البلورة الجزيئية

Fractional Crystallization

تعتبر طريقة البلورة الجزيئية باستخدام المذيبات من أقدم الطرق المستخدمة لفصل الدهون الطبيعية الى مكوناتها من الجلسريدات الثلاثية حيث تذوب الجلسريدات الغير مشبعة بدرجة أكبر فى مذيب كالأسيتون عن الجلسريدات المشبعة فالجلسريد الثلاثى PPO يذوب اكبر من PPP فى الاسيتون لذلك يمكن إستغلال تلك الظاهرة لفصل أنواع الجلسريدات الثلاثية عن بعضها حيث عن طريق تبريد محلول الاسيتون الذى يحتوى على كلا من PPO و PPP على ٢٠مْ نجد أن PPP " غير ذائب " يترسب على هذه الدرجة وبذلك يمكن فصل أنواع الجلسريدات الثلاثية بتكرار تلك العملية أكثر من مرة .

من ذلك يتضح أنه يمكن فصل الجلسريدات الثلاثية للدهون الطبيعية تبعا لعدد مجاميع الاسيل المشبعة أى على حسب عدد الاحماض الدهنية المشبعة الموجودة بجزىء الجلسريد الثلاثى أى تفصل الجلسريدات الثلاثية الى أربعة اقسام رئيسية وهى :

SSS و SSU و SUU و UUU

ولكن عمليا لا يمكن الحصول على الاقسام الاربعه السالفة الذكر لحدوث تداخل بين الجلسريدات وعند اعادة البلورة عدة مرات تنفصل الدهون الى مكونين وهما الصلبه والنصف صلبه والتى تكون فيها تركيب الجلسريدات الثلاثية مطابقا تقريبا للأحماض الدهنية الموجودة عليها وظلت تستخدم هذه الطريقة حتى سنة ١٩٦٠ ثم إستبدلت بطرق فصل أكثر دقة باستخدام طريق الفصل الكروماتوجرافى .

وفى عام ١٩٦٥ أدخل جنستون وآخرون Gunstone et al (1965) بعض التعديلات على هذه الطريقة حيث أستخدمت مذيبات تحتوى على أيون الفضة مما أدى إلى تحسين كفاءة الفصل وتعتمد طريقة الفصل هذه على عدد الروابط الزوجية لكل جزىء وليس كما سبق على حسب عدد الاحماض المشبعة وبصفة عامة لا تستخدم البلورة الجزيئية فى التقدير الكمى للجلسريدات على نطاق واسع ولكن تستخدم هذه الطريقة فى فصل الجلسريدات الثلاثية تبعا لمكوناتها من الاحماض الدهنية .

غير مشبع = U = Unsaturated حامض بالميتيك = P

مشبع = S = Saturated حامض أوليك = O

أولا : الطرق Methods

ا - المذيبات Solvents

يستخدم نوعان من المذيبات فى طرق البلورة الجزيئية لمخلوط الجلسريدات الثلاثية وهما :

أ - مذيبات تعتمد على عدد الاحماض الدهنية المشبعة أى على حسب عدد مجاميع الاسيل المشبعة بجزىء الجلسريد الثلاثى ومن أمثلتها الاسيتون والاثير .

ب - مذيبات تحتوى على أيون الفضة +Ag والتى تعتمد على عدد الروابط الزوجية التى توجد فى الجزىء أى على عدد الاحماض الدهنية الغير المشبعة .

* الطريقة التى تعتمد فى الفصل على عدد مجاميع الأسيل المشبعة فى الجلسريدات الثلاثية :

Nubmer of saturated acyl groups / TGS

أستخدم الأسيتون الجاف على نطاق واسع كمذيب فى البلوره الجزيئية لفصل مخلوط الجلسريدات الثلاثية والذى يعتمد فى فصله على عدد مجاميع الاسيل المشبعة حيث أن إختلاف عدد مجاميع الاسيل المشبعه الموجوده فى جزىء الجلسريدات الثلاثية TG يؤدى الى إختلاف فى درجة الذوبان فى الاسيتون والبلورات المتكونة يمكن التعرف عليها ويسهل ترشيحها .

عيوبها :

لهذه الطريقة مشكلة يجب تجنبها وهى إمتزاج الاسيتون بالماء المتكثف من الهواء الجوى على درجة الحرارة العادية وذلك لأن وجود كمية ولو قليلة من الماء فى الاسيتون تؤثر بدرجة ملحوظه على ذوبان الجلسريدات الثلاثية ويمكن تفادى هذه المشكلة بالاتى :

تجرى عملية البلوره فى وعاء مغلق وفى جو من النتروجين ويمكن إستخدام إثير البترول وكذلك الاثير بنجاح فى عملية فصل الجلسريدات الثلاثية بالبلوره نظرا لعدم إمتزاجهم بالماء ولكن تحتاج إلى كميات كبيرة من المذيب أما الايثانول والميثانول يستخدمان فى فصل TG

الاكثر قطبية ومن أمثلة ذلك الجلسريدات الثلاثية التى تحتوى أحماض دهنية قصيرة السلسلة وأيضا التى تحتوى على أحماض دهنية أكسوجينيه .

يوضع المحلول المراد بلورته فى قاع الانبوبه والتى على شكل V وتغمر فى حمام نو درجة حرارة ثابتة .

ويمكن إسترجاع البلوره عن طريق إمالة الانبوبة (V) جهة اليمين مع إستخدام ضغط النتروجين من جهة (B) ويرشح المحلول خلال القرص المسامى الزجاجى (C) وبالنسبة للحمام نو درجة الحرارة المعينة يجب أن يجهز بوسيلة ترشيح على نفس درجة الحرارة التى تمت عليها البلورة ويعطى المخلوط المبرد ثلج وملح إنخفاض فى درجة الحرارة حتى - ١٠مْ بينما يعطى الثلج الجاف فى الاسيتون درجة حرارة تتراوح من - ١٠ الى - ٧٨مْ . ومن الخطأ التحكم فى درجة الحرارة عن طريق الاضافة المباشرة بحبيبات الثلج الجاف الى المخلوط المبرد وذلك لانه يسبب تبريد مفاجىء وموضعى ويجب تقليب كل من محلول العينة والمحلول المبرد فى الحمام لتوزيع وتثبيت درجة الحرارة عند عملية البلوره وذلك حتى يتم تجانس درجة الحرارة خلالها ويكون تقليب محلول العينه برفق أو ببطىء حتى لا يحدث تكسير بللورات الجلسريدات الثلاثية ثم تترك ليحدث إتزان بين الجلسريدات الذائبة والمتبلوره وهذا الاتزان يتم ببطء شديد لذلك فان التبريد البطىء مرغوب ومطلوب للحصول على شكل جيد للبلورات وأفضل فصل ممكن . ويترك المحلول عادة على درجة الحرارة النهائية لمدة ٣ - ٢٤ ساعة قبل الترشيح وبعد إنتهاء عملية البلورة يسمح للجزء المتبلور بأن يرسب لاسفل ويرشح ويسحب المحلول الباقى . ويجب أن تتم عملية الترشيح على نفس درجة الحرارة التى تمت عليها عملية البلورة وبذلك نتجنب ذوبان أى بلورات فى المحلول أثناء الترشيح مرة أخرى ويتم ذلك بسهولة باستخدام الجهازين التاليين

ونظراً لاحتواء البلورات على كمية من المحلول المتبقى (الجلسريدات الذائبة) فانه يجب غسلها مرتين بواسطة نفس المذيب وفى نهاية كل عملية بلورة جزئية يجب معرفة كمية البلورات المنفصله وكمية الجلسريدات الذائبة بعد تبخير المذيب بالوزن .

* الطريقة التى تعتمد فى الفصل على عدد الروابط الزوجيه فى الجلسريدات الثلاثية :

Number of unsaturated double bonds / TGS

يمكن فصل الجلسريدات الثلاثية تبعا لعدد الروابط الزوجية الموجودة فى الوضع المضاهى CIS وذلك باجراء عملية البلورة باستخدام مذيبات تحتوى على نترات الفضة حيث يعمل أيون

الفضة +Ag على تكوين معقد مع الكترونات π للرابطة الزوجية وبالتالى تختلف درجة ذوبان الجلسريدات الثلاثية وهذا يؤدى إلى فصل الجلسريدات عن بعضها البعض بالبلورةعلى حسب عدد الروابط الزوجية .

وفى هذه الطريقة يستخدم مخلوط المذيبات الاتى : ميثانول مشبع بنترات الفضة / اسيتون بنسبة ٣٠/٧٠ مع الجلسريدات الثلاثية للدهون الطبيعية ويلاحظ أن كمية نترات الفضة الموجودة تساوى ضعف الكمية المطلوبة لعمل معقد مع الكترونات π لكل الروابط الزوجية الموجودة فى الجلسريدات الثلاثية .

وفيما يلى الشروط الواجب توافرها أثناء عملية البلورة :

١ – يجب أن يزود الحمام ذو درجة الحرارة الثابته الذى يوضع فيه خليط الجلسريدات بوسيلة لاجراء الترشيح عند نفس درجة حرارة البلورة – وعند إستخدام حمام الثلج الجاف فى الاسيتون فانه يعطى مدى درجات حرارة ما بين – ١٠ حتى – ٧٨م .

٢ – يجب عند ضبط درجة حرارة الحمام الا يضاف قطع الثلج الجاف مباشرة الى مخلوط العينة حيث يؤدى هذا الى التبريد العالى فى مكان معين ويعطى فصل غير كاف .

٣– يجب أن يوضع مقلب فى الحمام عند إجراء بلورة عينات كبيرة لتقليب المخلوط على درجة حرارة موحدة Uniform temperature ويجب أن يكون تقليب محلول العينة بدرجة بسيطه حيث أن التحريك بمعدل عالى يؤدى الى كسر Fracture بلورات الجلسريدات الثلاثية.

٤ – نظرا لأن الاتزان ما بين الجلسريدات الغير ذائبة (البلورات) والذائبة يتم ببطء جدا كما أن التبريد البطىء مطلوب للحصول على تركيب بلورى جيد وأيضا للوصول الى الفصل العالى لا بد من ترك مخلوط الجلسريدات على درجة حرارة البلورة المطلوبه لمدة ٢٤ ساعة قبل إجراء عملية الترشيح .

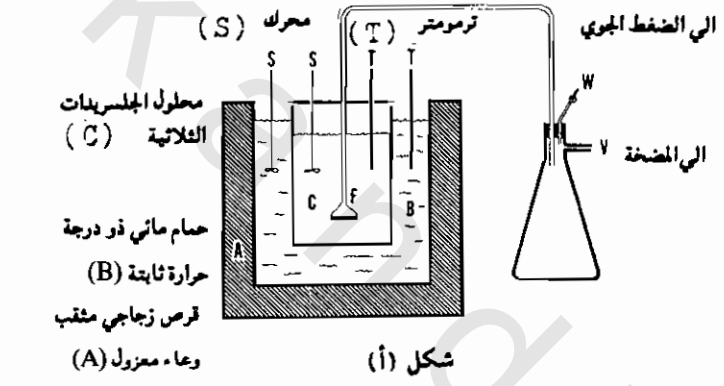
٥ – يجب بعد إنتهاء عملية البلوره ترك البلورات لترسب ثم يرشح المحلول المتبقى ويجب أيضا أن تجرى عملية الترشيح عند نفس درجة حرارة البلورة لمنع إعادة ذوبان البلورات . كما يجب أيضا عدم إحتواء البلورات على جزء من الراشح ولذلك تغسل البلورات مرتين بواسطة نفس المذيب الذى إستخدم فى عملية البلورة وله نفس درجة حرارة عملية البلورة .

٢ - طريقة العمل : Procedure

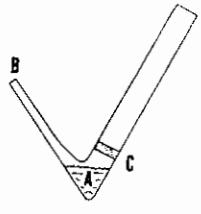
لفصل مخلوط الجلسريدات الثلاثية يجب إذابته فى مذيب مناسب ويمكن إستخدام الحرارة عند اللزوم ويتراوح نسبة المذيب الى العينة عادة ما بين ٥ : ١ الى ١٥ : ١ حجم / وزن وهى تعتمد على حسب طبيعة العينة واذا لم يتمكن توفير الحرارة الثابته الملائمة للبلورة يمكن إستخدام الجهازين الآتيين لعمل البلورة على نطاق كبير وكذلك على نطاق صغير :

١ - يوضع المحلول (A) المراد إجراء له عملية البلورة فى قاع الانبوبة التى على شكل حرف (V) وتغمر فى حمام مائى ذو درجة حرارة ثابتة .

٢ - تفصل البلورات عن طريق ميل Tilt الانبوبة (V) جهة اليمين ثم يمرر تيار من النتروجين من الفتحة (B) حيث يمر المترشح من خلال القرص الزجاجى المثقب (C) .



شكل (أ)



شكل (ب)

شكل (أ) فى العينات الكبيرة يستخدم قمع مقلوب مثقب كمرشح

Precooled filter stick with large bottles

شكل (ب) فى حالة العينات الصغيرة حيث يستخدم قرص مسامى زجاجى كمرشح

Fritted glass disk in the small - scale

ثانيا : التطبيقات Applications

أ - الفصل على أساس عدد مجاميع الاسيل المشبعة

Separation by number of saturated acyl groups

ا - خاصية الذوبان Solubility considerations

أ - عند إستخدام مذيبات مثل الاسيتون أو الاثير البترول فان عملية الفصل تعتمد على أساس عدد أو محتوى الاحماض الدهنية المشبعة والموجودة فى جزىء الجلسريدات الثلاثية .

ب - يمكن فصل مخلوط من الجلسريدات الثلاثية مثل StOO, StStL وذلك بطريقة البلورة التجزيئية باستخدام مذيبات مثل الاسيتون أو ايثير البترول.

حيث أن St StO وSt StL لهما نفس العدد من الاحماض الدهنية المشبعة.

: St StL و StOO لهما نفس عدد الروابط الزوجية .

فاذا كان عدم التشبع هو أساس الفصل فانه يمكن فصل StStO عن النوعين الاخرين واما اذا كان عدد الاحماض المشبعة هو اساس الفصل فانه يمكن فصل StOO فى النوعى الاخرين .

ونظريا فانه من الممكن فصل مخاليط الجلسريدات الثلاثية الى الاقسام الاربعة الرئيسية وهى SSS و SSU و SUU و UUU بواسطة البلورة الجزئية - وعمليا لا يمكن فصل هذه الاقسام عن بعضها البعض وتستخدم عملية البلورة فى الحصول على أى قسم مركز من الأقسام السابقة أى كل قسم يكون مختلطا بنسبة بسيطة من القسم الآخر القريب له فى درجة عدم التشبع ومن المعروف أن مخاليط الجلسريدات الثلاثية للبيدات الطبيعية لها تركيب معقد كما أن تأثيرات الذوبان المتبادل تؤدى إلى وجود جلسريدات ثلاثية فى المحلول وكان من المفروض أن تكون هذه الجلسريدات ضمن البلورات التى تنفصل عند درجة حرارة معينة . ومن المعروف أن الجلسريدات الثلاثية تكون بلورات حقيقية ببطء شديد وان ظروف الاتزان لا يمكن أن نصل إليها بسهولة تحت ظروف العمل العادية وعلى ذلك فان الفصل عن طرق البلورة الجزيئية تعطى جلسريدات مختلطة بالاضافة الى ذلك فان تأثيرات الذوبان المتبادل والجلسريدات المختلطة تزداد بزيادة عدم التشبع وعلى ذلك فهذه طريقة تستخدم فقط فى فصل

obeikandi.com

الدهون الصلبة فصلا حادا بينما يكون الفصل غير مناسب فى حالة الزيوت السائلة وهناك صعوبات أخرى تتمثل فى أنه عند وجود أحماض دهنية ذات طول سلسلة C4 - CI2 لها خصائص ذوبان تتشابه مع الاحماض طويلة السلسلة غير المشبعة – ونتيجة لكل هذه المشاكل فانه عن طريق الفصل بواسطة البلورة الجزيئية نحصل على فصل معقول فقط للدهون النصف صلبة وأن تحتوى على احماض دهنية بسيطة اى تحتوى الجلسريدات الثلاثية بصفة عامة على الاحماض الدهنية التالية 16:0 و 16:1 و 18:0 و 18:1 ونسبة لا تزيد عن ٣٠ ٪ من 18:2.

حامض لينوليك = L حامض إستياريك = S حامض أوليك = O

تتابع عمليات البلورة :

إن تتابع عملية البلورة المضبوط لفصل مخاليط الجلسريدات الثلاثية يعتمد بدرجة كبيرة على تركيب العينة وأنه يمكن فصل الجلسريدات الثلاثية لعينة ما بالرجوع الى الطرق المذكورة فى المراجع لفصل عينه من دهن آخر قريب لها فى التركيب . والرسم التخطيطى التالى (صفحة ١٢٦) يبين تتابع عملية البلورة لفصل الجلسريدات الثلاثية لدهن الغنم الى مكونات تختلف بدرجة كبيرة عن بعضها البعض فى محتواها من الجلسريدات المختلفة .

تجرى عمليات البلورة للعينات باستخدام مخاليط ١٠٪ فى الاسيتون أو فى الاثير على درجات الحرارة المبينة بالشكل التخطيطى ، والجدول فى صفحة ١٢٤ يبين التركيب الكيماوى للاحماض الدهنية لستة المكونات الناتجة من عملية البلورة .

تأثيرات الذوبان المتبادل Mutual Solubility Effects

يؤدى الذوبان المتبادل خاصة فى وجود جلسريدات مختلطة إلى وجود نسبة من نوع معين من الجلسريدات الثلاثية فى صورة ذائبة أى غير مترسبة (أى لا تكون ضمن البلورات) وحيث من المفروض طبقا للأساسيات التى سبق ذكرها أن تكون ضمن البلورات عند درجة حرارة معينة.

أى يفهم مما سبق أن بعض الجلسريدات حينما تكون فى المذيب على حدة أى ليست فى مخلوط وعند التبريد فيتوقع أن تكون كمية البلورات كبيرة أى لا تنوب فى المذيب بل تترسب . بينما نفس هذه المركبات إذا وجدت فى مخلوط من TGS وعلى نفس درجة الحرارة فانه يتبقى جزء منها فى المذيب فى صورة ذائبة أى تقل كمية البلورات نتيجة لوجود جلسريدات أخرى قريبه لها فى التركيب الكيماوى " مثل SSS و SSU وكذلك UUU و UUS .

وعملية تكوين بلورات من TGS تمثل نوعية معينه تعتبر عملية بطيئة جدا لأن الاتزان لا يمكن الوصول اليه بسهولة تحت الظروف المعملية العادية .

كما تحدث خاصة النوبان المعاكس " أى تؤدى الى ذوبان انواع معينه من الجلسريدات من المفروض أنها تكون ضمن الجلسريدات المتبلوره وتظهر هذه الخاصية بدرجة واضحة فى وجود الجلسريدات المختلفة أى أنه يوجد تأثير متبادل على درجة النوبان كما يزداد هذا التأثير بزيادة درجة عدم التشبع لذلك من السهل فصل الدهون الصلبه لأن نسبة الأحماض الغير مشبعة قليلة وبالتالى يقل تأثير العوامل التى تعوق تكوين البلورات التى تخص تركيب معين ويزيد من صعوبة فصل جلسريدات الزيوت السائلة الى وجود الاحماض التى تحتوى على C4 - C12 والتى لها نفس درجة النوبان للأحماض الدهنيه ذات السلسلة الكربونية الطويلة والغير مشبعة .

مما سبق يتضح أن أفضل عملية فصل بالبلورة يمكن الحصول عليها فى حالة الدهون النصف صلبة والتى تحتوى على الاحماض الدهنية البسيطة مثال ذلك مخلوط TGS الذى يحتوى على أحماض باليتيك – باليتوأوليك – إستياريك – أوليك وأقل من ٣٠٪ لينوليك .

البلورة المتتابعة Crystallization Sequence

تختلف عملية تتابع البلورة لفصل المخاليط من الجلسريدات الثلاثية اختلافا كبيرا على حسب تركيب العينة ولاجراء عملية البلورة الجزيئية لدهن ما فانه يمكن الاستعانه بالطرق المذكوره فى المراجع والتى تستخدم دهون قريبة فى التركيب مع العينه المختبرة .

والشكل التالى يوضح نتائج عملية البلورة لفصل الجلسريدات الثلاثية من دهن الغنم الى مكوناتها المختلفة آخذا فى الاعتبار إختلاف تركيب TGS بقدر الامكان .

العينات التى يجرى عليها البللورة عبارة عن ١٠٪ (وزن حجم) فى محلول الاسيتون (A) أو اثير (E) على درجة الحرارة المشار اليها ، والاحماض الدهنية المكونة للاقسام الستة النهائية موضحة بالجدول (١٦) :

جدول(١٦)

المكونات	Fraction (mole%)			الاقسام (مول ٪)			
	I	II	III	IV	V	VI	Total
Component acids تركيب الاحماض							
Saturated (S) مشبعة	94.8	75.6	63.1	49.8	36.0	18.2	60.8
Unsaturated (U) غير مشبعة	5.2	24.4	36.9	50.2	64.0	81.0	39.2
Component TG تركيب الجلسريدات الثلاثية							
SSS	84.4	35.2	23.2	13.0	*	*	28.0
SSU	15.6	56.4	42.3	23.4	8.1	*	28.5
SUU	*	8.4	34.5	36.9	91.8	54.6	40.7
UUU	*	*	*	*	*	45.4	2.8

تم حساب تركيب الجلسريدات الثلاثية من :

١ – تركيب الاحماص الدهنية كاقسام منفردة

٢ – محتوى الاحماض الدهنية المشبعة SSS مقدرة عن طريق الاكسدة بالبرمنجات البوتاسويم KM_nO_4 .

٣ – المكونات المشار اليها * تكون غير موجودة بالاقسام التى بها العلامة .

ب – الفصل على أساس عدد الروابط الزوجية

Separation by number of double bonds

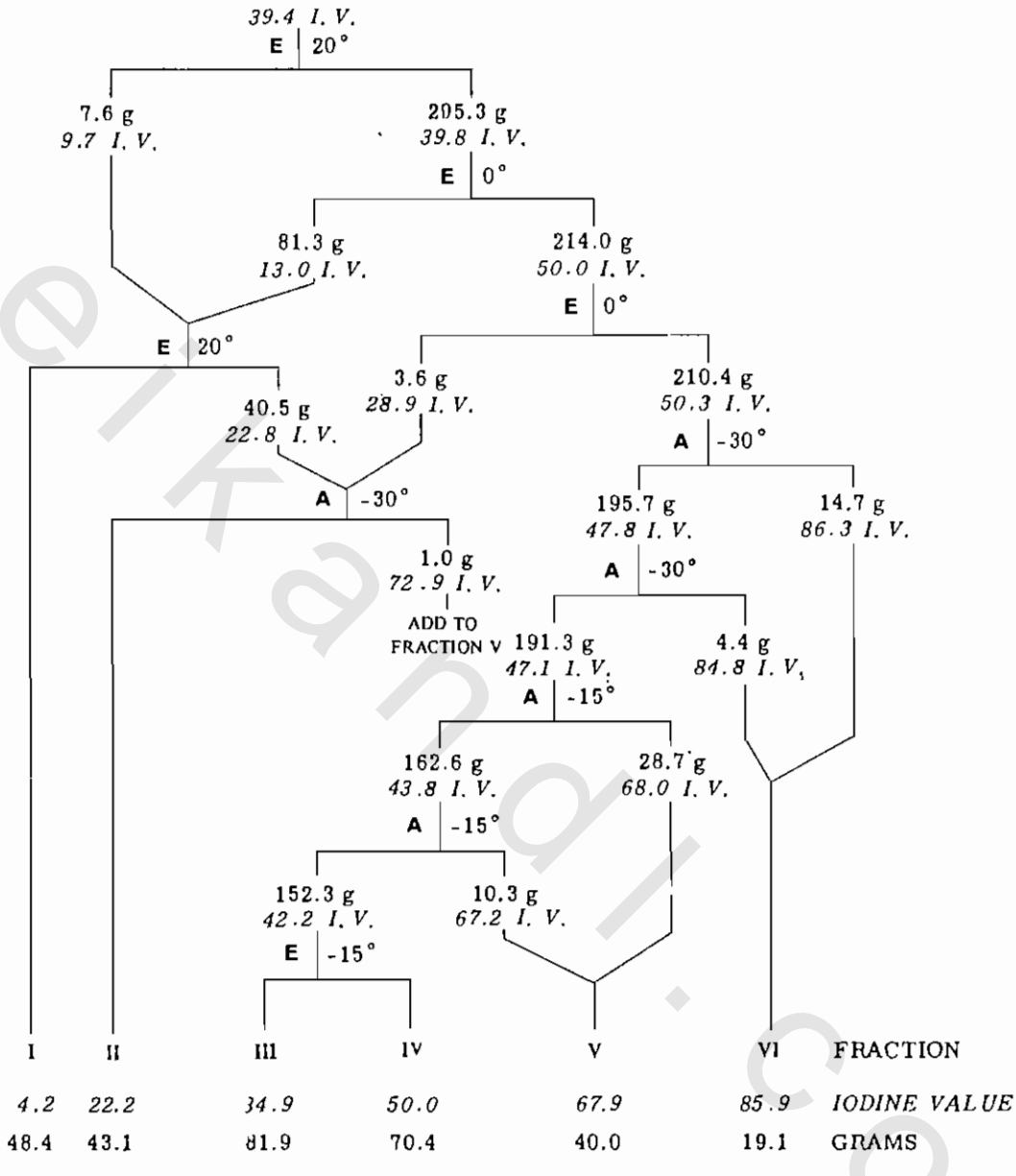
فى المحاولات الاولى التى أجراها هيلدتش وسيقيل (Hilditch and Seavell, 1950) لفصل الجلسريدات العالية فى عدم التشبع من الدهون الطبيعية وذلك باجراء عملية البلورة باستخدام الاسيتون فقط على درجة حرارة من – ١٠مْ الى – ٧٠مْ كانت غير ناجحة .

إلا أنه يمكن فصل خليط الجلسريدات الثلاثية بكفاءة تبعا لمحتواها من الروابط الزوجية فى الوضع CIS وذلك باجراء عملية البللورة باستخدام مذيبات تحتوى على نترات فضه A_gNO_3

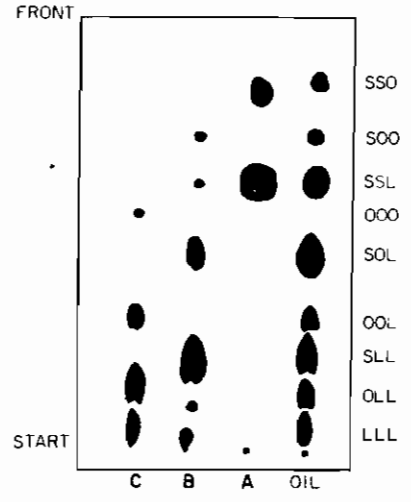
obeikandi.com

بتكوين المعقد بين Ag^+ والكترونات π للرابطة الزوجية مع تغيير درجة حرارة البللورة للجلسريدات وبذلك يتم الفصل على حسب درجة عدم التشبع وقد استخدمت هذه الطريقة لفصل TGs من دهون بعض النباتات مثل Jatropha Cursas وذلك باستخدام مذيبات مشبعة بمحلول نترات الفضة والمذيبات المستخدمة هى ميثانول / أسيتون بنسبة ٣٠/٧٠ وعلى درجة حرارة – ١٠مْ والرسم التخطيطى التالى يبين أن (A) هو راسب يحتوى أساسا على SSU أى يحتوى على رابطة واحدة أو رابطتين زوجيتين فى جزىء TG وعند تبريد الراشح على – ٧٠مْ أعطت بللورات (B) تتبع القسم SUU والذى يحتوى على ٣ أو ٤ روابط زوجية أما المتبقى (Mother liquor) (٢) كله تقريبا UUU يحتوى على ٥ أو ٦ روابط زوجية لكل جزىء TG.

ومن الملاحظ عند إجراء عملية البلورة مرتين فى وجود Ag^+ فانها تعمل على تفريد جيد لمكونات TG لدهن نبات Jatropha Cursas كما فى شكل حـ ، s وهذا الفصل أفضل بكثير من إجراء عملية البللورة عشر مرات باستخدام مذيبات تخلو من Ag^+ لتفريد TG لدهن الغنم كما فى شكل هـ ، وهذه الطريقة لها أهمية كبيرة اذا كان المطلوب بصفة خاصة فصل كل من SUU و UUU عن بعضهما البعض .

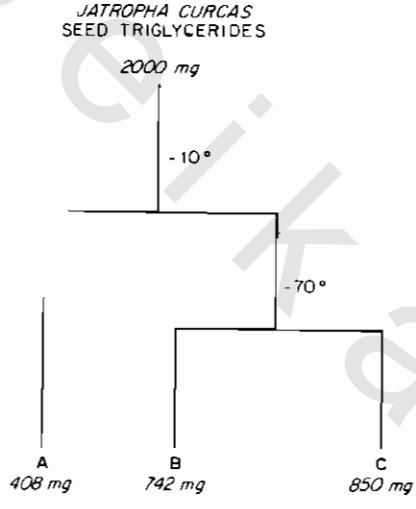


شكل تخطيطى يبين فصل الجلسريدات الثلاثية لدهن الغنم .



الشكل الأيمن :

يبين فصل المكونات الثلاثة السابقة من الشكل السابق (A,B,C) وتم إجراء تحليل عليها باستخدام الواح TLC المدعمة Ag^{+} " تحضر المادة الدعامية من حامض السيليسيك مع ١٧٪ نترات فضة "وباستخدام المذيب بنزين / اثير (٩٠/١٠حجم/حجم) .



الشكل الايسر : .

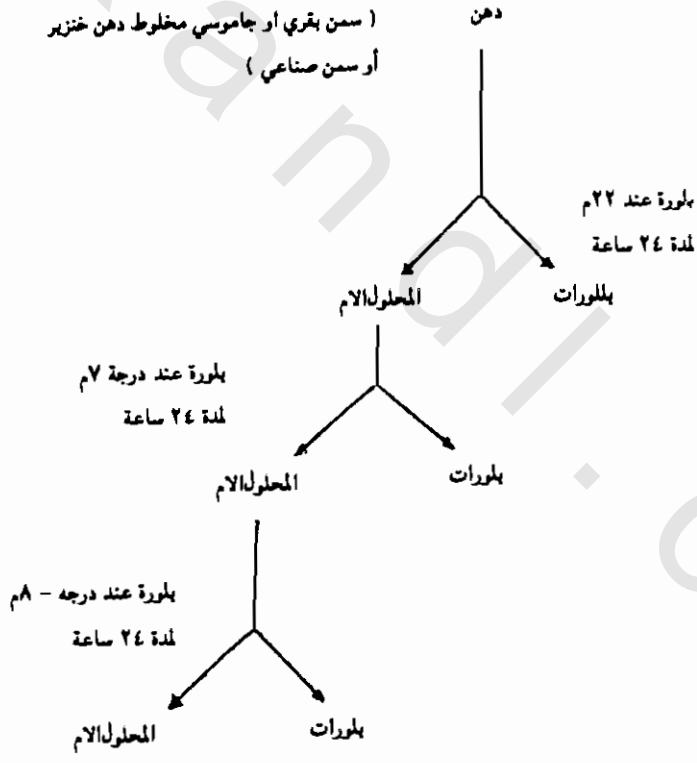
يعتمد الفصل على أساس عدد الروابط الزوجية فى الوضع CIS وباجراء عملية البلوره المتتابعه وفى وجود أيون الفضه .

أخذت وزنه معلومه من العينة (٢٠٠ ملجم) وبلورتها على - ١٠مْ ولمدة ٢٤ ساعة فى وجود ١٠ سم٣ ميثانول ومشبع بمحلول نترات الفضة $A_g NO_3$

أسيتون ٣٠/٧٠ ثم الترشيح ثم تكرار البلوره للمحلول على - ٧٠مْ ولمدة ٢٤ ساعة باستخدام مذيب اثير البترول

obeikandl.com

ومن تطبيقات البلورة الجزيئية عند درجات منخفضة هى الكشف عن خلط السمن البلدى بدهن الخنزير حيث أجريت عدة عمليات بلورة لسمن بقرى وسمن جاموس نقى مخلوط بدهن خنزير وسمن صناعى بنسب من ٥ – ٣٠٪ باستخدام مذيبات محتوية على أيون الفضة – ثم إذابة العينات المراد تقديرها فى خليط من الميثانول المشبع بنترات الفضة وأسيتون بنسبة ٣٠/٧٠ (حجم / حجم) ونسبة الليبيدات إلى نترات الفضة فى المخلوط هى ١ : ١٠ (وزن / حجم) أجريت عملية البلورة الاولى عند درجة حرارة الغرفة وفصلت البلورات عند نفس درجة الحرارة بعد ٢٤ ساعة ثم أجريت عملية بلورة ثانيه للمحلول الام عند درجة حرارة ٧م – وتم فصل البلورات من المحلول الأم بعد عملية الاتزان وأجريت عملية بلورة ثالثة للمحلول الأم الناتج من البلورة الثانية على درجة – ٨م وتم معرفة نسبة الاحماض الدهنية فى كل جزء متبلور والشكل التخطيطى التالى يبين خطوات عمليات البلورة المتتابعة (Farag et al., 1983) .



تبين الجداول ١٧ و ١٨ تركيب الاحماض الدهنية للبلورات المفصولة على درجات حرارة ٢٢ ، ٧° ، – ٨°م والتى توضح إختلاف التركيب الكيماوى للمخاليط عن التركيب الاصلى للسمن الطبيعى البقرى أو الجاموس .

ومن ثم يمكن معرفة مدى غش الدهون الطبيعية بدهون الخنزير والسمن الصناعى .

وأستخدام أيضا رقم بومر Boemer Number لمعرفة مقدار خلط الدهون الحيوانية النقيه بدهون حيوانية أخرى عن طريق عملية البلورة كما يلى :

obeikandl.com

جدول(١٧)

التغير في النسب المئوية للأحماض الدهنية الشائعة في السمن البقري ، الخنزير ، السمن الصناعي والعينات المخلوطه الناتجه من عملية البلورة الجزئية .

نسبة الخلط	١٤:صفر	١٦:صفر	١٨:صفر	١ \ ١٨	٢٠:صفر	٢٢:صفر	١٤:صفر	١٦:صفر	١٨:صفر	١:١٨	٢٠:صفر	٢٢:صفر	١٤:صفر	١٦:صفر	١٨:صفر	١:١٨	٢٠:صفر	٢٢:صفر
بقري / خنزير	المكون الاول						المكون الثاني						المكون الثالث					
١٠٠ صفر	٧.٧	٢٤.٧	ر٧-	٦.٩	١٠.٨	ر٤٠-	٤.٨	١٦.٩	٢.٧	٥.٤	١١.٣	٥٦.٥	ر٦-	ر١٦-	٢.٣	ر٥-	١٢.١	٥٦.٥
٩٥ ٥	١١.٣	٢٩.٤	٧.٥	١٧.٥	٧.٨	٢٣.٤	٢.٦	١٦.٣	٢.٦	١.٢	١٣.٣	ر٦١-	ر٥-	١٦.٣	٢.٢	٦.٢	ر١٢-	٥٦.-
٩٠ ١٠	١١.٣	٢٩.٦	٩.٢	١٩.٤	٤.٨	٢٢.٦	٢.٥	١٤.٨	٣.١	١.٣	١٣.٢	ر٦٢-	٤.٧	١٥.٩	٢.٥	٥.٢	١٢.٣	٥٦.٦
٨٥ ١٥	١٠.٨	٢٩.٥	٩.٨	٢٠.٧	٤.٥	٢١.١	٢.١	١٤.١	٢.٥	١.٣	١٣.٢	ر٦٥-	٢.٢	١٠.٤	٢.١	٢.٤	١٢.٦	٦٧.٨
٨٠ ٢٠	٩.١	ر٣٥-	٩.٢	٢٤.٣	٤.٤	١٥.١	٢.٢	١٣.٨	٢.٤	١.٤	١٢.٥	ر٦٥.٤	٢.٨	٨.٨	٢.٦	١.٨	١٢.٦	٦٨.٦
٧٥ ٢٥	٨.٧	٣٦.٤	١٠.٢	٢٤.٧	٣.٢	١٥.٣	٢.٢	١٢.٩	١.٨	١.٤	١١.٥	ر٦٧.٨	٢.١	٧.٦	ر٢.-	ر١-	ر١٢.-	ر٧٣.-
٧٠ ٣٠	٨.٦	٣٦.٧	٩.٦	٢٣.٥	٢.٨	١٧.١	٢.١	١٢.٨	١.٨	١.٤	١١.٣	٦٩.٢	ر٢-	٦.٦	١.٣	ر١-	١٢.٤	ر٧٤.-
صفر ١٠٠	٢.٢	٣٦.٢	١٢.٨	٢٢.٣	ر٨-	١٨.٣	٠.١	٢.٢	١.١	١.٦	٦.٧	٨٨.١	٠.٢	١.٧	٠.٥	٠.٩	٦.٢	ر٩٠.-
بقري سمن صناعي																		
١٠٠ صفر	٧.٧	٢٤.٧	ر٧-	٦.٩	١٠.٨	ر٤٠-	٤.٨	١٦.٩	٢.٧	٥.٤	١١.٣	٥٦.٥	ر٦-	ر١٦-	٢.٣	ر٥-	١٢.١	٥٦.٥
٩٥ ٥	٨.٥	٢٣.٩	٦.١	٨.٣	١٠.٥	ر٤٠-	٣.٧	١٦.٧	٢.٩	٣.١	١١.٥	٥٩.٧	٤.٩	١٥.٤	٢.٩	٤.٤	١٢.١	٥٨.-
٩٠ ١٠	٨.٢	٢٢.٧	٦.٢	١٥.٣	٦.٩	٣٧.٨	٤.٦	١٥.٣	٢.٣	٣.٢	١٨.٧	٥٩.٢	٣.٩	١٣.٧	٢.٩	٤.٤	١٠.٩	٦٠.٩
٨٥ ١٥	٨ر-	٢٧.٢	٥.٤	٢٤.٥	٤.٩	٢٧.٧	٢.٢	١٤.٩	٢.٢	١.٢	١٣.٧	ر٦٤-	٣.٩	١٠.٦	ر٢-	ر٤-	٩.-	٦٧.٤
٨٠ ٢٠	٨.٢	٢٧.٣	٥.٧	٢٥.-	٤.٩	٢٦.٣	ر٢-	ر١٥-	ر٣-	١.٢	١٣.٩	٦٢.٧	٣.٤	١٠.٥	٢.٨	٤.٤	٨.٦	٦٦.٢
٧٥ ٢٥	ر٧-	٢٧.١	ر٥-	٢٩.-	ر٥-	٢٤.٢	١.٧	١٢.٧	٣.٢	١.٢	١٢.٢	ر٦٤-	٢.٦	١٠.٤	٢.٦	٤.٣	٧.٨	٦٩.٢
٧٠ ٣٠	٦.٢	٢٨.٢	٤.٢	٣٧.٥	٤.٢	١٧.٧	١.٨	١٢.٦	ر٣-	١.١	ر١٢-	٦٧.١	٢.٦	٨.٧	٢.٢	٤.٢	٧.٨	٧١.٤
صفر ١٠٠	ر١-	٢٨.٥	ر١-	٥٥.١	ر١-	١٣.٢	٠.٣	٣.٦	٠.١	٨.٤	١ر٧	٨٥.٧	٠.٢	٢.٨	٠.١	٦.٨	٤.٣	٨٥.٦

١٤ : صفر = حامض ميرستيك ١٦ : صفر = حامض باليتيك ١٨ : صفر = حامض استياريك ١٨ : ١ = حامض اوليك ٢٠ : صفر = حامض اراشيديك ٢٢ : صفر = حامض بهنك

obeikandl.com

جدول(١٨)

التغير في النسب المئوية للأحماض الدهنية الشائعة في السمن الجاموسي ، الخنزير ، السمن الصناعي والعينات المخلوطه الناتجه من عملية البلورة الجزئية

نسبة الخلط	١٤ صفر	١٦:صفر	١٨:صفر	١:١٨	٢٠:صفر	٢٢:صفر	١٤:صفر	١٦:صفر	١٨:صفر	١:١٨	٢٠:صفر	٢٢:صفر	١٤:صفر	١٦:صفر	١٨:صفر	١:١٨	٢٠ صفر	٢٢:صفر
جاموس خنزير	المكون الاول						المكون الثاني						المكون الثالث					
١٠٠ صفر	١٠,٧	٣٠,١	٦,٩	١٨,٧	٨,٥	٢٢,٢	٢,٧	١٢,١	١,٩	١,٥	١٢,٤	٦٧,١	٢,١	٥,٨	١,٧	١ر٤	١٧,٥	٦٨,٤
٩٥ ٥	١٠,٧	٣٢,٥	٧,٤	١٩,٣	٧,٣	ر٢٠-	١,١	١٢,٥	٢,٨	١,٣	١١,٦	٦٧,٢	٢,-	٤,٩	٢,٢	ر١-	ر١٧-	٦٩,٢
٩٠ ١٠	٨,٧	٣٢,٥	ر٩-	٢٢,٣	٥,١	١٩,٩	١,٨	١٢,٨	٢,٨	١,٣	١٢,٦	٦٥,٥	١,٩	٤,٧	١,٥	٠,٠	ر١٧-	٧٠,١
٨٥ ١٥	ر٨-	٣٢,٥	٩,١	٢٢,٩	٥,١	ر٢٠-	١,٧	ر١٢-	٢,١	١,٣	١٣,-	٦٨,-	ر١-	٣,١	١,٩	٠,٧	ر١٧,٣	ر٧٤-
٨٠ ٢٠	٧,٧	٣٣,٥	٩,١	٢٣,٥	٥,٤	١٨,١	١,٧	١٢,٤	ر٢-	١,٣	١٢,٤	٦٧,٦	١,٢	٣,٢	ر٢-	٠,٥	ر١٧,٠	ر٧٢-
٧٥ ٢٥	٧,١	٣٣,٣	٩,٦	٢٥,١	٤,٩	١٧,٨	٠,٩	١٢,١	١,٩	١,٤	١١,١	٧٠,٨	ر١-	ر٣-	١,٣	ر١-	١٥,٣	٧٥ر٤
٧٠ ٣٠	٥,٩	٣٤,٢	٨,٩	٢٧,٥	٤,٤	١٧,٣	ر٨-	١٢,٣	١,٤	١,٣	١٠,٣	٧٢,١	١,٣	٢,٤	١,٥	١,١	١٣,٩	٧٧ر٢
صفر ١٠٠	٢,٢	٣٦,٢	١٢,٨	٢٦,٣	ر٤-	١٨,٣	ر١-	٢,٢	١,١	١,٦	٦,٧	٨٨,١	ر٢-	١,٧	٥ر-	٩ر-	٦,٢	ر٩٠-
جاموس سمن صناعي																		
١٠٠ صفر	١٠,٧	٣٠,١	٦,٩	١٨,٧	٨,٥	٢٢,٢	٢,٧	١٢,١	١,٩	١,٢	١٢,٧	٦٧,١	٢,١	٥,٨	١,٧	١,٤	١٧,٥	٦٨ر٤
٩٥ ٥	١١,٢	٣١,٩	٥,٩	٢١,٧	٧,٧	١٨,٤	١,٨	١١,٥	ر٢-	١,١	١٤,٦	٦٦,١	١,٩	ر٦-	١,٩	١,٥	١٦,٤	٧١,٣
٩٠ ١٠	٧,٨	٣٢,٥	٥,٦	٢٤,٤	ر٧-	١٩,٩	١,٧	ر١٢-	٢,٤	١,١	١٢,٢	٦٧,٦	١,٥	٧,٤	١,٣	١,٥	ر١٦-	٧١,٢
٨٥ ١٥	ر٩-	٣١,٢	٥,١	٢٦,٥	٥,٣	٢٠,٣	ر١-	١٢,١	٢,٥	١,٣	١١,٥	ر٦٩-	٢,٤	٤,٨	٢,١	١,٦	ر١٢-	٧٣,١
٨٠ ٢٠	٧,٣	٣٠,٨	٤,٦	٣٤,٨	٤,٨	١٤,٩	١,٥	١٢,٢	٢,٢	١,١	١٢,٢	٦٨,٥	١,٦	٥,٩	١,٩	١,٦	١١ر١	٧٤,٤
٧٥ ٢٥	٨,٣	٣٠,٥	٣,٢	٣٥,٩	٣,٧	١٦,٢	١,٤	١٢,١	٢,٥	١,٥	١٠,٥	٦٩,٣	١,٢	٤,٨	١,٨	١,٧	١٠ر٢	٧٦,٨
٧٠ ٣٠	٧,٩	٣١,١	٣,٣	٣٥,٨	٣,٨	١٦,٥	١,٢	١٢,١	٢,٥	٢,٦	١٠,٨	ر٦٩-	١,٤	٥,٤	ر٢-	١,٨	٩ر٩	ر٧٧-
صفر ١٠٠	ر١-	٢٨,٥	ر١-	٥٥,١	ر١-	١٣,٢	ر٣-	٣,٦	١ر-	٨,٤	١,٧	٨٥,٧	٥ر-	٢,٨	١ر-	٦,٨	٤ر٣	٨٥,٦

١٤ : صفر = حامض ميرستيك ١٦ : صفر = حامض باليتيك ١٨ : صفر = حامض استياريك ١٨ : ١ = حامض اوليك ٢٠ : صفر = حامض اراشيديك ٢٢ : صفر = حامض بهنك

obeikandl.com

تؤخذ كمية من الدهون الحيوانية النقية والمخلوطة وتصهر وترشح ثم يذاب الدهن المصهور فى أسيتون ويترك على درجة ٣٠ م لمدة ١٨ ساعة – تفصل البلورات بالترشيح عن المحلول الام ثم تغسل البلورات بواسطة الاسيتون . وتترك البلورات لتجف هوائيا ثم تستكمل عملية التجفيف فوق كبريتات الماغنسيوم ثم يعين لها درجة الانصهار .

يؤخذ جزء من بلورات الجلسريدات الثلاثية (٠.٥ جم) وتجرى لها عملية تصبن بواسطة بوتاسا كاوية كحولية (٠.٥ ع) ثم تفصل الاحماض الدهنية من املاحها بواسطة حامض معدنى وتستخلص الاحماض الدهنية المنفردة بواسطة اثير – يبخر الاثير للحصول على الاحماض الدهنية ثم يقدر لها درجة الانصهار .

وقبل تقدير درجة الانصهار للجلسريدات الثلاثية والاحماض يجب وضعها فى ثلاجة على درجة ٤°م ومن المعادلة التالية تستنتج مدى خلط الدهون النقية بدهون اخرى .

رقم بومر = أ + ٢ (أ – ب)

حيث :

أ = درجةانصهار الجلسريدات الثلاثية .

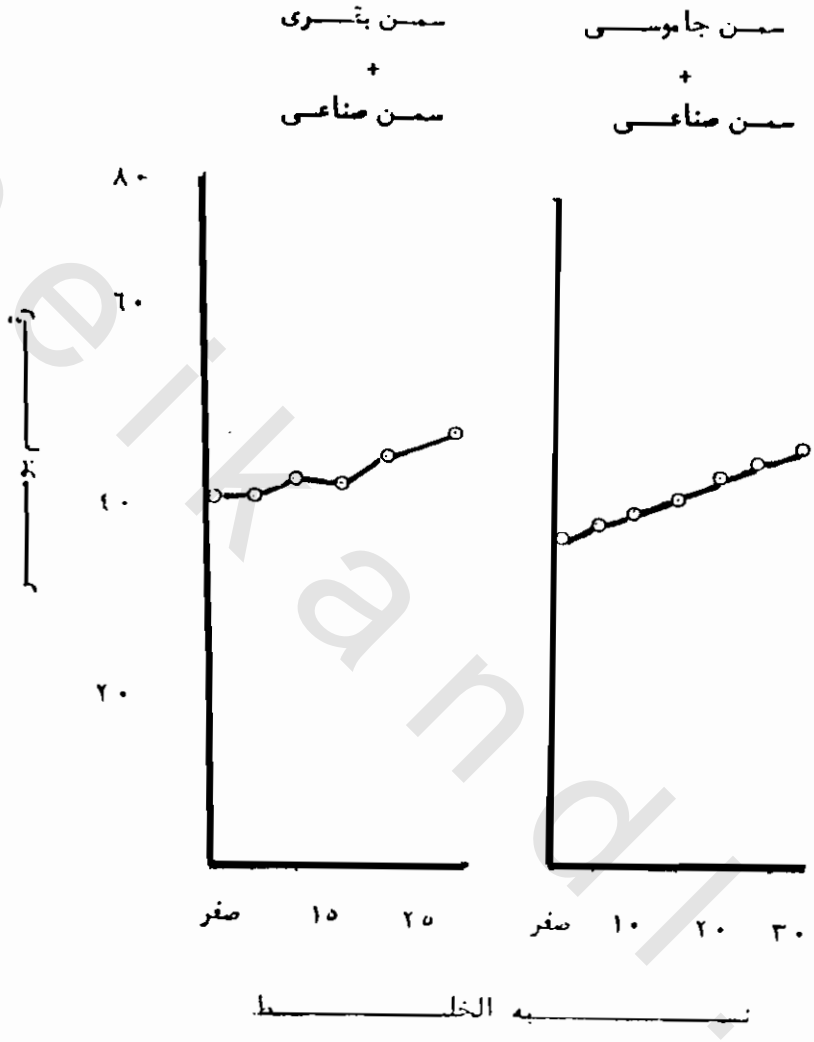
ب = درجة انصهار الاحماض الدهنية .

والجدول (١٩) يبين أرقام بومر لخلط السمن الجاموس بدهون الخنزير والسمن الصناعى

جدول(١٩)

السمن الجاموسى	دهن الخنزير	رقم بومر	السمن الصناعى	السمن الجاموسى	رقم بومر
١٠٠	صفر	٤٠	صفر	١٠٠	٤٠
٩٥	٥	٤٤	٥	٩٥	٤٢
٩٠	١٠	٥٠	١٠	٩٠	٤٤
٨٥	١٥	٥٨	١٥	٨٥	٤٥
٨٠	٢٠	٦٤	٢٠	٨٠	٤٨
٧٥	٢٥	٦٨	٢٥	٧٥	٥٠
صفر	١٠٠	٧٦	١٠٠	صفر	٦٠

obeikandl.com



تأثير خلط السمن البقرى والجاموسى بدهن الخنزير والسمن الصناعى على رقم بومر

:تشير النتائج السابقة الى أن خلط أو غش السمن الجاموسى بدهون الخنزير او السمن الصناعى ادى الى زيادة تدريجية فى رقم بومر – والشكل فى صفحة ١٣٨ يبين العلاقة ما بين رقم بومر وخلط الدهن الجاموسى والبقرى مع دهن الخنزير أو السمن الصناعى .

ومن تطبيقات عملية البلورة البسيطة المستخدمة منذ فترة طويلة هى : الكشف عن دهن الخنزير فى الزيوت المهدرجة والدهون الاخرى طبقا للطرق التالية :

الفحص الميكروسكوبى للبلورات :

وهى تعتمد على تركيز معظم بلورات جليسريدات بالميتوثنائى إستيارين وفصلها (وهى توجد فى دهن الخنزير بنسبة صغيرة) عند درجة حرارة تتراوح بين ٢٥ ، ٣٠مْ تحت ظروف معينه .

الجواهر الكشافة :

كحول مطلق – إثير – مذيب (١ حجم إثير + ٢ حجم كحول مطلق)

الاجهزة والادوات :

جهاز طرد مركزى – أنابيب جهاز الطرد المركزى سعة حوالى ١٠ سم٣ – ميكروسكوب .

طريقة العمل :

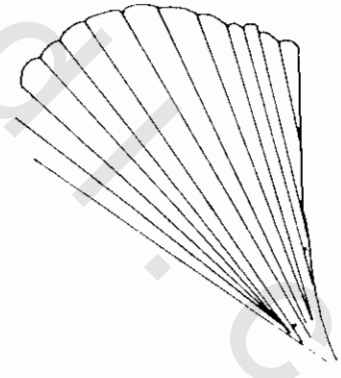
يسخن حوالى ٥ جم من العينه تسخينا هينا عند ٥٠مْ حتى ينصهر الدهن تنقل ٥٠ قطرة من الدهن المنصهر إلى إحدى الانابيب ويضاف إليها ٩ سم٣ من المذيب ثم تمزج المحتويات جيدا . توضع الانبوبة فى حمام مائى بارد وتقلب محتوياتها بواسطة ساق الترمومتر حتى اذا ما اصبحت درجة حرارتها ٢٤ ± ١مْ إنفصلت المجموعة الأولى من الجليسريدات ذات الوزن الجزئى العالى . يرفع الترمومتر وتوضع الانبوبه فى جهاز الطرد المركزى ويدار الجهاز لمدة دقيقتين ليتجمع الراسب فى قاع الانبوبة فى جهاز الطرد المركزى ويدار الجهاز لمدة دقيقتين ليتجمع الراسب فى قاع الانبوبة .

تستبعد الطبقة السائلة وتقاس درجة حرارة الغرفة ثم يضاف الاثير إلى الراسب المتجمع فى الانبوبة قطرة قطرة مع التقليب المستمر بلطف بواسطة الترمومتر حتى يكاد يذوب معظم الراسب ويصبح المحلول الاثيرى عكرا غير رائق . توضع الانبوبة فى حمام مائى درجة حرارته لا تزيد على درجة حرارة الغرفة باكثر من ثلاث درجات مئوية ثم يرفع الترمومتر بعد أن يصبح المحلول رائقا تسد الانبوبة بقطعة من القطن وتترك فى حمام مائى (عند درجة حرارة لا تزيد

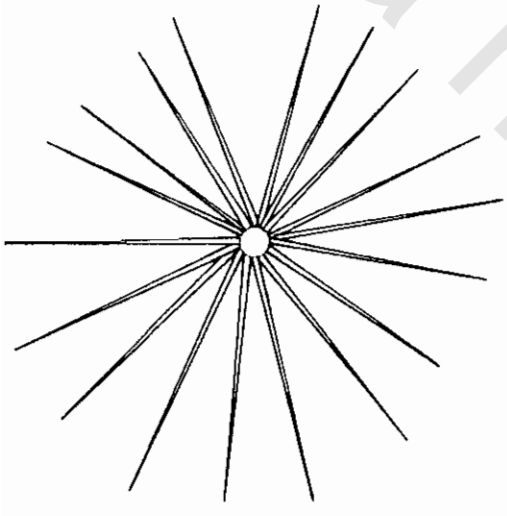
على درجة حرارة الغرفة باكثر من ٣مْ) وتترك جانبا لمدة تتروح بين ٣ - ٤ ساعات إلى أن تتكون بلورات كبيرة من الجلسريدات .

تنقل بعض البلورات إلى شريحة ميكروسكوب زجاجى بها قطرة من زيت متعادل مثل زيت الزيتون ثم تغطى بغطاء الشريحة الزجاجية مع مراعاة عدم الضغط حتى لا يتغير شكل البلورات ثم تفحص بالميكروسكوب .

نظرا لان دهن الخنزير يحتوى على نسبة صغيرة من الجليسريدات ألفا بالميتوثنائى إستيارين فان ظهور البلورات المميزة لهذا النوع من الجلسريدات (شكل و) وهى عريضة الاطراف ذات مقطع مائل ليست متفرعه من مركز واحد إلى جانب بلورات الجلسريدات الاخرى وهى إبرية الشكل مدببه (شكل ز) يدل على وجود دهن خنزير بالعينه واذا لم تظهر البللورات المميزة للجلسريدات الفا بالميتوثنائى إستيارين فان العينه تكون خالية من دهن الخنزير .



شكل رقم ٣
بلورات ألفا بالميتوثنائى ستيارين



شكل رقم ٤
بلورات الجلسريدات الأخرى

الاختبار الكيميائى للبلورات :

تعتمد هذه الطريقة على فصل جليسريدات الدهن أو الزيت المهدرج أو الخليط عن طريق بلورتها جزئيا من الاسيتون ثم تقدير الشوائب المختلفة للاجزاء المنفصلة .

الجواهر الكشافة :

أسيتون – يود – حمض خليك ٩٩.٥٪ – بروم – ثيوكبريتات الصوديوم – يوديد البوتاسيوم – هيدروكسيد صوديوم – جليسرين – كبريتات فضه – هيدروكسيد باريوم – دليل فينولفتالين (محلول ١ ٪) .

الاجهزة والادوات :

دورق مخروطى سعة ٢٥٠ سم٣ – حمام مائى – قمع بوخنر – مجفف زجاجى به كلوريد كالسيوم .

طريقة العمل :

يوزن حوالى ٥٠ جم من العينه فى دورق مخروطى جاف نظيف سعة ٢٥٠ سم^{3} يضاف اليها الاسيتون تدريجيا – حوالى ١٠٠ سم^{3} – ويغلى المزيج فوق حمام مائى أو سخان كهربائى حتى تمام ذوبان الدهن – تزاد كمية الاسيتون اذا لزم الامر .

يرشح المحلول وهو ساخن من خلال ورقة ترشيح مثناه ويركز السائل الراشح بتسخينه فوق حمام مائى حتى يبدأ الراشح فى التعكر . ثم يترك ليبرد عند درجة حرارة الغرفة (لا تزيد على ٢٠ مْ) حتى تنفصل البلورات . يتم الحصول على البلورات بالترشيح فى قمع بوخنر تحت تفريغ ثم تغسل البلورات بقليل من الاسيتون البارد وتوضع فى المجفف الزجاجى ويفرغ المجفف (من الهواء) ويحتفظ بهذا الجزء " البلورات الموجودة فوق ورق الترشيح " ويطلق عليه الجزء " أ " .

يقطر الاسيتون تماما من السائل الراشح (وبعد فصل البلورات) فوق حمام مائى ويحتفظ بالسائل الزيتى المتبقى ويطلق عليه الجزء "ب" .

تقدر الثوائب التالية فى كل جزء وهى : الرقم اليودى – رقم رايخرت – رقم بولنسكى – رقم كرشنر – ثم تقارن الثوابت المقدرة لتمييز انواع الدهن تبعا للجدولين ٢٠ و ٢١ :

جدول (٢٠)

الثوابت	زيت نباتى مهدرج	دهن حيوانى (غير الخنزير)	دهن الخنزير
الرقم اليودى	٥١ – ٥٣	٢٥ – ٣٠	٢٧ – ٣٠
رقم ريخرت	٢,٥ – ٢,٧	٢,٥ – ٣,٥	٩ – ١٠
رقم بولنسكى	٠,٧ – ٠,٨	٠,٨ – ١,٢	٠,٧ – ٠,٨
رقم كرشنر	١,٨ – ٢	١,٥ – ١,٨	٦ – ٧

جدول (٢١)
ثوابت الجزء (ب) المتبقى بعد تقطير الاسيتون

الثوابت	زيت نباتى مهدرج	دهن حيوانى (غير الخنزير)	دهن الخنزير
الرقم اليودى	٧٥ – ٨٠	٤٥ – ٦٠	٦٢ – ٦٨
رقم ريخرت	٣,٥ – ٤,٥	٣ – ٣,٥	٧ – ٧,٥
رقم بولنسكى	٠,٥ – ٠,٩	٠,٨ – ١,٤	٠,٥ – ٠,٦
رقم كرشنر	٢,٢ – ٢,٥	٣ – ٤,٥	٦,٥ – ٧,٢

ملاحظات :

أ – الزيوت النباتية المهدرجه تمتاز بما يلى :

فى الجزء (أ) يكون الرقم اليودى أعلى من ٥٠ ، ولا يزيد كل من رقم رايخرت على ٣ ، ورقم كرشنر على ٢ .

فى الجزء (ب) يكون الرقم اليودى اعلى من ٧٠ ، ولا يزيد كل من رقم رايخرت على ٤,٥ ، ورقم كرشنر على ٢,٥ .

obeikandl.com

ب – الدهون الحيوانية (غير الخنزير) تتميز بما يلى :

فى الجزء (أ) لا يزيد كل من الرقم اليودى على ٣٠ رقم رايخرت على ٣.٥ ورقم كرشنر على ٢ .

فى الجزء (ب) لا يتجاوز الرقم اليودى ٦٠ ولا يزيد كل من رقم رايخرت على ٣.٥ ورقم بولنسكى على ١.٥ ورقم كرشنر على ٤.٥ .

جـ – تتميز دهون الخنزير فى خليط من الدهون .

فى الجزء (أ) اذا كان الرقم اليودى اعلى من ٥٠ فان زيادة كل من رقم رايخرت على ٣ ورقم كرشنر على ٢ تدل على وجود دهن خنزير . اذا كان الرقم اليودى لا يزيد على ٣٠ فان زيادة رقم رايخرت على ٣.٥ ورقم كرشنر على ٣ تدل على وجود دهن الخنزير

فى الجزء (ب) اذا كان الرقم اليودى أعلى من ٧٠ فان زيادة رقم رايخرت على ٤.٥ ورقم كرشنر على ٢.٥ تدل على وجود دهن الخنزير .

اذا كان الرقم اليودى من ٦٠ – ٦٥ فان زيادة رايخرت على ٣.٥ ورقم كرشنر على ٤.٥ تدل على وجود دهن خنزير .

obeikandl.com