

الفصل الرابع

مشتقات الجلسريدات الثلاثية

Triglyceride derivatives

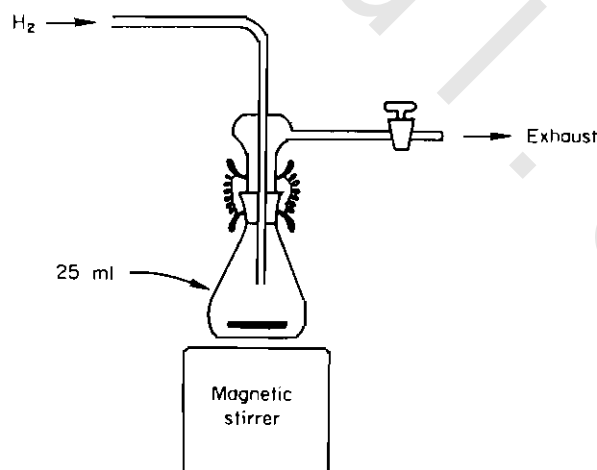
تحتوى الجلسريدات على ثلاث مجاميع فعالة وهى الأماكن الفعالة Potential Sites

لتكوين المشتقات : الروابط الزوجية - روابط الاستر - مجاميع الهيدروكسى - الأيبوكسى - الكيتونية .

أولاً : التفاعلات مع الروابط الزوجية Reaction at double bonds

أ - الهدرجة Hydrogenation

يمكن بسهولة تحويل الجلسريدات الثلاثية غير المشبعة الى جزيئات مشبعة تماما بواسطة الهدرجة . وهذا التفاعل يحدث كميًا ويمكن إجراؤه على درجة حرارة الغرفة فى وجود البلاتين كعامل مساعد ذو النشاط العالى وفيما يلى الخطوات التى تجرى فى المعمل لهدرجة الجلسريدات الثلاثية .



١ - يذاب ١ - ٥٠ مجم من عينة الجلسريدات الثلاثية فى ٣ - ٥ سم^٣ dioxane حديث التقطير ويوضع المخلوط فى دورق نو سعة ٢٥ سم^٣ ومصنفر كما فى الرسم (صفحة ١١١) .

٢ - يضاف ١٠ - ٢٠ مجم من أكسيد البلاتين (Adam's catalyst) ويوضع مقلب مغناطيسى مغطى بالتيفلون Teflon ثم يغطى الدورق .

٣ - يمرر تيار من الهيدروجين مع قفل الصنبور للحصول على ضغط (١ - ٣ رطل على البوصه المربعه) موجب أثناء التفاعل .

٤ - يبدأ التقليب ولمدة نصف ساعه - ويدل على أن التفاعل يسير على ما يرام هو تحول لون العامل المساعد من البنى الغامق الى الاسود وأخيرا يكون عصى طويله Long Strands .

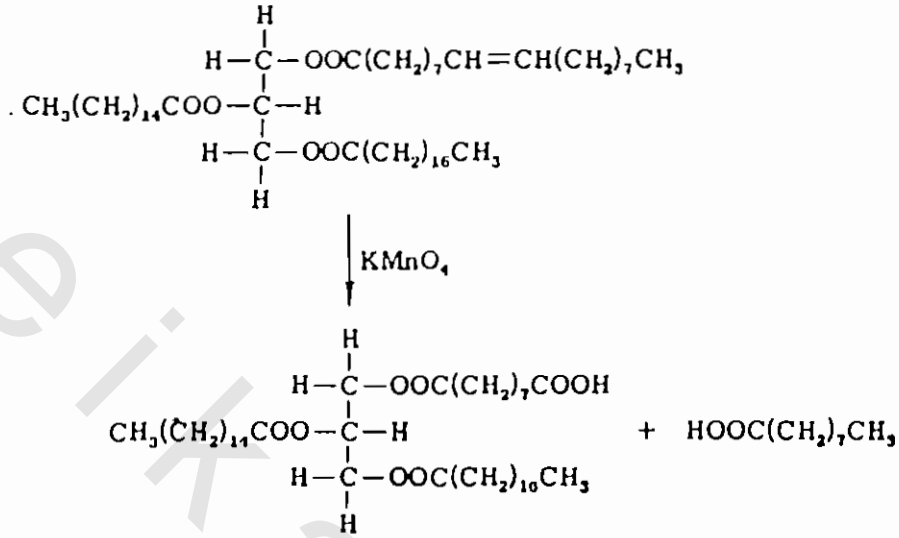
٥ - بعد إنتهاء التفاعل يضاف ١٠ سم^٣ كلوروفورم ثم تجرى عملية الترشيح للتخلص من العامل المساعد المستنزف Spent - يغسل المترشح بواسطة الماء - يجفف فوق كبريتات صوديوم لا مائة - يرشح - يبخر المحلول للحصول على الجلسريدات الثلاثية المهدرجه .

ويجب أن يكون تركيز الجلسريدات الثلاثية غير المشبعة منخفضا حتى لا تنفصل بلورات الجلسريدات الثلاثية من المحلول قبل أن يحدث لها هدرجة كاملة - ويلاحظ أن وجود مذيبات كحوليه تحدث فى بعض الاحيان تبادل تكوين الاستر ولذلك يجب عدم إستخدام هذه المذيبات وللتأكد من حدوث الهدرجة الكاملة للروابط غير المشبعة فانه يجرى التحليل بواسطة جهاز الكروماتوجرافى الغازى لاسترات الميثائل المشتقه منها وهناك بعض الدهون الطبيعيه وبصفة خاصة الزيوت البحريه وزيوت بنور العائلة الصليبيه Cruciferae تحتوى على مواد تسمم العامل المساعد والتي تعوق عملية الهدرجة بدرجة ملحوظة .

ب - الاكسدة بواسطة البرمنجنات

Permanganate oxidation

تجرى عملية أكسدة للدهون الطبيعية بواسطة برمنجنات البوتاسيوم لتقدير المحتوى وأنواع الجلسريدات التالية : UUU, SUU, SSU, SSS ونظريا فإن البرمنجنات تقوم بفتح Cleave كل رابطة زوجية فى الجلسريد الثلاثى وتكوين مجموعتين كربوكسيليتين :



تتأكسد الجلسريدات الثلاثية التي تحتوي على أحماض دهنية غير مشبعة الى جلسريدات للأحماض ثنائية الكربوكسيل - وعلى ذلك في حالة مخلوط الجلسريد الثلاثي الذي يحتوي ١٨:٠ و ١٨:١ و ١٨:٢ و ١٨:٣ تتحول الى خليط من SSS, SSA, SAA, AAA حيث تفصل بواسطة طرق كروماتوجرافية مختلفة - وعمليا تعتبر الاكسدة بالبرمنجنات هي طريقة نصف كمية Semi quantitative وذلك للأسباب الآتية :

- ١ - لا يحدث التفاعل كاملا حيث تترك بعض الروابط الزوجية غير مؤكسدة .
- ٢ - يحدث تحلل في بعض الاحيان للروابط الاستيرية .
- ٣ - تتكون نواتج ثانوية من التفاعل تحتوي على مجاميع إستر إضافية ومركبات غير معروفة متعادلة .

٤ - تحدث أكسدة ثانوية للسلسلة الكربونية (Over oxidation) وتتكون أحماض ثنائية الكربوكسيل تحتوي على ذرات كربون أقل بمقدار ذرة أو اثنتين عن المتوقع .
توجد ثلاث طرق أساسية لأكسدة الجلسريدات الثلاثية غير المشبعة بواسطة البرمنجنات وهى :

١ - طريقة Hilditch حيث يستخدم البرمنجنات فى محلول أسيتون (Hilditch and Williams. 1964

٢ - طريقة Kartha حيث يستخدم البرمنجنات فى محلول أسيتون / خليك (Kartha, 1953) .

٣ - طريقة Von Rudloff حيث يستخدم برمنجنات/ برأيودات فى محلول كحول البيوتانيل الثلاثى (Von Rudloff, 1956) .

وفى طريقة Hiditch والتي تعتمد على أكسدة الجلسريدات الثلاثية الطبيعية فى محلول أسيتون والتسخين تحت مكثف عاكس باستخدام مسحوق البرمنجنات - تعتبر نصف كمية ويحدد إستخدامها كما يلى :

أ - التفاعل غير كامل حيث أن العينة المؤكسدة لها رقم يودى يقع ما بين ٢ - ٨ .

ب - يحدث تحلل مائى بدرجة محسوسة أثناء الاكسدة .

ج - يحدث أيضا أكسدة زائدة نتيجة لكسر الروابط الزوجية .

وقد وجد Kartha أنه يمكن تقليل التحليل المائى للروابط الاستر فى وجود كميته زائدة من حامض الخليك أثناء أكسدة الجلسريدات الثلاثية فى محلول أسيتون بواسطة البرمنجنات وعلى الرغم من ذلك فما زالت هذه الطريقة نصف كميته Semiquantitative كما أنه يتكون مجاميع إستر خلات فى حالة إستعمال حامض الخليك عند الاكسدة بالبرمنجنات بالاضافة الى وجود نواتج الاكسدة لا تحتوي على مجاميع كربوكسيل حرة .

وقد وجد Rudloff أنه يمكن أن تتأكسد الروابط الزوجية للجلسريدات الثلاثية فى كحول البيوتانيل الثالث لبرأيودات الصوديوم المحتوى على كميات قليلة من البرمنجنات - وفيما يلى خطوات طريقة أكسدة خليط الجلسريدات الثلاثية من الدهون الطبيعية :

١ - تذاب ٢٠ مجم من ثلاثى أوليين فى ٥ سم^٣ tert-butanol وتضاف الى مخلوط ٥ سم^٣ من محلول الاكسده (٢١ جم بيرايودات صوديوم + ٢٥ سم^٣ ٠.١ مول برمنجنات بوتاسيوم / لتر) و ٤ سم^٣ ماء فقط و ١ سم^٣ محلول كربونات بوتاسيوم (٨مجم / سم^٣) و ١٠ سم^٣ كحول بيوتاييل ثالث .

٢ - يجرى تحريك مخلوط التفاعل لمدة ٢.٥ ساعه على درجة ٦٥م⁻ يبرد تحت ماء الصنبور - ثم يمرر غاز الايثلين فى المخلوط حتى يختفى اللون القرمزى.

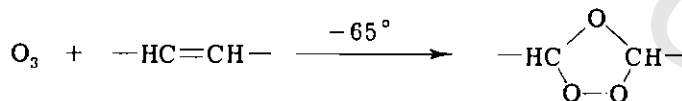
٣ - يبخر محلول الكحول البيوتاييل الثالث تحت ضغط منخفض على درجة ٧٠ - ٨٠م⁻ ثم يضاف ٢ - ٣ فقط من حامض HCl لجعل الوسط حامضى - يشبع المحلول المائى بواسطة كلوريد الصوديوم ثم تستخلص الجلسريدات المؤكسده ثلاث مرات بواسطة كلوروفورم كل مره ب ٢٥ سم^٣ .

٤ - تفصل طبقة الكلوروفورم ويبخر المذيب فى وجود تيار من الهواء تفصل الاحماض أحادية الكربوكسيل قصيرة السلسلة والناجة من عملية الاكسده من العينة بتركها فى فرن تحت تفرغ على درجة ٨٥م⁻ لمدة ١٢ ساعة .

ويجب ضبط نسب الجواهر الكشافه المستخدمه فى الاكسده تبعا لتركيب الأحماض الدهنيه فمثلا يحتاج حامض اللينوليك واللينولينيك كميته تعادل ٣ - ٥ مرات الكميته المطلوبه لحامض الأوليك .

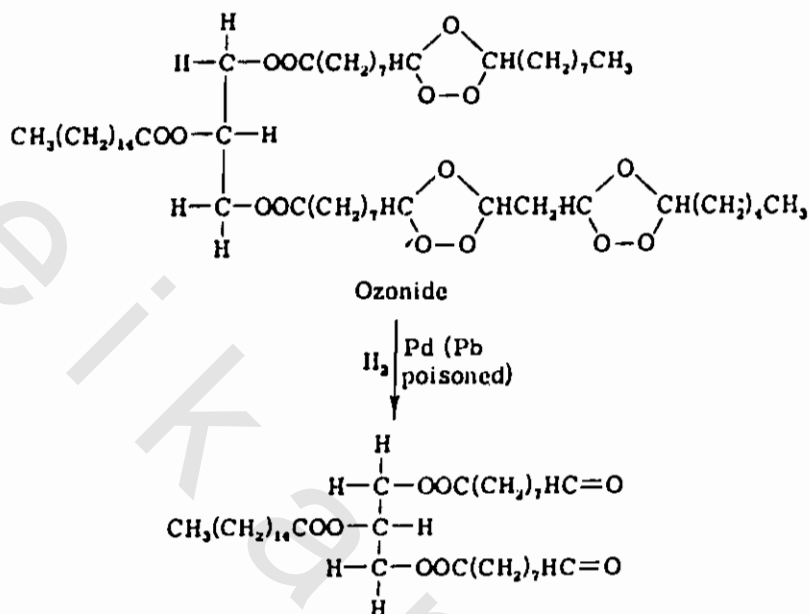
ج . التفاعل مع الأوزون Ozonization

عند إضافة الأوزون الى الليبيدات غير المشبعه فانه ينتج أوزونيد الجلسريدات الثلاثية والتي يمكن فصلها باستخدام حامض السيليسيك تبعا لاحتواها من الاكسوجين . ويجرى التفاعل مع الأوزون عند درجة - ٦٥م⁻ باضافة محلول البنتان للعينة الى محلول البنتان للأوزون ثم تبخير جميع المذيب بعد ١ - ٣ دقيقه .



ويلاحظ أن هذا التفاعل غير كمي حيث أنه ينتج من تفاعل أوليات الميثايل مع الأوزون فى البنتان ١.٧٢٪ من الأوزونيد المتوقع - وهذا الانخفاض فى كمية الأوزونيد يرجع الى تكوين هيدروبيروكسيدات - أحماض - ألدهيدات وأيضا تغيير مواضع الاكيلات فى الأوزونيدات .

وتعطى أوزونيدات الجلسريدات الثلاثية كيميا ما يطابقها من الأكهيدات بالهدرجة باستخدام العامل المساعد Lindlar - وتحول عملية الاوزون والهدرجة الجلسريدات الثلاثية غير المشبعة الأصلية الى مركبات ألهيدية .



د . تكوين إيبوكسيد Epoxidation

تتفاعل الجلسريدات الثلاثية غير المشبعة مع حامض الخليك الفوقى وتعطى مشتقات إيبوكسيديه ذات درجة انصهار مرتفعه والتي يمكن فصلها بواسطة البلوره . وهذا التفاعل غير كمي حيث أنه يتكون 65 - 87% إيبوكسيد .



هـ . التفاعل مع البروم Bromination

يتفاعل البروم بالاضافة إلى الروابط الزوجيه للجلسريدات الثلاثية غير المشبعة وهذا يؤدي إلى إختلاف واضح فى معدل نويان المركبات البروميه أى تنفصل المشتقات ثنائية ورباعية

وسداسية البروم للأحماض الدهنية عن بعضها البعض بسهولة- والطريقة الشائعة الاستخدام للتفاعل مع البروم تشمل على الاضافه التدريجية للبروم مذابا فى الكلوروفورم للعينه المذابة فى الكلوروفورم على درجة حرارة - ١٠ م مع الرج الشديد حتى يأخذ محلول العينه لون أصفر ثابت - وأن ناتج التفاعل يكون كبيرا ولكن لا تتم الاضافة كاملا حيث أنه يحدث بجانب التفاعل الاضافى الى الروابط الزوجية تفاعل إستبدالى ويمكن حساب كمية البروم المأخوذة لتقدير الرقم اليودى وفيما يلى طريقة إدخال البروم الى الجلسريدات الثلاثية :

١ - توزن وزنة مناسبة من الجلسريد الثلاثى (١٠٠ مجم للعينات التى لها أرقام يودية أعلى من ١٢٠ و ٢٠٠ مجم للعينات التى لها أرقام يودية ما بين ٦٠ - ١٢٠ ، ٥٠٠ مجم عندما يكون

الرقم اليودى أقل من ٦٠) فى دورق وتذاب فى ١٠ سم^٢ كلوروفورم .

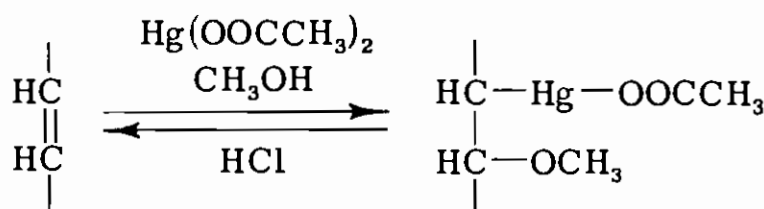
٢ - يضاف ٢٥ سم^٢ من محلول Kaufmann (٥.٢ سم^٢ بروم سائل يضاف الى ١٠٠٠ سم^٢ محلول مشبع من بروميد الصوديوم فى كحول ميثايل مطلق) - فى حالة انفصال الجلسريدات الثلاثية من الوسط السائل تضاف كميته مناسبة من الكلوروفورم للحصول على محلول متجانس .

٣ - يترك الخليط فى مكان مظلم لمدة ٣٠ - ١٢٠ دقيقة معتمدا على الرقم اليودى ثم يضاف ١٥ سم^٢ محلول يوديد بوتاسيوم ثم تعابير محتويات الدورق بواسطة الثيوكبريتات الصوديوم حتى يختفى اللون الازرق فى وجود النشا كدليل .

٤ - تستخلص الجلسريدات البروميه باضافة ٥٠ سم^٢ ماء ثم الاستخلاص بالكلوروفورم . ويلاحظ أن النظام غير المشبع المتبادل conjugated وأيضا المحتوى على رابطة أسيتيلينه لا يحدث له ادخال كامل للبروم .

و . التفاعل مع الزئبق Mercuration

تتفاعل خلاصات الزئبق مع الروابط الزوجية للجلسريدات الثلاثية غير المشبعة لزيادة قطبية الجزيئات وهذا التفاعل يتناسب مع كمية الروابط غير المشبعة .



وتنفصل هذه المشتقات بالطرق الكروماتوجرافية تبعا لعدد ذرات الزئبق القطبية وفيما يلي خطوات التفاعل مع الزئبق .

١ - تذاب ٥٠٠ مجم من خليط الجلسريدات الثلاثية في ٢ سم^٢ بنزين ، ثم يضاف ٥ سم^٢ من محلول خلات الزئبق (٢٠٪ زيادة) .

٢ - يسخن مخلوط التفاعل على درجة ٦٠ م لمدة ٣٠ دقيقة - يبرد ثم يبخر للجفاف - وتذاب نواتج الاضافة للجلسريد الثلاثي في إثير البترول ويستخدم مباشرة في التحليل .

وللوصول إلى اضافة كمية بالزئبق لزيت الكتان يستخدم كحول البروبانول أو حمض خليك بدلا من الميثانول لتكوين مشتقات بروبوكسي أو أسيتوكسي على التوالي .

ويمكن إسترجاع الجلسريدات الثلاثية الأصلية كميًا من ملحها خلات الزئبق الناتج من الاضافة بالتفاعل مع حامض HCl مخفف .

ثانيا : تفاعلات روابط الاستر Reactions at ester linkages

تؤدي معظم التفاعلات مع روابط الاستر للجلسريدات الثلاثية الى إنفراد سلاسل الاحماض الدهنية من جزيء الجلسرول وهي بالتالي تغير جزئيا تركيب الجزيء الأصلي ومن نوعية الاحماض الدهنية المنفردة ويمكن بالتالي معرفة توزيعها على جزيء الجلسريد الثلاثي .

ثالثا : التفاعل مع مجاميع الهيدروكس - اليبوكسي - الكيتونية

إن تكوين مشتقات لمجاميع الهيدروكسي - اليبوكسي - الكيتونية في الجلسريدات الثلاثية لا يكون عادة ضروريا لفصلها حيث أن فصل مخاليط الجلسريدات الثلاثية يتم بسهولة بواسطة الامصاص الكروماتوجرافي معتمدا على عدد الاحماض الدهنية المحتوية على إكسوجين لكل جزيء . وفي بعض الأحيان نجد أن مشتقات معينه لها أهمية خاصة في ثبات أو تغيير الخواص الطبيعية للجلسريدات .

أ - عملية الأستلة : Acetylation

تتم أستلة مجاميع الايدروكسيل بواسطة أندريد حامض الخليك - وهذا التفاعل يحدث كميًا . وفيما يلي خطوات الأستلة لايدروكسيل الاسيل والجلسريدات الثنائية .

- ١ - يوضع محلول يحتوى على ١ - ١٠٠ مجم عينه فى أمبولة ثم يبخر المذيب باستخدام تيار من النتروجين .
- ٢ - يضاف ٢.٥ سم^٢ أندريد حامص الخليك و ٠.٥ سم^٢ بيريدين ثم تغلق الامبولة Sealed وتسخن لمدة ٢ ساعات على حمام مائى يغلى ثم تبرد .
- ٣ - تفتح الأمبولة Ampule ويبخر المذيب تحت ضغط منخفض - ثم يحدث توزيع لمخلوط التفاعل فى ٦٠ سم^٢ من محلول كلوروفورم - ميثانول - ماء (٢٢ - ١٦ - ١٢ حجم/حجم/حجم) .
- ٤ - تنوب الجلسريدات المؤسلة فى طبقة الكلوروفورم التى تفصل وتجفف فوق كبريتات صوديوم لا مائية .
- ٥ - بعد الترشيح يبخر المذيب ثم ينقى الناتج باستخدام TLC .

ب - تكوين إثيرات Trimethyl silyl ethers

تحول مجاميع الايدروكسيل-الحررة للجلسريدات الثلاثية الايدروكسيلية والجلسريدات الثنائية إلى إثيرات ثلاثى ميثايل السيليل قبل التحليل بواسطة جهاز التحليل الكروماتوجرافى الغازى لزيادة درجة تطايرها ولنع فقد الماء أو تحرك مجاميع الاسيل خلال التحليل وفيما يلى خطوات التفاعل .

- ١ - تذاب ١٠٠ ميكروجرام من ثنائى الأوليين فى ٢٠ ميكرو لتر من هبتان و -N acetamide (trimethylsilyl) bis-n بنسبة ١٠ : ١ حجم / حجم .
- ٢ - بعد ١٠ دقائق يحقن حوالى ميكرو لتر من ناتج التفاعل مباشرة الى GLC ويفضل استخدام البيريدين عن الهبتان كمذيب للتفاعل لاذابة الجلسريدات المشبعة ويلاحظ أن إثيرات السيليل غير ثابتة لفترة طويلة ولهذا يجب تحضيرها مباشرة قبل الاستعمال .