

الفصل الخامس

البلورة الجزئية

Fractional Crystallization

تعتبر طريقة البلورة الجزئية باستخدام المذيبات من أقدم الطرق المستخدمة لفصل الدهون الطبيعية الى مكوناتها من الجلسريدات الثلاثية حيث تنوب الجلسريدات الغير مشبعة بدرجة أكبر في مذيب كالأسيتون عن الجلسريدات المشبعة فالجلسريد الثلاثي PPO ينوب أكبر من PPP في 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 ٢٠م 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 بجزء 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 الاربعة السالفة الذكر لحدوث تداخل بين الجلسريدات وعند اعادة البلورة عدة مرات تنفصل الدهون الى مكونين وهما الصلبه والنصف صلبه والتي 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 الجزئية فى التقدير الكمى للجلسريدات على نطاق واسع ولكن تستخدم هذه الطريقة فى فصل الجلسريدات الثلاثية تبعا لمكوناتها من الاحماض الدهنية .

P = حامض بالميتيك U = Unsaturated = غير مشبع
O = حامض أوليك S = Saturated = مشبع

أولاً : الطرق Methods

أ - 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 بجزء الجلسريد الثلاثى ومن أمثلتها الاسيتون والاثير .

ب - مذيبات تحتوى على أيون الفضة Ag⁺ والتي تعتمد على عدد الروابط الزوجية التي توجد فى الجزء أى على عدد الاحماض الدهنية الغير المشبعة .

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

Number of saturated acyl groups / TGS

أستخدم الأسيتون الجاف على نطاق واسع كمذيب فى البلورة الجزيئية لفصل مخلوط الجلسريدات الثلاثية والذي يعتمد فى فصله على عدد مجاميع الاسيل المشبعة حيث أن إختلاف عدد مجاميع الاسيل المشبعة الموجوده فى جزء الجلسريدات الثلاثية TG يؤدي 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 ملحوظة على ذوبان الجلسريدات الثلاثية ويمكن تفادى هذه المشكلة بالآتى :

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

الأكثر قطبية ومن أمثلة ذلك الجلسريدات الثلاثية التي تحتوى أحماض دهنية قصيرة السلسلة وأيضا التي تحتوى على أحماض دهنية أوكسوجينية .

يوضع المحلول المراد بلورته فى قاع الانبويه والتي على شكل V وتغمر فى حمام ذو درجة حرارة ثابتة .

ويمكن إسترجاع البلوره عن طريق إمالة الانبويه (V) جهة اليمين مع إستخدام ضغط النتروجين من جهة (B) ويرشح المحلول خلال القرص المسامى الزجاجى (C) وبالنسبة للحمام ذو درجة الحرارة المعينة يجب أن يجهز بوسيلة ترشيح على نفس درجة الحرارة التي تمت عليها البلورة ويعطى المخلوط المبرد ثلج وملح إنخفاض فى درجة الحرارة حتى - ١٠م° بينما يعطى الثلج الجاف فى الاسيتون درجة حرارة تتراوح من - ١٠ الى - ٧٨م° . ومن الخطأ التحكم فى درجة الحرارة عن طريق الأضافة المباشرة بحبيبات الثلج الجاف الى المخلوط المبرد وذلك لانه يسبب تبريد مفاجىء وموضعى ويجب تقليب كل من محلول العينة والمحلل المبرد فى الحمام لتوزيع وتثبيت درجة الحرارة عند عملية البلورة وذلك حتى يتم تجانس درجة الحرارة خلالها ويكون تقليب محلول العينة برفق أو ببضء حتى لا يحدث تكسير للبلورات الجلسريدات الثلاثية ثم تترك ليحدث إتزان بين الجلسريدات الذائبة والمتبلوره وهذا الاتزان يتم ببطء شديد لذلك فان التبريد البطيء 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 الباقي . ويجب أن تتم عملية الترشيح على نفس درجة الحرارة التي 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 المنفصلة وكمية الجلسريدات الذائبة بعد تبخير المذيب بالوزن .

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

Number of unsaturated double bonds / TGS

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

الفضة Ag^+ على تكوين معقد مع الكترولونات π للرابطة الزوجية وبالتالي تختلف درجة ذوبان الجلسريدات الثلاثية وهذا يؤدي إلى فصل الجلسريدات عن بعضها البعض بالبلورة على حسب عدد الروابط الزوجية .

وفي هذه الطريقة يستخدم مخلوط المذيبات الآتي : 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 الكترولونات π لكل الروابط الزوجية الموجودة في الجلسريدات الثلاثية .

وفيما يلي الشروط الواجب توافرها أثناء عملية البلورة :

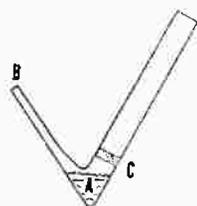
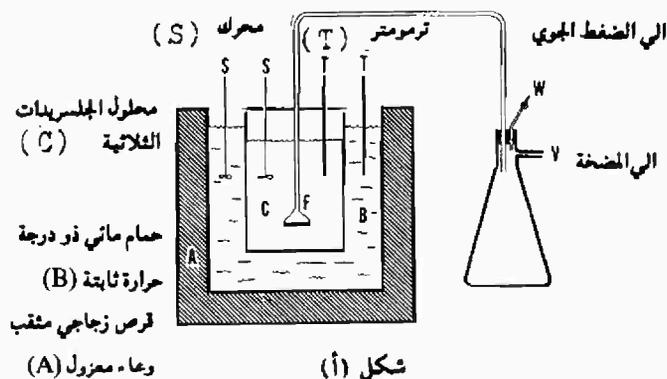
- ١ - يجب أن يزود الحمام ذو درجة الحرارة الثابتة الذي يوضع فيه خليط الجلسريدات بوسيلة لاجراء الترشيح عند نفس درجة حرارة البلورة - وعند استخدام حمام الثلج الجاف في الاسيتون فإنه يعطى مدى درجات حرارة ما بين - ١٠ حتى - ٧٨ م .
- ٢ - يجب عند ضبط درجة حرارة الحمام الا يضاف قطع الثلج الجاف مباشرة الى مخلوط العينة حيث يؤدي 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 بسيطة حيث أن التحريك بمعدل عالى يؤدي الى كسر Fracture بلورات الجلسريدات الثلاثية .
- ٤ - نظرا لأن الاتزان ما بين الجلسريدات الغير ذائبة (البلورات) والذائبة يتم ببطء جدا كما أن التبريد البطيء 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 في مذيب مناسب ويمكن إستخدام الحرارة عند اللزوم ويتراوح نسبة المذيب الى العينة عادة ما بين ٥ : ١ الى ١٥ : ١ حجم / وزن وهي تعتمد على حسب طبيعة العينة واذا لم يتمكن توفير الحرارة الثابتة الملائمة للبلورة يمكن إستخدام الجهازين الآتيين لعمل البلورة على نطاق كبير وكذلك على نطاق صغير :

١ - يوضع المحلول (A) المراد إجراء له عملية البلورة في قاع الانبوبة التي على شكل حرف (V) وتغمر في 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) 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

أ - الفصل على أساس عدد مجاميع الأسيل 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 الموجودة فى جزئ الجلسريدات الثلاثية .

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

حيث أن StStO و StStL لهما نفس العدد من الاحماض الدهنية المشبعة.

: StOO و StStL 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 تؤدي 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 تصل إليها بسهولة تحت ظروف العمل العادية وعلى ذلك فان الفصل عن طرق البلورة الجزئية تعطى جلسريدات مختلطة بالإضافة الى ذلك فان تأثيرات الذوبان المتبادل والجلسريدات المختلطة تزداد بزيادة عدم التشبع وعلى ذلك فهذه طريقة تستخدم فقط فى فصل

الدهون الصلبة فصلا حادا بينما يكون الفصل غير مناسب في حالة الزيوت السائلة وهناك صعوبات أخرى تتمثل في أنه عند وجود أحماض دهنية ذات طول سلسلة C4 - C12 لها خصائص ذوبان تتشابه مع الأحماض طويلة السلسلة غير المشبعة - ونتيجة لكل هذه المشاكل فإنه عن طريق الفصل بواسطة البلورة الجزيئية نحصل على فصل معقول فقط للدهون النصف صلبة وأن تحتوي على أحماض دهنية بسيطة أي تحتوي الجلسريدات الثلاثية بصفة عامة على الأحماض الدهنية التالية 16:0 و 16:1 و 18:0 و 18:1 ونسبة لا تزيد عن ٢٠٪ من 18:2.

حامض لينوليك L = حامض إستيريك 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 في المراجع لفصل عينه من دهن آخر قريب لها في التركيب . والرسم التخطيطي التالي (صفحة ١٢٦) يبين تتابع عملية البلورة لفصل الجلسريدات الثلاثية لدهن الغنم الى مكونات تختلف بدرجة كبيرة عن بعضها البعض في محتواها من الجلسريدات المختلفة .

تجرى عمليات البلورة للعينات باستخدام مخاليط ١٠٪ في الاسيتون أو في الاثير على درجات الحرارة المبينة بالشكل التخطيطي ، والجدول في صفحة ١٢٤ يبين التركيب الكيماوي للأحماض الدهنية لسته المكونات الناتجة من عملية البلورة .

تأثيرات الذوبان المتبادل Mutual Solubility Effects

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

أي يفهم مما سبق أن بعض الجلسريدات حينما تكون في المذيب على حدة أي ليست في مخلوط وعند التبريد فيتوقع أن تكون كمية البلورات كبيرة أي لا تنوب في المذيب بل تترسب . بينما نفس هذه المركبات إذا وجدت في مخلوط من TGS وعلى نفس درجة الحرارة فإنه يتبقى جزء منها في المذيب في صورة ذائبة أي تقل كمية البلورات نتيجة لوجود جلسريدات أخرى قريبة لها في التركيب الكيماوي " 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 تؤدي 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 وبالتالي 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 بالميتيك - بالميتو أوليك - 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 ولأجراء عملية البلورة الجزئية لدهن ما فانه يمكن الاستعانة 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 أخذاً فى الاعتبار إختلاف تركيب TGS بقدر الامكان .

العينات التى يجرى عليها البلورة عبارة عن ١٠٪ (وزن حجم) فى محلول الاسيتون (A) أو اثير (E) على درجة الحرارة المشار اليها ، والأحماض الدهنية المكونة للأقسام 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) | 94.8 | 75.6 | 63.1 | 49.8 | 36.0 | 18.2 | 60.8 |
| مشبعة | | | | | | | |
| Unsaturated (U) | 5.2 | 24.4 | 36.9 | 50.2 | 64.0 | 81.0 | 39.2 |
| غير مشبعة | | | | | | | |
| 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 الاحماض الدهنية كاقسام منفردة

٢ - محتوى الاحماض الدهنية المشبعة SSS مقدره عن طريق الاكسدة بالبرمنجات البوتاسيوم
 KM_nO_4 .

٣ - المكونات المشار اليها * تكون غير موجودة بالاقسام التي بها العلامة .

ب - الفصل على أساس عدد الروابط الزوجية

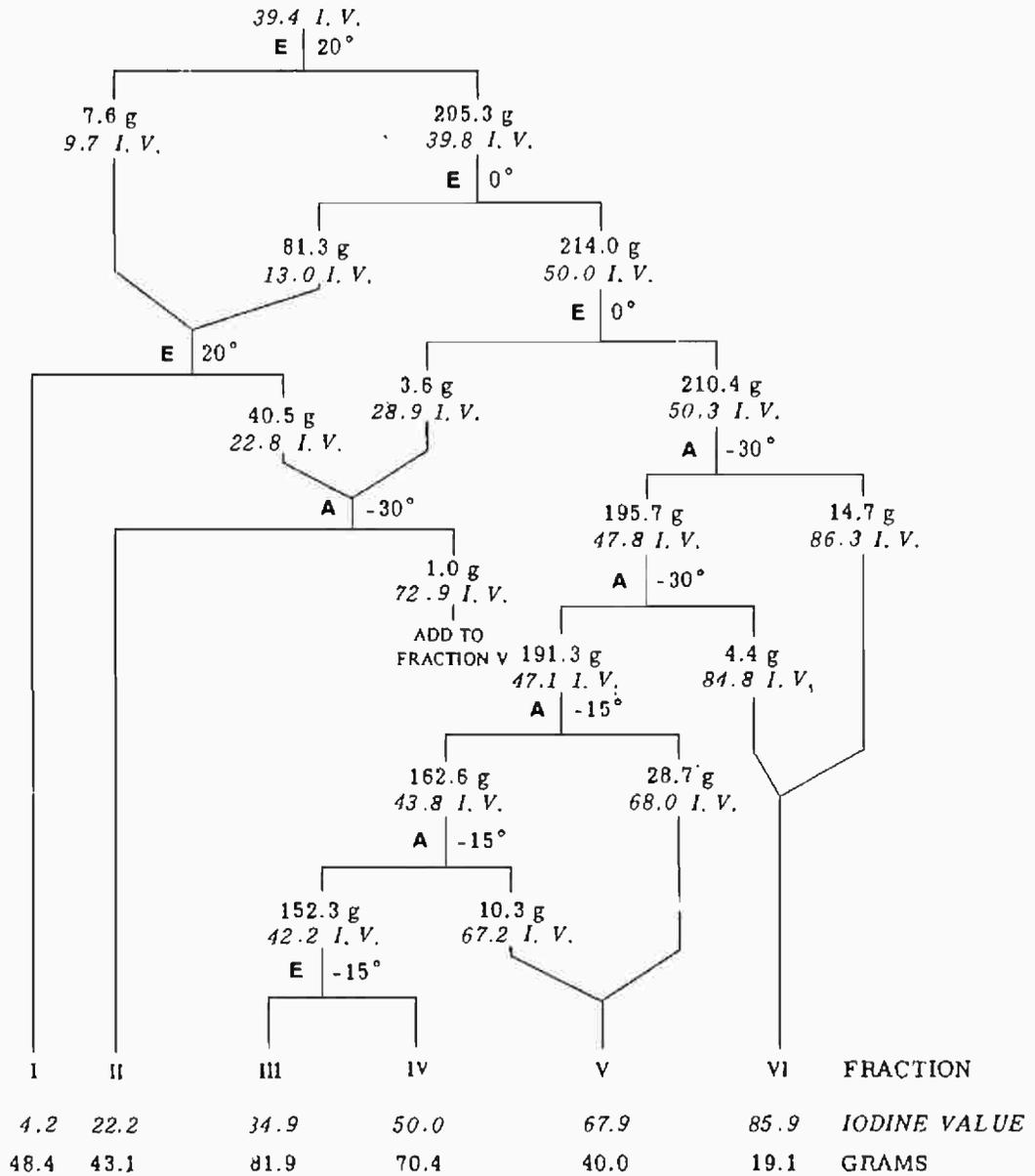
Separation by number of double bonds

في المحاولات الاولى التي أجراها هيلدتش وسيڤيل (Hilditch and Seavell, 1950) لفصل الجلسريدات العالية في عدم التشبع من الدهون الطبيعية وذلك باجراء عملية البلورة باستخدام الاسيتون فقط على درجة حرارة من - ١٠م الى - ٧٠م كانت غير ناجحة .

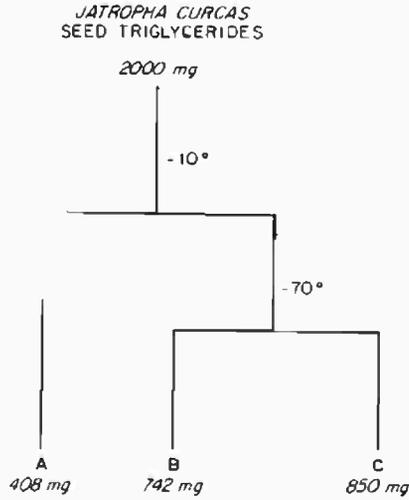
إلا أنه يمكن فصل خليط الجلسريدات الثلاثية بكفاءة تبعا لمحتواها من الروابط الزوجية في الوضع CIS وذلك باجراء عملية البلورة باستخدام مذيبات تحتوى على نترات فضه $AgNO_3$

بتكوين المعقد بين Ag^+ والكروونات π للرابطة الزوجية مع تغيير درجة حرارة البلورة للجلسريدات وبذلك يتم الفصل على حسب درجة عدم التشبع وقد استخدمت هذه الطريقة لفصل TGs من دهون بعض النباتات مثل *Jatropha Curcas* وذلك باستخدام مذيبات مشبعة بمحلول نترات الفضة والمذيبات المستخدمة هي ميثانول / أسيتون بنسبة ٣٠/٧٠ وعلى درجة حرارة - ١٠م والرسم التخطيطي التالي يبين أن (A) هو راسب يحتوى أساسا على SSU أى يحتوى على رابطة واحدة أو رابطتين زوجيتين فى جزىء TG وعند تبريد الراشح على - ٧٠م أعطت بلورات (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^+ فإنها تعمل على تفريد جيد لمكونات TG لدهن نبات *Jatropha Curcas* كما فى شكل د ، s وهذا الفصل أفضل بكثير من إجراء عملية البلورة عشر مرات باستخدام مذيبات تخلو من Ag^+ لتفريد TG لدهن الغنم كما فى شكل ه ، وهذه الطريقة لها أهمية كبيرة اذا كان المطلوب بصفة خاصة فصل كل من SUU و UUU عن بعضهما البعض .



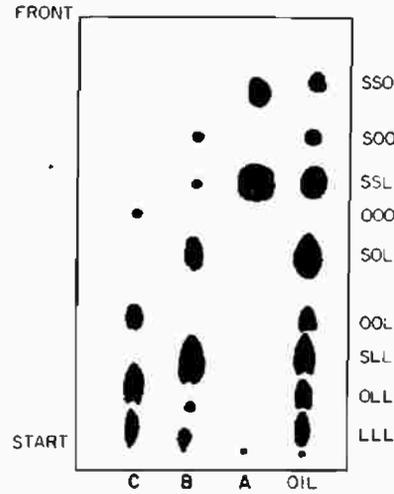
شكل تخطيطي يبين فصل الجلسريدات الثلاثية لدهن الغنم .



الشكل الايسر :

يعتمد الفصل على أساس عدد الروابط الزوجية في الوضع CIS وبإجراء عملية البلورة المتتابعه وفي وجود أيون الفضة .

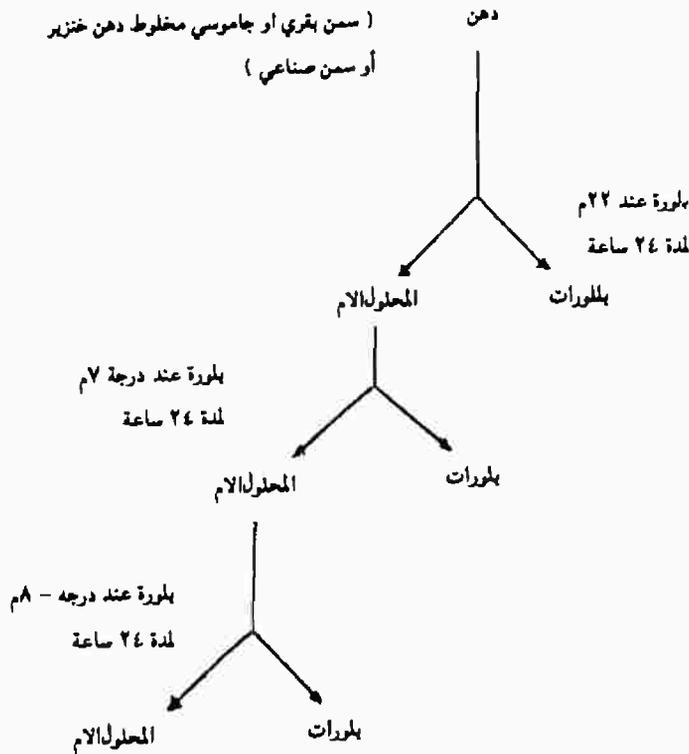
أخذت وزنه معلومه من العينة (٢٠٠ ملجم) وبلورتها على - ١٠م° ولدة ٢٤ ساعة في وجود ١٠ سم٢ ميثانول ومشبع بمحلول نترات الفضة $AgNO_3$ أسيتون ٢٠/٧٠ ثم الترشيح ثم تكرار البلوره للمحلول على - ٧٠م° ولدة ٢٤ ساعة باستخدام مذيب اثير البترول



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 (١٠/٩٠ حجم/حجم) .

ومن تطبيقات البلورة الجزيئية عند درجات منخفضة هي الكشف عن خلط السمن البلدى بدهن الخنزير حيث أجريت عدة عمليات بلورة لسمن بقري وسمن جاموس نقي 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 وقصلت البلورات عند نفس درجة الحرارة بعد ٢٤ ساعة ثم أجريت عملية بلورة ثانية للمحلول الأم 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 والتي توضح إختلاف التركيب الكيمائى 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 :

جدول (١٧)

التغير في النسب المئوية للاحماض الدهنية المشبعة في السمن البقري ، اللغزير ، السمن الصناعي والمنتجات المكرولة الناتجة من عملية البلورة الجزئية .

| نسبة الخلط | ١٤ صفر | | ١٦ صفر | | ١٨ صفر | | ٢٠ صفر | | ٢٢ صفر | | ٢٤ صفر | | ٢٦ صفر | | ٢٨ صفر | | ٣٠ صفر | |
|------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| | ١٤ صفر | ١٦ صفر | ١٨ صفر | ٢٠ صفر | ٢٢ صفر | ٢٤ صفر | ٢٦ صفر | ٢٨ صفر | ٣٠ صفر | ٣٢ صفر | ٣٤ صفر | ٣٦ صفر | ٣٨ صفر | ٤٠ صفر | ٤٢ صفر | ٤٤ صفر | ٤٦ صفر | ٤٨ صفر |
| ١٠٠ | ٧٧.٧ | ٢٤.٧ | ٧ | ٦.٩ | ١٠.٨ | ٤.٠ | ٤.٨ | ١٦.٩ | ٢.٧ | ٥.٤ | ١١.٣ | ٥٦.٥ | ١٦.٦ | ٦.٣ | ١٦.٣ | ١١.٣ | ٥.٤ | ٢.٧ |
| ٩٥ | ١١.٣ | ٢٩.٤ | ٧.٥ | ١٧.٥ | ٧.٨ | ٢٣.٤ | ٢.٦ | ١٦.٣ | ٢.٦ | ١١.٣ | ١٣.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ |
| ٩٠ | ١١.٣ | ٢٩.٦ | ١١.٣ | ١٩.٤ | ٤.٨ | ٢٢.٦ | ١٤.٨ | ١٤.٨ | ٣.١ | ١٣.٣ | ١٣.٣ | ١٣.٣ | ١٣.٣ | ١٣.٣ | ١٣.٣ | ١٣.٣ | ١٣.٣ | ١٣.٣ |
| ٨٥ | ١٠.٨ | ٢٩.٥ | ٩.٨ | ٢٠.٧ | ٤.٥ | ٢٠.٧ | ٢١.١ | ١٤.١ | ٢.٥ | ١٣.٣ | ١٣.٣ | ١٣.٣ | ١٣.٣ | ١٣.٣ | ١٣.٣ | ١٣.٣ | ١٣.٣ | ١٣.٣ |
| ٨٠ | ٩.١ | ٢٥.٣ | ٩.٢ | ٢٤.٣ | ٤.٤ | ٢٤.٣ | ١٣.٨ | ١٣.٨ | ٢.٤ | ١٣.٨ | ١٣.٨ | ١٣.٨ | ١٣.٨ | ١٣.٨ | ١٣.٨ | ١٣.٨ | ١٣.٨ | ١٣.٨ |
| ٧٥ | ٨.٧ | ٢٦.٤ | ١٠.٣ | ٢٤.٧ | ٣.٢ | ٢٤.٧ | ١٥.٣ | ١٢.٩ | ١.٨ | ١١.٥ | ١١.٥ | ١١.٥ | ١١.٥ | ١١.٥ | ١١.٥ | ١١.٥ | ١١.٥ | ١١.٥ |
| ٧٠ | ٨.٦ | ٢٦.٧ | ٩.٦ | ٢٣.٥ | ٢.٨ | ٢٣.٥ | ١٧.١ | ١٢.٨ | ١.٨ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ |
| ٦٥ | ٨.١ | ٢٦.٧ | ٩.٦ | ٢٣.٥ | ٢.٨ | ٢٣.٥ | ١٧.١ | ١٢.٨ | ١.٨ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ |
| ٦٠ | ٨.١ | ٢٦.٧ | ٩.٦ | ٢٣.٥ | ٢.٨ | ٢٣.٥ | ١٧.١ | ١٢.٨ | ١.٨ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ |
| ٥٥ | ٨.١ | ٢٦.٧ | ٩.٦ | ٢٣.٥ | ٢.٨ | ٢٣.٥ | ١٧.١ | ١٢.٨ | ١.٨ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ |
| ٥٠ | ٨.١ | ٢٦.٧ | ٩.٦ | ٢٣.٥ | ٢.٨ | ٢٣.٥ | ١٧.١ | ١٢.٨ | ١.٨ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ |
| ٤٥ | ٨.١ | ٢٦.٧ | ٩.٦ | ٢٣.٥ | ٢.٨ | ٢٣.٥ | ١٧.١ | ١٢.٨ | ١.٨ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ |
| ٤٠ | ٨.١ | ٢٦.٧ | ٩.٦ | ٢٣.٥ | ٢.٨ | ٢٣.٥ | ١٧.١ | ١٢.٨ | ١.٨ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ |
| ٣٥ | ٨.١ | ٢٦.٧ | ٩.٦ | ٢٣.٥ | ٢.٨ | ٢٣.٥ | ١٧.١ | ١٢.٨ | ١.٨ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ |
| ٣٠ | ٨.١ | ٢٦.٧ | ٩.٦ | ٢٣.٥ | ٢.٨ | ٢٣.٥ | ١٧.١ | ١٢.٨ | ١.٨ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ |
| ٢٥ | ٨.١ | ٢٦.٧ | ٩.٦ | ٢٣.٥ | ٢.٨ | ٢٣.٥ | ١٧.١ | ١٢.٨ | ١.٨ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ |
| ٢٠ | ٨.١ | ٢٦.٧ | ٩.٦ | ٢٣.٥ | ٢.٨ | ٢٣.٥ | ١٧.١ | ١٢.٨ | ١.٨ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ |
| ١٥ | ٨.١ | ٢٦.٧ | ٩.٦ | ٢٣.٥ | ٢.٨ | ٢٣.٥ | ١٧.١ | ١٢.٨ | ١.٨ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ |
| ١٠ | ٨.١ | ٢٦.٧ | ٩.٦ | ٢٣.٥ | ٢.٨ | ٢٣.٥ | ١٧.١ | ١٢.٨ | ١.٨ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ |
| ٥ | ٨.١ | ٢٦.٧ | ٩.٦ | ٢٣.٥ | ٢.٨ | ٢٣.٥ | ١٧.١ | ١٢.٨ | ١.٨ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ |
| ٠ | ٨.١ | ٢٦.٧ | ٩.٦ | ٢٣.٥ | ٢.٨ | ٢٣.٥ | ١٧.١ | ١٢.٨ | ١.٨ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ | ١١.٣ |

١٤ صفر = حامض ميرستيك ١٦ صفر = حامض باليتيك ١٨ صفر = حامض استيريك ٢٠ صفر = حامض اوليك ٢٢ صفر = حامض بوهك

تؤخذ كمية من الدهون الحيوانية النقية والمخلوطة وتصهر وترشح ثم يذاب الدهن المصهور في 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 (٥ . ٠ جم) وتجري لها عملية تصبن بواسطة بوتاسا كاوية كحولية (٥ . ٠ ع) ثم تفصل الاحماض الدهنية من املاحها بواسطة حامض معدني 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 في ثلاجة على درجة ٤م ومن المعادلة التالية تستنتج مدى خلط الدهون النقية بدهون اخرى .

$$\text{رقم بومر} = \text{أ} + ٢ (\text{أ} - \text{ب})$$

حيث :

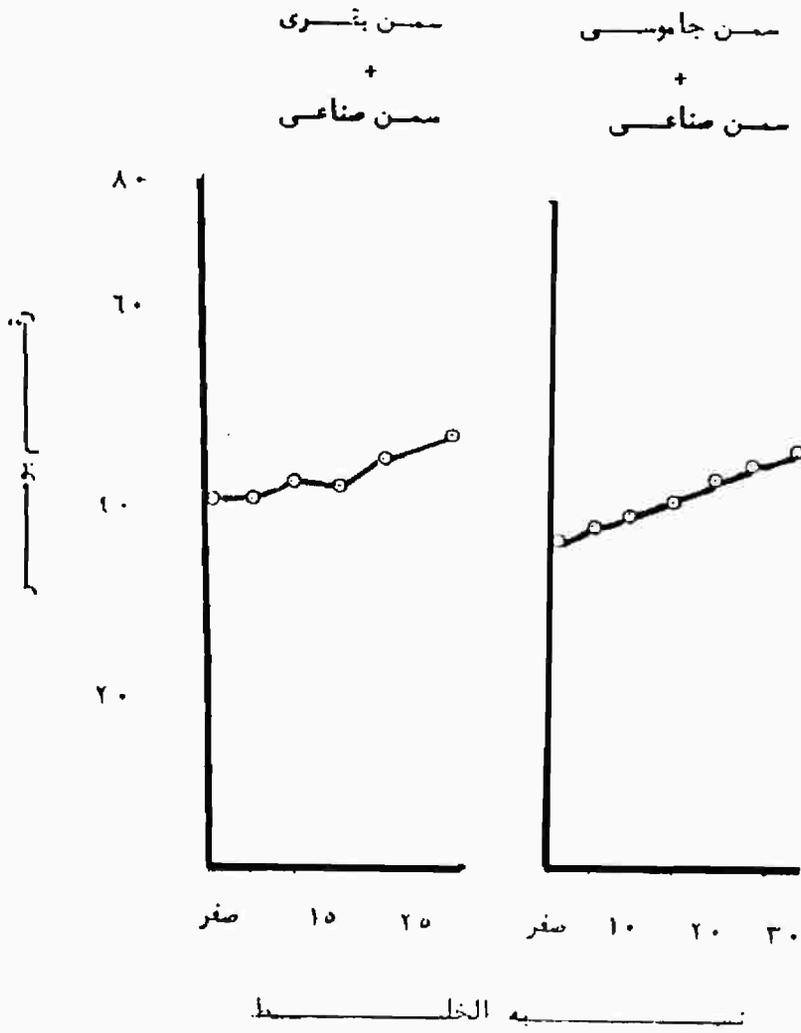
أ = درجة انصهار الجلسريدات الثلاثية .

ب = درجة انصهار الاحماض الدهنية .

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

جدول (١٩)

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



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

تشير النتائج السابقة الى أن خلط أو غش السمن الجاموسى بدهون الخنزير أو السمن الصناعى أدى الى زيادة تدريجية فى رقم بومر - والشكل فى صفحة ١٢٨ يبين العلاقة ما بين رقم بومر وخط 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 الأخرى طبقاً للطرق التالية :

الفحص الميكروسكوبى للبلورات :

وهى تعتمد على تركيز معظم بلورات جليسيريدات المايثوثنائى إستيرين وفصلها (وهى توجد فى دهن الخنزير بنسبة صغيرة) عند درجة حرارة تتراوح بين ٢٥ ، ٢٠م تحت ظروف معينه .

الجواهر الكشافة :

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

الأجهزة والادوات :

جهاز طرد مركزى - أنابيب جهاز الطرد المركزى سعة حوالى ١٠ سم ٣ - ميكروسكوب .

طريقة العمل :

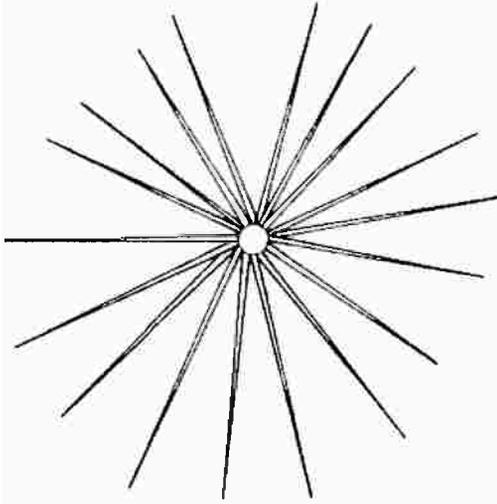
يسخن حوالى ٥ جم من العينه تسخيناً هيناً عند ٥٠م حتى ينصهر الدهن تنقل ٥٠ قطرة من الدهن المنصهر إلى إحدى الأنابيب ويضاف إليها ٩ سم ٢ من المذيب ثم تمزج المحتويات جيداً . توضع الأنبوبة فى حمام مائى بارد وتقلب محتوياتها بواسطة ساق الترمومتر حتى اذا ما اصبحت درجة حرارتها 24 ± 1 م انفصلت المجموعة الأولى من الجليسيريدات ذات الوزن الجزئى العالى . يرفع الترمومتر وتوضع الأنبويه فى جهاز الطرد المركزى ويدار الجهاز لمدة دقيقتين ليتجمع الراسب فى قاع الأنبوية فى جهاز الطرد المركزى ويدار الجهاز لمدة دقيقتين ليتجمع الراسب فى قاع الأنبوية .

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

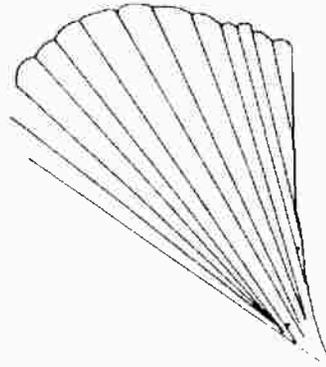
على درجة حرارة الغرفة باكثر من ٣م (وتترك جانبا لمدة تتراوح بين ٢ - ٤ ساعات إلى أن تتكون بلورات كبيرة من الجلسريدات .

تنقل بعض البلورات إلى شريحة ميكروسكوب زجاجي 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 الجلسريدات ألفا بالميتوثنائى إستيارين فان ظهور البلورات المميزة لهذا النوع من الجلسريدات (شكل و) وهى عريضة الاطراف ذات مقطع مائل ليست متفرعة من مركز واحد إلى جانب بلورات الجلسريدات الاخرى وهى إبرية الشكل مدببه (شكل ز) يدل على وجود دهن خنزير بالعينه واذا لم تظهر البلورات المميزة للجلسريدات الفا بالميتوثنائى إستيارين فان العينه تكون خالية من دهن الخنزير .



شكل رقم ٤
بلورات الجلسريدات الأخرى



شكل رقم ٣
بلورات ألفا بالميتوثنائى سنيارين

الاختبار الكيميائي للبلورات :

تعتمد هذه الطريقة على فصل جليسيريدات الدهن أو الزيت المهذرج أو الخليط عن طريق بلورتها جزئياً من الاسيتون ثم تقدير الشوائب المختلفة للأجزاء المنفصلة .

الجواهر الكشافة :

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

الاجهزة والادوات :

دورق مخروطى سعة ٢٥٠ سم^٢ - حمام مائى - قمع بوختر - مجفف زجاجى به كلوريد كالسيوم .

طريقة العمل :

يوزن حوالى ٥٠ جم من العينه فى دورق مخروطى جاف نظيف سعة ٢٥٠ سم^٢ يضاف اليها الاسيتون تدريجياً - حوالى ١٠٠ سم^٢ - ويغلى المزيج فوق حمام مائى أو سخان كهربائى حتى تمام ذوبان الدهن - تزداد 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 م) حتى تنفصل البلورات . يتم الحصول على البلورات بالترشيح فى قمع بوختر 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 الشوائب التالية فى كل جزء وهى : الرقم اليودى - رقم راىختر - رقم بوانسكى - رقم كرشنر - ثم تقارن الثوابت المقدره لتمييز انواع الدهن تبعاً للجولين ٢٠ و ٢١ :

جدول (٢٠)

| الثوابت | زيت نباتي مهدرج | دهن حيواني (غير الخنزير) | دهن الخنزير |
|--------------|--------------------|-----------------------------|----------------|
| الرقم اليودي | ٥١ - ٥٢ | 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 نباتي مهدرج | دهن حيواني (غير الخنزير) | دهن الخنزير |
|--------------|--------------------|-----------------------------|----------------|
| الرقم اليودي | 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 المهدرجة تمتاز بما يلى :

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

فى الجزء (ب) يكون الرقم اليودي اعلى من ٧٠ ، ولا يزيد كل من رقم راىخرت على ٤.٥ ، ورقم كرشنر على ٢.٥ .

ب - الدهون الحيوانية (غير الخنزير) تتميز بما يلي :

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

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

ج - تتميز دهون الخنزير فى خليط من الدهون .

فى الجزء (أ) اذا كان الرقم اليودى اعلى من ٥٠ فان زيادة كل من رقم راىخرت على ٣ ورقم كرشنر على ٢ تدل على وجود دهن خنزير . اذا كان الرقم اليودى لا يزيد على ٣٠ فان زيادة رقم راىخرت 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 راىخرت على ٤.٥ ورقم كرشنر على ٢.٥ تدل على وجود دهن الخنزير .

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