علب حليب الرضع الجاف سواء تم حفظ الحليب في البراد أو في درجة حرارة الغرفة.
- تبين من خلال الدراسة أن ارتفاع درجة حرارة ماء تحضير حليب الرضع يؤثر سلباً على محتوى حمض الأسكوريك لذلك يجب أن يحضر الحليب بماء ذو أقل درجة حرارة يستطيع الطفل تقبلها وليس بالماء بدرجة 100°C ثم تركه بعد التحضير ليصبح قريباً من الدرجة 40°C .
- إن الاحتفاظ بالحليب المحضر ترافق مع تناقص سويات حمض الأسكوريك وكلما زادت مدة الاحتفاظ ازداد تخرب حمض الأسكوريك، حيث وصل الانخفاض في المحتوى منه في عينات الحليب إلى حوالي 40% بعد ساعتين من التحضير، مع العلم أن هذا التناقص كان أقل عند حفظ الحليب المحضر في البراد مقارنة مع حفظه بدرجة حرارة الغرفة.

التوصيات:

- يوصى بالالتزام بالتعليمات المدونة على عبوات حليب الرضع فيما يتعلق بتحضيره للطفل.
- إجراء دراسات أخرى لمعرفة تخرب مكونات حليب الرضع الأخرى بتأثير شروط الحفظ والتحضير المختلفة، وكذلك شروط تخزين عبوات الحليب في أماكن التخزين (المستودعات) وأماكن التوزيع (صيدليات/متاجر).

▪ التأكد من عدم تشكل مركبات ضارة نتيجة التخرب الحاصل في مكونات حليب الرضع عند التعرض لشروط تخزين وتحضير سيئة.

▪ يمكن توصية الأمهات بمراعاة النقاط التالية عند تحضير الحليب:

- عدم تحضير الحليب مسبقاً لحين الاستخدام، وإنما وضع المقدار لمخصص لكل وجبة في عبوات مفردة وتحضير الماء بالدرجة المطلوبة وتخزينه في عبوات حافظة للحرارة ثم تحضير الحليب منه عند الحاجة.
- عدم الاحتفاظ بالحليب الزائد عن الوجبة وإنما التخلص منه مباشرةً.
- عدم تحضير الحليب بماء درجة حرارته 100°C ثم ترك الحليب ليقتل ثم إعطاؤه للطفل، وإنما يغلى الماء ثم يترك ليصبح بدرجة حرارة قريبة من 40°C ثم يحضر الحليب ويعطى للطفل مباشرةً.

المراجع:

- ALLEN, L.; DE BENOIST, B.; DARY, O.; HURRELL, R., *Guidelines on food fortification with micronutrients*. WHO and FAO, Switzerland, 2006, pages 43-91; 41 - 130.
- ANDERSON, R. H.; MAXWELL, D. L.; MULLEY, A. E.; FRITSCH, C. W., *Effects of processing and storage on micronutrients in breakfast cereals*. Food Technology, Vol. 30, 1976, pages 110-114.
- AOAC Official Method 967.21: Ascorbic Acid in Vitamin Preparations and Juices: 2,6-Dichloroindophenol Titrimetric Method. AOAC INTERNATIONAL 2006, 1968.
- BALL, G. F. M., *Vitamins in Foods: Analysis, Bioavailability, and Stability*. 5th ed., CRC press, USA, 2006, pages 294-297.
- BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P., *Food Chemistry*. 4th ed., Springer-Verlag, Germany, 2009, pages 417 – 420.
- Commission Directive 2006/141/EC of 22 December 2006 on infant formulae and follow-on formulae and amending Directive 1979/21/EC, page 22.
- FRANCIS, J.; ROGERS, K.; BREWER, P.; DICKTON, D.; PARDINI, R.; *Comparative analysis of ascorbic acid in human milk and infant formula using varied milk delivery system*. International Breastfeeding Journal. 3, 19, 2009, pages 1-6.
- *Infant Feeding Guidelines (Information for health workers)*. national health and medical research council, department of health and ageing, Australian Government, 2012, page 27.
- Institute of Medicine, Food and Nutrition Board, *Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, Selenium, and carotenoids*. National Academy Press, USA, 2000, 530.
- International Conference on Harmonization (ICH) of Technical Requirement for Registration of Pharmaceutical for Human Use, Topic Q2R1, Validation of Analytical Procedures, 2005, www.ich.org.
- NOLLET, L. M.L.; TOLDRA, F., *Handbook of Analysis of Active Compounds in Functional Foods*. 2nd ed., Taylor & Francis Group, USA, 2012, pages 195-219.
- PACHLA, L.A.; REYNOLDS, D.L.; KISSINGER, P.T.. *Review of ascorbic acid methodology. Analytical methods for determining ascorbic acid in biological samples, food products and pharmaceuticals*. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, Vol. 68, N° 1, 1985, pages 1–12.

• PARKER, L.; FUCHS, J., *Vitamin C in Health and Disease*. 1st ed., CRC Press, USA, 1997, page 29.

• ROMEU-NADAL, M.; MORERA-PONS, S.; CASTELLOTE, A. I.; LOPEZ-SABATER, M. C., *Rapid high-performance liquid chromatographic method for vitamin C determination in human milk versus an enzymatic method*. Journal of Chromatography B Spain, Vol. 830, 2006, pages 41–46.

• *Standard For Infant Formula And Formulas For Special Medical purposes Intended For Infant*; CODEX STAN 72 – 1981.

• STEŠKOVÁ, A.; MOROCHOVIČOVÁ, M.; LEŠKOVÁ, E., *Vitamin C degradation during storage of fortified foods*. Journal of Food and Nutrition Research, Slovak Republic, Vol. 45, N° 2, 2006, pages 55 – 61.

• TEUCHER, B.; OLIVARES, M.; CORI, H., *Enhancers of iron absorption: ascorbic acid and other organic acids*. International Journal of Vitamin nutrition Research, Vol. 74, N° 6, 2004, pages 403-419.

• TULLEY, R. T., *Method for the analysis of vitamin c*. United States Patent, USA, 1995, pages 1-5.

• YASMIN, A.; HUMA, N.; BUTT, M. S.; ZAHOOR, T.; YASIN, M., *Seasonal variation in milk vitamin contents available for processing in Punjab, Pakistan*. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, Saudi Arabia, Vol. 11, 2012, pages 99- 105.

• ZHANG, J., *Protein-Protein Interactions in Salt Solutions, Protein-Protein Interactions - Computational and Experimental Tools* Dr. Weibo Cai (Ed.). InTech, USA, 2012, 1ST ed., 361-370.

• ديب، منال؛ سلامي، ميسم، دراسة ثباتية فيتامين C في بعض أغذية الأطفال. المجلة العربية للعلوم الصيدلانية

– مجلة اتحاد الجامعات العربية، سورية، المجلد الرابع، العدد التاسع، 2013، الصفحات 105 – 116.