

الباب السابع
الزيوت والدهون
أ.د/ عاطف أنور قطب أبو عـرب
أستاذ علوم وتكنولوجيا الأغذية
كلية الزراعة جامعة عين شمس

الباب السابع

7. الزيوت والدهون المأكلة

Edible Oils and Fats

1.7. مقدمة :

تعتبر الزيوت النباتية والدهون الحيوانية من العناصر الغذائية ذات الأهمية الكبيرة في حياة الإنسان فهي تمثل أحد المكونات الثلاثة الرئيسية للمواد الغذائية ولهل إستعمالات كثيرة في الغذاء مثل زيوت السلاطة والقلى والطبخ بالإضافة لإستخدامها في صناعة المارجرين والمسلى الصناعى . وتتميز الزيوت والدهون بأنها مصدرا غنيا للطاقة ، حيث أن الجرام الواحد منها يمد جسم الإنسان بمقدار من الطاقة (9 كالورى/جم) يساوى تقريبا ضعف الطاقة الناتجة من جرام واحد من الكربوهيدرات أو البروتين . ، كما تدخل في كثير من الصناعات غير الغذائية المهمة مثل صناعة الصابون والدهانات والأحبار ، كما تتخلف عن مصانعها منتجات ثانوية مثل الأعلاف الحيوانية ومركبات البروتين والجليسيرول ... وغيرها .

كما تنوب بعض الفيتامينات في الزيوت والدهون أ (A) ، ك (K) ، هـ (E) ، د (D) ، بالإضافة إلى إحتواءها على الحديد من الأحماض الدهنية الأساسية والتي لا يستطيع الجسم تكوينها . وعليه فهي مهمة للنمو والتكاثر وحماية الجسم من بعض الأمراض وتزداد أهميتها في فترة الحمل والرضاعة وفي تغذية الأطفال . ومن الملاحظ في المراجع السابقة أنه لا يوجد تعريف ثابت ومحدد للبييدات ، حيث عرف *Christie* سنة 1982 البييدات بأنها "منتجات طبيعية واسعة الإنتشار وتشمل الأحماض الدهنية ومشتقاتها والإستيرويدات ، والتربينات ، والكاروتينات وأحماض الصفراء " والتي تتميز بطبيعتها بذوبانها في المذيبات العضوية مثل الإثير البترولى *petroleum ether* ، الهكسان *hexane* ، والبنزين *benzin* ، والكلوروفورم *chloroform* . أما التعريف الشائع للزيوت والدهون فهي عبارة عن : مجموعة من المواد غير الذائبة في الماء وتنوب في المذيبات العضوية وتتكون بصفة أساسية من جليسيريدات ثلاثية (في صورة إسترات الجليسيرول للأحماض الدهنية).

وعموما فإن الزيوت تختلف عن الدهون الحيوانية فى أنها سائلة على درجة حرارة الغرفة (لإحتواءها على نسبة عالية من الأحماض الدهنية غير المشبعة) فى حين الدهون الحيوانية تكون صلبة على درجة حرارة الغرفة (لإحتواءها على أحماض دهنية مشبعة) .

2.7. أقسام الليبيدات *Lipid Calsses* :

1.2.7. الأحماض الدهنية *Fatty Acids* :

سبق الإشارة إلى أن الزيوت والدهون الغذائية والموجودة فى الطبيعة عبارة عن جليسيريدات ثلاثية ناتجة من تفاعل الأحماض الدهنية مع الجليسرول ، وتتوقف صفات الزيت أو الدهن على ما يحتويه من أحماض دهنية من حيث طول السلسلة ودرجة عدم التشبع . وتحتوى الدهون الطبيعية على أحماض دهنية يتراوح عدد ذرات الكربون بها من 4 - 24 ذرة . وقد تكون الأحماض الدهنية مشبعة *saturated* أو غير مشبعة *unsaturated* (أحادية عدم التشبع *monounsaturated* أو عديدة عدم التشبع *polyunsaturated* تحتوى على رابطتين زوجيتين أو أكثر) . وسوف نتناول بإيجاز بعض تلك الأحماض الدهنية :

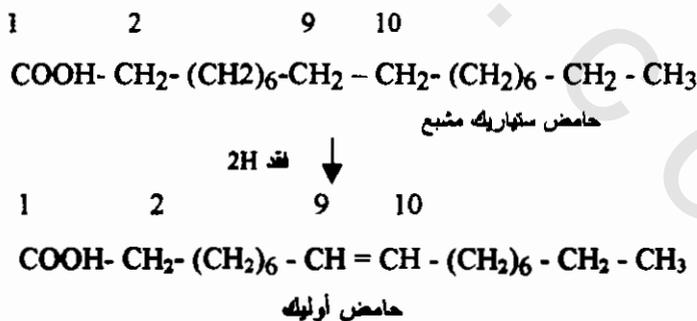
1.1.2.7. الأحماض الدهنية المشبعة *Saturated Fatty Acids* :

وهى عبارة عن سلاسل هيدروكربونية مستقيمة تتميز بإحتواءها على جميع ذرات الهيدروجين التى يمكن للسلسلة الكربونية أن تحتفظ بها . وتتوقف صفات الأحماض الدهنية المشبعة على طول السلسلة الكربونية حيث أنه كلما زاد طول السلسلة الكربونية كلما زادت نقطة إنصهارها وإنخفضت درجة ذوبانها فى الماء . وأول أفراد هذه المجموعة والذى يكون صلبا على درجة حرارة الغرفة هو الحامض الدهنى المحتوى على 10 ذرات كربون وهو حامض الكابريك *Capric* . ويبين الجدول رقم (1.7) بعض الأحماض الدهنية المشبعة والشائعة فى معظم الزيوت والدهون الغذائية .

جدول (1.7): بعض الأحماض الدهنية المشبعة الشائعة في معظم الزيوت والدهون الغذائية

المصدر	عدد ذرات الكربون	الرمز الكيميائي	الإسم الشائع	الإسم الكيميائي																											
دهن اللين- زيت نخيل	4	CH ₃ (CH ₂) ₂ COOH	بيوتيريك <i>Butyric</i>	<i>n-Butanoic</i> بيوتانويك																											
اللين- جوز الهند	6	CH ₃ (CH ₂) ₄ COOH	كابريك <i>Caproic</i>	<i>n-Hexanoic</i> هكسانويك																											
اللين- نخيل- جوز هند	8	CH ₃ (CH ₂) ₆ COOH	كابريك <i>Caprylic</i>	<i>Octanoic</i> أوكتانويك																											
اللين- جوز هند- زيت العوت	10	CH ₃ (CH ₂) ₈ COOH	كابريك <i>Capric</i>	<i>Decanoic</i> ديكانويك																											
اللين- جوز الهند- زعفران	12	معظم الزيوت	14	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH	ميرستيك <i>Myristic</i>	<i>Tetradecanoic</i> تترادكانويك	معظم الزيوت	16	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH	بالميتك <i>Palmitic</i>	<i>Hexadecanoic</i> هكسادكانويك	معظم الزيوت	18	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH	إستبارك <i>Stearic</i>	<i>Octadecanoic</i> أوكتادكانويك	سوداني- دهن حيوانية	20	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH	أراكيدك <i>Arachidic</i>	<i>Eicosanoic</i> إيكوسانويك	مبوداني- شلجم	22	CH ₃ (CH ₂) ₂₀ COOH	بهبنيك <i>Behenic</i>	<i>Docosanoic</i> دوكوسانويك	مبوداني- شلجم	24	CH ₃ (CH ₂) ₂₂ COOH	ليغنوسريك <i>Legnoseric</i>	<i>Tetracosanoic</i> تتراكوزانويك
معظم الزيوت	14	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH	ميرستيك <i>Myristic</i>	<i>Tetradecanoic</i> تترادكانويك																											
معظم الزيوت	16	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH	بالميتك <i>Palmitic</i>	<i>Hexadecanoic</i> هكسادكانويك																											
معظم الزيوت	18	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH	إستبارك <i>Stearic</i>	<i>Octadecanoic</i> أوكتادكانويك																											
سوداني- دهن حيوانية	20	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH	أراكيدك <i>Arachidic</i>	<i>Eicosanoic</i> إيكوسانويك																											
مبوداني- شلجم	22	CH ₃ (CH ₂) ₂₀ COOH	بهبنيك <i>Behenic</i>	<i>Docosanoic</i> دوكوسانويك																											
مبوداني- شلجم	24	CH ₃ (CH ₂) ₂₂ COOH	ليغنوسريك <i>Legnoseric</i>	<i>Tetracosanoic</i> تتراكوزانويك																											

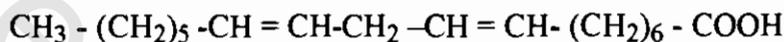
2.1.2.7. الأحماض الدهنية أحادية عدم التشبع *Monounsaturated Fatty Acids* :
وهي تلك الأحماض التي فقدت ذرتي هيدروجين (ذرة هيدروجين من كل ذرتي كربون متجاورتين) لتكون الرابطة الزوجية *double bond* . ومن أهم أفراد هذه المجموعة وأوسعها إنتشاراً حامض الأوليك *Oleic acid* والذي يحتوى على 18 ذرة كربون ورابطة زوجية واحدة بين ذرتي الكربون 9 - 10 من مجموعة الكربوكسيل كما هو موضح فيما يلي :



3.1.2.7 : Polyunsaturated Fatty Acids عديدة عدم التشبع

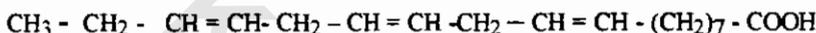
تعتبر هذه المجموعة من الأحماض الدهنية ذات أهمية خاصة من الناحية التغذوية حيث أنها تحتوى على بعض الأحماض الدهنية الأساسية التى لا يستطيع الجسم أن يكونها ومن أهم هذه الأحماض حامض اللينوليك *linoleic* (C18:2 ω-6) ، حامض اللينولينيك *linolenic* (C18:3 ω-3) .

1 6 7 8 9 10 18



Linoleic Acid (C18:2 ω-6)

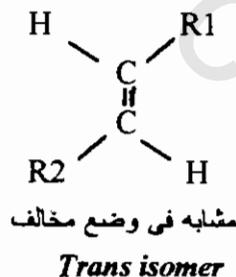
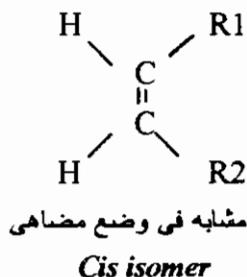
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 18



Linolenic acid (C18:3 ω-3)

وهناك أحماضا دهنية تحتوى على أكثر من ثلاث روابط زوجية وينتشر وجودها بصفة اساسية فى زيوت الأسماك . وتستخدم الجليسيريدات عديدة عدم التشبع فى صناعة الزيوت المهدرجة وإنتاج المسلى الصناعى *Shortening* .

وعادة توجد الأحماض الدهنية غير المشبعة على صورة مشابهات فراغية وهى توجد عادة فى الطبيعة على صورة وضع مضاهى (سيس *Cis*) أما الصورة ترانس (*Trans* (الوضع المخالف) فهى تتكون خلال التفاعلات الكيميائية مثل الأكسدة أو الهدرجة، ويمكن توضيح ذلك فى النموذج التالى :



ويبين الجدول رقم (2.7) بعض الأحماض الدهنية غير المشبعة الشائعة في معظم الزيوت والدهون الغذائية .

جدول (2.7): بعض الأحماض الدهنية غير المشبعة الشائعة في معظم الزيوت والدهون

المصدر	عدد نرات الكربون	الرمز الكيميائي	الإسم الشائع	الإسم الكيميائي
دهن اللين- زيت الحوت	10:1	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	كابروليك <i>Caproic</i>	9-decenoic
دهن اللين- زيت الحوت	12:1	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	لوروليك <i>Lauroleic</i>	9-dodecenoic
دهن اللين- زيت الحوت	14:1	C ₁₄ H ₂₆ O ₂	ميرستوليك <i>Myristoleic</i>	9-tetradecenoic
دهن اللين- دهون حيوانية	16:1	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	بالميتوليك <i>Palmitoleic</i>	9-hexadecenoic
معظم الزيوت والدهون	18:1	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	أوليك <i>Oleic</i>	9-octadecenoic
معظم الزيوت والدهون	18:2	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	لينوليك <i>Linoleic</i>	9-12-octadecadienoic
الصويا - الكتان - زيوت الأسماك	18:3	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	لينولينيك <i>Linolenic</i>	9-12-15-Octadecatrienoic
زيوت الأسماك	20:1	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	جاوليك <i>Gadoleic</i>	9-eicosenoic
زيت قشلمج- الخردل	22:1	C ₂₂ H ₄₂ O ₂	إيروسيك <i>Erucic</i>	13-decosenoic
زيوت الحيوانات البحرية	20:4	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	أراكيدونيك <i>Arachidonic</i>	5-8-11-14-eicosatetraenoic

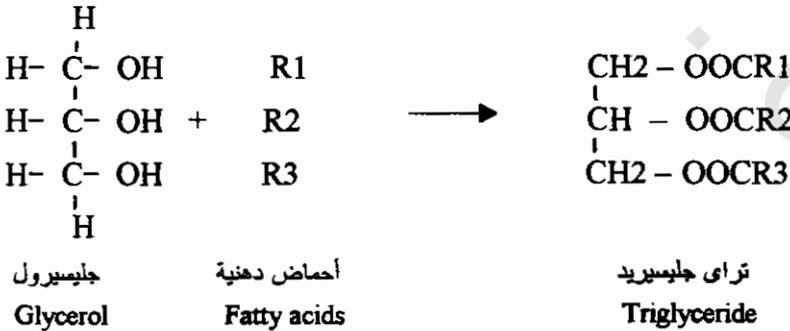
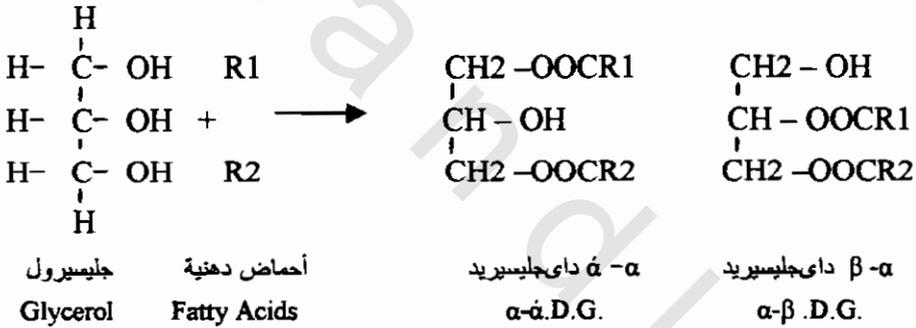
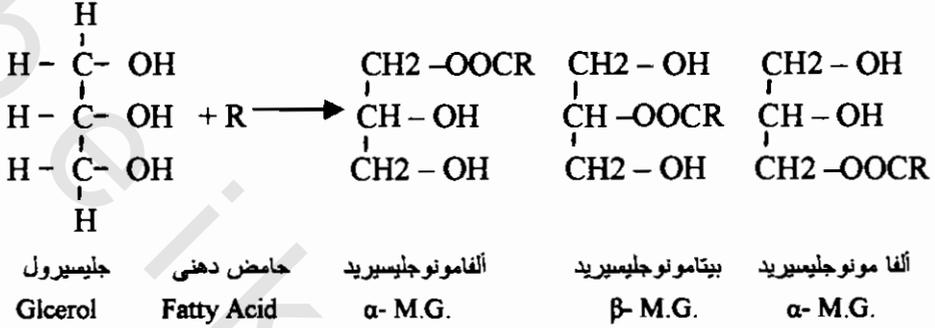
4.1.2.7. أحماض دهنية أخرى :

بالإضافة إلى الأحماض الدهنية السابقة فإن هناك أحماض دهنية أخرى غير شائعة في الزيوت أو الدهون الغذائية فعلى سبيل المثال لا الحصر مايلي:

- أحماض أستيلينية (حمض إيساميك *Isamic*) ويوجد في زيت نبات الوانجوكيا .
- أحماض هيدروكسيلية (حمض ريسينوليك *Ricinoleic* ويوجد في زيت الخروع)
- أحماض حلقيه (حمض الشالموجريك *chaulmoogric*) ويوجد في زيت نبات الشلموجرا .
- أحماض ثنائية الكربوكسيل (أكساليك *Oxalic* ، سكسنيك *Succenic* ، مالونيك *Malonic*) هي من نواتج تمثيل البيبيدات .

2.2.7. الجليسيريدات : *Glycerides*

تنتج الجليسيريدات من تفاعل الجليسيرول مع الأحماض الدهنية ويرتبطا برابطة إستيرية فينتج عن ذلك جليسيريدات مختلفة حسب نوع وعدد الأحماض الدهنية على الجليسيرول كما هو موضح فيمايلي :



3.2.7. المواد غير الجليسيريدية *Nonglyceride Substances* :

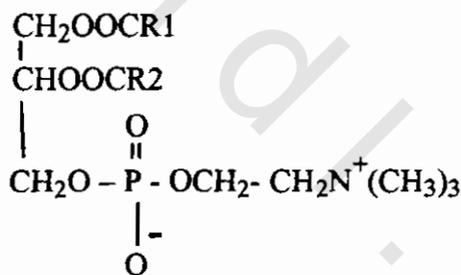
تحتوى الزيوت والدهون على نسب منخفضة من مركبات يطلق عليها المواد غير الجليسيريدية وتنخفض نسبة هذه المواد بعد عمليات الإستخلاص والتكرير المختلفة وقد يختفى بعضها نهائيا . ومن أهم تلك المواد ما يلى :

1.3.2.7. الفوسفوليبيدات *Phospholipids* :

وهى عبارة عن كحولات عديدة مثل الجليسيرول متحدة برابطة إستيرية مع أحماض دهنية وحمض الفوسفوريك والذى يتحد بدوره مع قاعدة نيتروجينية . وتترسب تلك المواد بالأسيتون أو بخلط الزيت مع الماء وتترك فترة من الزمن لترسب ويمكن فصلها بعد ذلك بالطرد المركزى . ومن أهم أنواع الفوسفوليبيدات ما يلى :

• الليسيثين *Lecithin* :

وهو عبارة عن جليسيريد ثلاثى إستبدل حامض دهنى منه بحمض فوسفوريك مرتبط بقاعد نيتروجينية (قاعدة الكولين *choline base*) ، ويعمل الليسيثين كمادة مستحلبة بكفاءة عالية ويخفض كذلك من لزوجة الزيت ، بالإضافة إلى أنه يعمل كمساعد لمضادات الأكسدة *Synergist* .



الليسيثين *Lecithin*

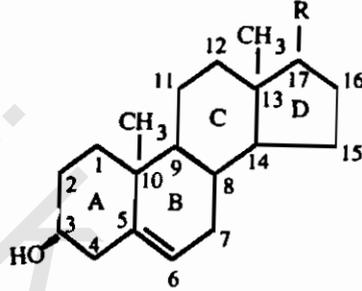
• السيفالين *Cephaline* :

وهو يشبه فى تركيبه الكيميائى تركيب الليسيثين فيما عدا أن القاعدة النيتروجينية هى الكولامين *cholamine (Ethanolamine)* .

وعموما فإن الأحماض الدهنية الموجودة في الفوسفوليبيدات على الجليسيريد تختلف باختلاف مصدرها النباتي وكذلك تتباين نسبة الفوسفوليبيدات حسب نوع المادة الخام ودرجة نضج البذور عند الإستخلاص .

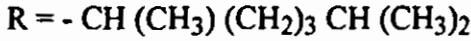
2.3.2.7. الإستيرويدات (الإستيرولات) *Esteroids* (*Esterols*) :

وهي عبارة عن كحولات قابلة للتبلور ومتعادلة وغير قابلة للتصين ، والرمز البنائي للإستيرولات ما يلي:

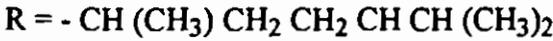


ومن أهم أنواع الإستيرولات ما يلي :

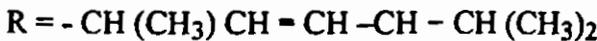
• الكوليستيرول *Cholesterol* : ويوجد بصفة أساسية في الدهون الحيوانية ورمزه البنائي كما يلي :حيث تستبدل مجموعة الـ R في التركيب البنائي السابق للإستيرولات بالتركيب الكيميائي التالي :



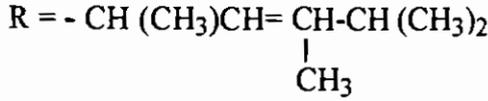
• بيتاسيتوستيروول *β-sitosterol* : وهو من الإستيرولات النباتية وشائع وجوده في زيت بذرة القطن وتستبدل مجموعة الـ R في التركيب الأساسي بما يلي :



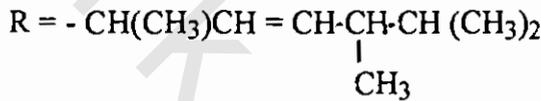
• ستيجماستيروول *Stigmasterol* : وهو من الإستيرولات النباتية وهو يمثل الصورة الرئيسية للفوسفوليبيدات في زيت فول الصويا ، حيث تستبدل الـ R من الرمز البنائي للإستيرولات بالمجموعة التالية :



* كامبستيرول *Champesterol* : تم عزل هذا النوع من الفوسفوليبيدات من فول الصويا وجنين القمح وزيت الشلجم ورمزه البنائي كما يلي : حيث تستبدل الـ R بمايلي:



* أرجوستيرول *Ergosterol* : يوجد هذا النوع من الإستيرولات فى كلا من الزيوت النباتية والدهون الحيوانية ، يتحول عند تعرضه للشمس إلى فيتامين " D " والذى يقى الأطفال الرضع من الكساح . ورمزه البنائي يحتوى على رابطتين زوجيتين فى الجزء الحلقى واحدة بين ذرتى الكربون 5 ، 6 والأخرى بين ذرتى الكربون 7 ، 8 ، وتستبدل مجموعة الـ R بمايلي :



وتعتبر الإستيرولات مهمة من الناحية التغذوية والطبية لما لها من أهمية فى تخليق الهرمونات الجنسية . ويعتبر الكوليستيرول من أهم هذه الإستيرولات حيث يوجد بصورة طبيعية فى جسم الإنسان ، ويعتبر الكبد هو المصنع الرئيسى لتخليق الكوليستيرول ، كما أنه فى نفس الوقت أكبر مستهلك لمركبات الكوليستيرول ، فكل خلية يمكنها تخليقه أو تصنيعه ، ويوجد الكوليستيرول بنسبة كبيرة فى المخ . وتؤدى زيادة مستوى الكوليستيرول عن الحد المناسب إلى حدوث تصلب للشرايين .

وعموما فإذا كانت نسبة الكوليستيرول فى دم الإنسان أقل من 200 ملليجرام/ديسيلتر فإن مستواه يعتبر منخفضا ، فى حين إذا كانت نسبته فى الدم تتراوح بين 200 إلى 240 ملليجرام/ديسيلتر فإن مستواه يعتبر متوسطا ، أما إذا زادت نسبته عن 240 ملليجرام/ديسيلتر فذلك نذير بمخاطر حتمية تؤدى لمرض تصلب الشرايين *atheroclerosis* .

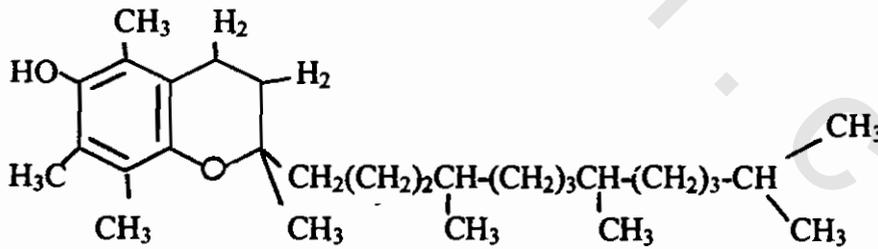
وينتقل الكوليستيرول داخل الخلايا المختلفة عن طريق ناقلات خاصة يطلق عليها بالليبوبروتينات *lipoproteins* ، ويوجد منه أربع صور لكل صورة منها دور فى عملية التمثيل الغذائى وهى : الليبوبروتين منخفض الكثافة جدا *very low density*

low density lipoprotein (vLDL-C) ، الليبوبروتين منخفض الكثافة ،
intermediate density lipoprotein (LDL-C) ، الليبوبروتين متوسط الكثافة ،
high density lipoprotein (IDL-C) ، الليبوبروتين مرتفع الكثافة ،
(HDL-C) . وتعتبر الكوليستيرول مرتفع الكثافة (*HDL-C*) هو النوع الجيد ولا يسبب
 أى مخاطر صحية للإنسان .

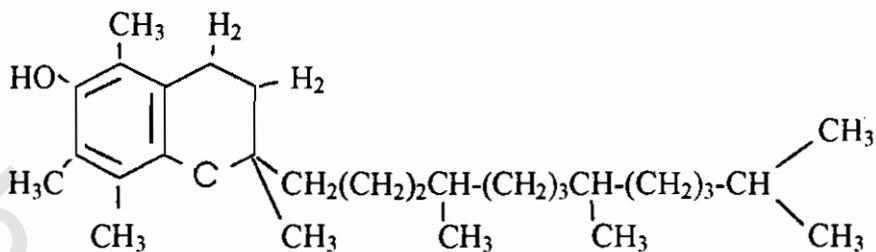
ومن ناحية أخرى تعتبر الزيوت والدهون من العناصر المحددة لمستوى
 الكوليستيرول فى البلازما حيث يعتقد أن الأحماض الدهنية المشبعة فى الدهون هى
 المسؤولة عن زيادة مستوى الكوليستيرول فى البلازما . أما الأحماض الدهنية غير
 المشبعة وعديدة عدم التشبع (خاصة $\omega-3$ ، $\omega-6$) فيعتقد أنها تعمل على خفض مستوى
 الكوليستيرول فى الدم ، حيث أثبتت الأبحاث أن الأحماض الدهنية غير المشبعة تعمل على
 زيادة معدل تفريغ الفوسفوليبيدات من البلازما إلى الكبد ، مما يؤدي لخروج بعض
 الكوليستيرول إلى الصفراء وبالتالي ينخفض مستوى الكوليستيرول فى البلازما .

3.3.2.7. التوكوفيرولات *Tocopherols* :

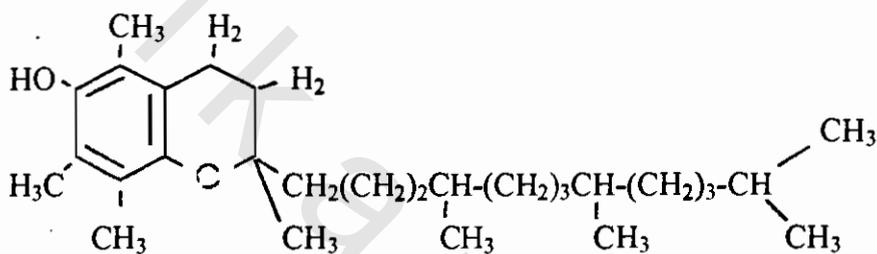
تعمل التوكوفيرولات كمواد مضادة للأكسدة *antioxidants* فى الزيوت النباتية
 وتتأثر بالمعاملات التكنولوجية المختلفة أثناء الإستخلاص ، كما تعرف بفيتامين A (*E*) ولها
 علاقة بتنشيط الجهاز التناسلى . ويعتبر زيت جنين القمح من أغنى الزيوت فى محتواه
 من التوكوفيرولات . ومن أهم مركبات هذه المجموعة مايلى :



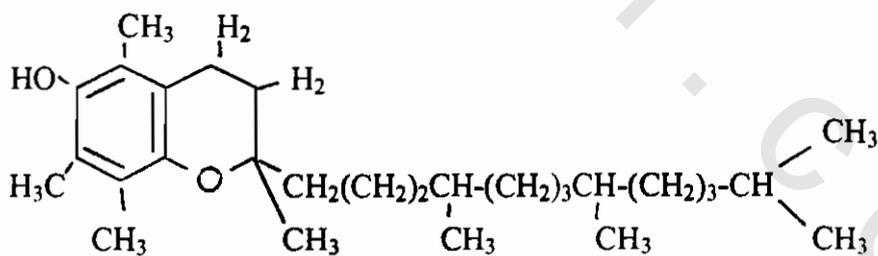
الفأ توكوفيرول



بيتا توكوفيرول



جاما توكوفيرول



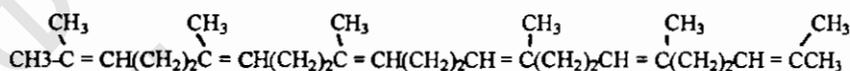
دلٹا توكوفيرول

4.3.2.7. الهيدروكربونات *Hydrocarbons* :

وهى عبارة عن مواد غير قابلة للتصبن ولا تحتوى على مجموعات هيدروكسيلية ,
ومن أهم مركبات هذه المجموعة ما يلى :

1- سكوالين *Squaline* :

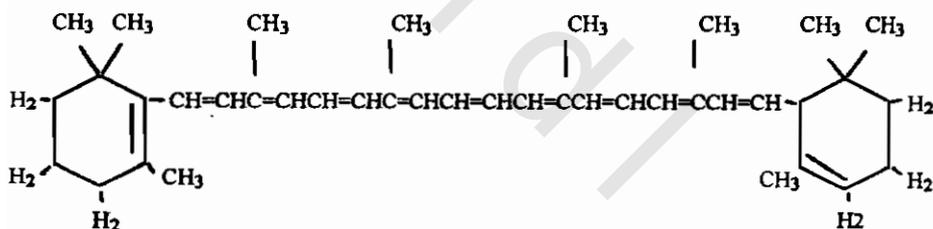
يوجد بكثرة فى زيوت الأسماك وخاصة زيت كبد القرش ، كما لوحظ وجوده فى
بعض أصناف من زيت الزيتون فى الجزء الغير قابل للتصبن .



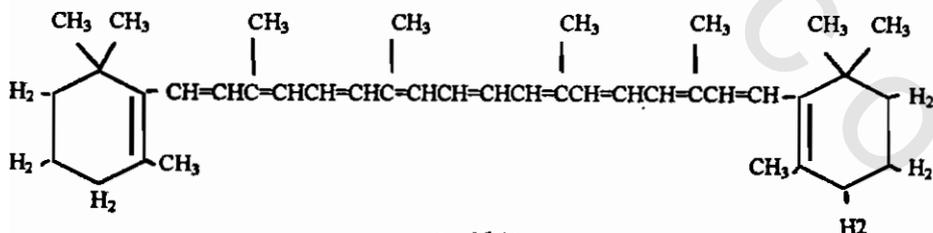
سكوالين *Squaline*

2- الكاروتينات *Carotenes* :

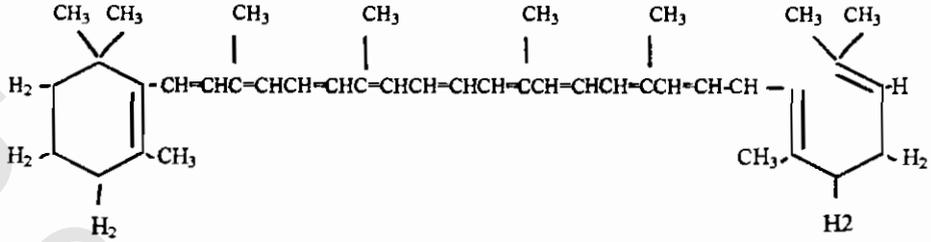
وهى عبارة عن مواد هيدروكربونية ملونة توجد فى الزيوت النباتية والتي تعطى
الزيوت اللون المميز لها، وتتأثر هذه المركبات بعمليات التقية المختلفة أثناء إستخلاص
الزيوت النباتية من مصادرها المختلفة وكذلك أثناء الهدرجة ، وهناك عدة أنواع من
الكاروتينات من أهمها ألفا ، بيتا ، جاما كاروتين :



ألفا كاروتين



بيتا كاروتين



جاما كاروتين

3.7. تحليل الزيوت والدهون

قبل أن نبدأ بشرح الطرق المختلفة لتحليل الزيوت والدهون لا بد من إلقاء نظرة فاحصة على طرق تجهيز العينات قبل عملية التحليل لما لها من أهمية بالغة في إمكانية الحصول على نتائج سليمة .

1.3.7. تجهيز العينة *Sample preparation* :

تعتمد عملية إستخلاص الزيوت والدهون من الأنسجة النباتية أو الحيوانية يعتمد على عدة أسس عامة أو خطوات رئيسية كما يلي :

1.1.3.7. معاملات ما قبل الإستخلاص *Pretreatments before extraction* :

* **التجفيف *Drying*** : في كثير من الأحيان لا تستطيع المذيبات العضوية التي تستخلص بها الزيوت والدهون أن تتخلل الأنسجة ذات الرطوبة العالية بسهولة ، وبالتالي تتخفض كفاءة عملية الإستخلاص ، فعلى سبيل المثال يعتبر الإيثريثاني الإيثيل *diethylether* من المذيبات الهيدروكربونية ويتشبع بسهولة بالماء وبالتالي تتخفض قدرته على الإستخلاص . وكذلك فإنه بالإضافة لأهمية عملية التجفيف في زيادة كفاءة الإستخلاص فإنها تؤدي كذلك لسهولة طحن العينات وبالتالي زيادة مساحة سطح الإستخلاص وكسر المستحلب المائي . إلا أن تجفيف العينات على درجة حرارة مرتفعة قد يؤدي لنتائج عكسية حيث يؤدي لإرتباط الدهن مع البروتين والكربوهيدرات مما يؤدي إلى تعقيد وصعوبة عملية الإستخلاص بالمذيبات .

• **حجم الجزيئات Particle size** : تعتمد كفاءة عملية الإستخلاص من العينات الجافة على حجم الجزيئات فكلما كان حجم الجزيئات صغير كلما زادت مساحة سطح الإستخلاص وكفاءته. وفي بعض الأحيان يمكن خلط هذه الجزيئات مع مذيب واحد أو نظام مذيبات مختلطة .

• **التحليل الحامض Acid hydrolysis** : يجرى التحليل الحامض لتكسير الروابط بين الليبيدات والبروتينات والكربوهيدرات ويتم الهضم الحامض بواسطة حمض الهيدروكلوريك 3 ع تحت تفريغ فيؤدي ذلك لتحويل هذه الروابط إلى صورة سهلة الإستخلاص .

2.1.3.7. إختيار المذيب Selection of solvent :

يؤدي عدم ذوبان الزيوت والدهون في الماء لسهولة إستخلاصها من المكونات الأخرى في الأنسجة كالبروتينات والكربوهيدرات . وللزيوت والدهون مدى واسع من التباين في درجة عدم القطبية *degree of non polarity* والتي تعتمد أساسا على تركيبها (الكيميائي) الجزيئي . لذلك فقد يلزم إستخدام أكثر من نوع واحد من المذيبات لإستخلاص الليبيدات من الأنسجة. وبالرغم من أن روابط فاندرفالس *Vanderwaals* والروابط الإلكتروستاتيكية *electrostatic bonds* ، والروابط الهيدروجينية *hydrogen bonds* تتكسر أثناء الإستخلاص بالمذيبات إلا أن الروابط التساهمية *covalent bonds* تظل كما هي ولا تتأثر. فالليبيدات المتعادلة تتميز بروابط غير قطبية وبالتالي يسهل إستخلاصها من الأنسجة بواسطة المذيبات غير القطبية *non polar* . أما الليبيدات القطبية فتحتاج لمذيبات قطبية *polar* لكسر الروابط الإلكتروستاتيكية والهيدروجينية . وعلى النقيض من ذلك ، لا يمكن إستخلاص شقوق الليبيدات ذات الروابط التساهمية (بين الليبيدات والسكريات) بالمذيبات العضوية وتظل كاتنة في الجزء غير الليبيدي . ولهذا فالإتمام عملية الإستخلاص يتحتم إجراء تحليل حامض لكسر هذه الروابط. وتعتمد صفات المذيبات المختارة لإستخلاص الليبيدات بصفة أساسية على التركيب الكيميائي الطبيعي للمادة الغذائية ونوع الليبيدات المراد إستخلاصها ويجب أن تتوفر الشروط التالية في المذيبات المستخدمة في عملية الإستخلاص :

3.1.3.7. إستخلاص الليبيدات *Extraction of lipids* :

بعد تجهيز العينات المراد إستخلاص الليبيدات منها بتجفيفها وطحنها يجرى خلطها جيدا بالمذيب المناسب. وهناك عدة طرق لعملية الإستخلاص نذكر منها مايلي :

أ- الطرق الغير مباشرة *Indirect Methods* للتقدير التقريبي لنسبة الليبيدات الكلية :

* طريقة الكثافة *Density method* : أمكن تقدير الليبيدات الكلية عن طريق حساب كثافة البذور الزيتية ، حيث لوحظ أن معامل الارتباط بين كثافة البذور وكمية الزيت مرتفع ($r = 0.96$). لذا فهي تستخدم في تقدير الليبيدات في البذور ذات المحتوى المرتفع من الزيت . وتقدر الليبيدات بهذه الطريقة عن طريق جداول قياسية خاصة تبين العلاقة بين كثافة البذور وكمية الزيت فيها (مقدرة بالطرق الكيميائية العادية) .

* إمتصاص أشعة إكس *X-ray absorption* : وجد أن هناك علاقة بين درجة إمتصاص اشعة إكس وكمية الدهون في العينات ، حيث لوحظ أن الأنسجة الحيوانية منخفضة الدهن تمتص أشعة إكس أكثر من الأنسجة المرتفعة في الدهن . وتستخدم هذه الطريقة في تقدير الدهون في اللحوم ومنتجاتها بإستخدام منحني قياسي يبين العلاقة بين الأشعة الممتصة ومحتوى الدهون المقدره بطرق الإستخلاص المعتادة .

* درجة التوصيل الكهربى *Dielectric* : من المعروف أن درجة التوصيل الكهربى للمذيب العضوى تتغير عندما يذوب الدهن فيه . فبعد طحن العينة وخلطها بالمذيب يقاس درجة التوصيل الكهربى للمخلوط ، وعن طريق جداول قياسية لمحتوى الدهن والتي توضح الإختلافات في درجة التوصيل الكهربى ومحتوى الدهون في نفس المذيب يمكن معرفة محتوى الدهون بالعينة . كما أن معامل الارتباط بين محتوى الزيت (في فول الصويا) ودرجة التوصيل الكهربى علاقة خطية ويساوى ($r = 0.98$) .

* التحليل الطيفى بالأشعة تحت الحمراء *Infrared spectroscopy* : تستخدم هذه الطريقة في تقدير الدهن في اللبن ومنتجاته ، حيث أن دهن اللبن يمتص الأشعة تحت الحمراء عند طول موجى $5.73 \mu\text{m}$ وتعتمد درجة الإمتصاص على كمية الدهن في العينة ، وعن طريق منحني قياسي يمكن معرفة كمية الدهن في العينة .

ب- الطرق المباشرة لتقدير الليبيدات الكلية *Direct methods* :

* طريقة النقع *Steeping method* : تستخدم هذه الطريقة لإستخلاص الليبيدات من المواد الغذائية الجافة بعد طحنها جيدا مثل الحبوب ، حيث تتقع وزنة معينة منها فى المذيب العضوى (هكسان أو بتروليم إيثر) فى كأس زجاجى ويغضى بالألومنيوم فويل حتى لايتطاير المذيب على درجة حرارة الغرفة مع التقليب لمدة 24 ساعة ، ثم يرشح المستخلص ، وينقل الراسب المتبقى على ورقة الترشيح إلى الكأس مرة أخرى وتضاف إليه كمية من المذيب وينقع مرة أخرى كما سبق لمدة 24 ساعة إضافية ، ثم يرشح ويضاف الراشح الناتج على الراشح الأول مع إضافة مادة ممتصة للرطوبة مثل كبريتات الصوديوم اللامائية *sodium sulphate anhydrous* لتجفيف المستخلص ثم يرشح مرة أخرى لإزالة كبريتات الصوديوم اللامائية ويبخر فى جهاز تبخير المذيبات *Rotary evaporator* تحت تفريغ . وهذه الطريقة لا يعتد بها فى حساب النسبة المئوية للزيت أو الدهن فى العينة حيث أنها لا تعطى نتائج دقيقة ولكن يمكن إستخدامها فى الحصول على الزيت لإجراء التحليلات المختلفة .

* طريقة سوكلت *Saxhlet method* : تستخدم هذه الطريقة فى إستخلاص الزيوت والدهون من العينات (الجافة) المختلفة بعد تجهيزها (تجفيفها وطحنها) ، ويستخدم فى هذه الطريقة جهاز سوكلت الذى يتكون من عدة أجزاء وهى كما يلى :

- كستبان *thimble* خاص لوضع العينة المطحونة فيه ، وإذا لم يتوفر هذا الكستبان يمكن إستخدام ورقة ترشيح تشكل على شكل إسطوانى مقفل من أحد الطرفين قبل وضع العينة فيها .
- مكثف مائى لإعادة تكثيف المذيب المتبخر على العينة بإستمرار لتحسين كفاءة الإستخلاص .

- وحدة إستخلاص مزودة بذراع جانبى *side arm* يجمع فيها المذيب بعد تكثيفه على العينة وبعد وصول حجمه لمستوى أعلى من الذراع الجانبى يعاد مرة أخرى إلى قابلة تجميع الزيت والمذيب التى بتسخينها يتبخر المذيب ويتكثف على العينة مرة أخرى لإستخلاص مزيد من الزيت ، وفى كل الأحوال يظل المستخلص فى القابلة .

- قابلة (دورق ذو قاع دائرى سعة 500 مل) لتجميع الزيت والمذيب بعد عملية الإستخلاص.

- حمام مائى مزود بثرموستات لضبط درجة الحرارة .

ويوضح الشكل رقم (1.7) رسم تخطيطى لأجزاء جهاز سوكلت المختلفة .



كستبات



جهاز سوكلت

شكل (1.7): جهاز سوكلت

ويمكن تلخيص خطوات إستخلاص الزيت بطريقة سوكلت فيما يلى :

- زن وزنة معلومة بدقة من العينة الجافة المجهزة وضعتها فى الكستبان (أو بتغليفها بورقة ترشيح) مع تغطية الكستبان بقطعة من القطن لعدم تسرب العينة منه أثناء الإستخلاص.

- يوضع الكستبان وبه العينة في وحدة الإستخلاص ذات الذراع الجانبى ويضاف عليه حجم من المذيب يعادل مرة ونصف حجم وحدة الإستخلاص مع ملاحظة وجود القابلة تحت وحدة الإستخلاص .

- ثم يركب المكثف المائى على وحدة الإستخلاص ، ثم يوضع الجهاز فى حمام مائى ويثبت بمواسك خاصة ، ويسخن على درجة حرارة مساوية أو أعلى قليلا من درجة تبخر المذيب . فإثناء عملية التسخين يتبخر المذيب من القابلة بفعل الحرارة ويمر خلال الذراع الجانبى لوحدة الإستخلاص ثم إلى المكثف فيتكثف المذيب على العينة حتى يصل حجمه إلى مستوى الذراع الجانبى ثم يحدث تفريغ (*Siphon*) للمذيب والزيت الذى إستخلصه إلى القابلة مرة أخرى ، ومع إستمرار التسخين تستمر عملية الإستخلاص حتى نهاية الفترة المحددة وهى حوالى 16 ساعة إستخلاص . ويمكن تجزئة وقت الإستخلاص حسب ظروف القائم بالعملية بحيث يكون مجموع زمن الإستخلاص 16 ساعة .

- بعد ذلك يخبر المذيب من الزيت فى جهاز تبخير المذيبات *Rotary evaporator* تحت تفريغ ثم ينقل الزيت مع جزء من المذيب فى كأس معلوم الوزن ويكمل تبخير المذيب من العينة فى فرن على درجة حرارة 50 - 60°م حتى ثبات الوزن ، ثم يحسب وزن الزيت المستخلص .
- تحسب النسبة المئوية للزيت فى العينة من المعادلة الآتية :

$$\% \text{ للزيت فى العينة} = \frac{\text{وزن الزيت}}{\text{وزن العينة}} \times 100$$

وتجدر الإشارة فى هذا الصدد إلى ضرورة تجفيف العينات قبل إستخلاصها بهذه الطريقة لتحسين كفاءة الإستخلاص .

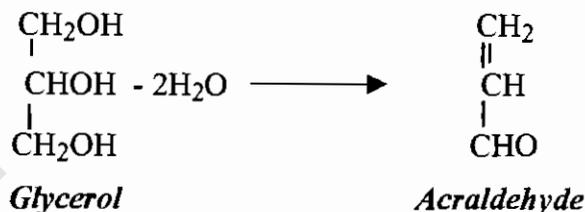
* طريقة بلاى ودابير *Blight & Dyer method* : تستخدم هذه الطريقة فى حالة إستخلاص الدهون من العينات ذات النسبة المرتفعة من الرطوبة (70 %) مثل اللحوم والأسماك والدواجن . ويستخدم فى هذه الطريقة نوعين من المذيبات الأول غير قطبى نسبياً (كلوروفورم) والآخر قطبى (ميثانول) ويستغرق زمن الإستخلاص أقل من 5 دقائق ويمكن إيجاز هذه الطريقة فى النقاط التالية :

- زن بدقة 100 جرام من العينة المتجانسة وانقلها إلى خلاط كهربائي *Warring* *blender* من نوع لا يحتوى على أى أجزاء أو جوانات من الكاوتشوك حتى لا تتآكل بالمذيبات .
- أضف عليها بعد ذلك 100 مل من الكلوروفورم + 200 مل ميثانول + حجم من الماء عبارة عن الفرق بين 80 - % لرطوبة العينة (5 مل ماء مقطر عندما تكون رطوبة العينة 75 %) وإخلط لمدة 2 ق .
- أضف 100 مل أخرى من الكلوروفورم وإخلط مرة أخرى لمدة 30 ثانية ، ثم أضف 100 مل من الماء المقطر وإستمر فى الخلط لمدة 30 ثانية أخرى .
- رشح المخلوط بعد ذلك فى قمع بوخنر *Buchner* بإستخدام ورق ترشيح واتمان رقم 1 تحت تفريغ لسهولة الترشيح .
- إنقل ورقة الترشيح وما عليها من راسب إلى الخلاط مرة أخرى وأضف عليها 100 مل كلوروفورم لإستخلاص الدهن المتبقى فى العينة .
- رشح كما سبق ، ثم أضف هذا الراشح إلى الراشح الأول فى قمع فصل وإتركه فترة من الزمن حتى تمام الفصل .
- ويلاحظ أن طبقة الكلوروفورم (الطبقة السفلية) لونها أصفر لإحتواءها على الزيت او الدهن المستخلص فى حين الطبقة العليا (الميثانول والماء) رائحة إلى حدما .
- تفصل بعد ذلك طبقة الكلوروفورم من قمع الفصل فى دورق يحتوى على كبريتات صوديوم لامائية لتجفيف المستخلص .
- يرشح المستخلص بعد ذلك لإزالة كبريتات الصوديوم اللامائية ، ثم يبخر فى جهاز تبخير المذيبات ويعبر وزن الدهن عن % للدهن فى العينة الرطبة مباشرة (لأن وزن العينة 100 جم تماما) .

2.3.7. طرق تحليل الزيوت والدهون *Analysis of fats and oils* :

- 1.2.3.7. الإختبارات الوصفية *Qualitative tests* : تتميز معظم هذه الإختبارات بأنها إختبارات لونية ، تعتمد أساسا على تكوين لون خاص للمواد غير المتصبنة التى تتفاعل مع جواهر كشافه معينة وتعطى لون مميزا للإختبار ، وهذه الإختبارات غير دقيقة ولا يصح الإعتماد عليها كليا دون الإستمانه بالطرق الأخرى الطبيعية والكيميائية .

* إختبار الأكرولين *Acrolein test* : يعتبر هذا الإختبار عام لجميع الزيوت والدهون حيث يتم تسخين الزيت أو الدهن بشدة فينتج مركب الأكرولين أو الأكرالدهيد *acrolein or acraldehyde* ذو الرائحة النفاذة ، والذي ينتج من فقد الجليسيرول 2 جزئ ماء كما هو موضح في المعادلة الآتية :



* إختبار هالفن *Halphen's test* : يستخدم هذا الإختبار في الكشف عن غش الزيوت والدهون والزبدة بزيت بذرة القطن ويجرى هذا الإختبار طبقا لطريقة (AOAC رقم 897.02) كما يلي :

- ضع حوالي 8-10 مل من الزيت في أنبوبة إختبار كبيرة
- أضف عليها 10 مل من محلول هالفن (1% كبريت في ثنائي كبريتيد الكربون) + 10مل كحول إيثايل ، ثم سخن في حمام مائي يغلي لمدة ساعة .
- إذا تكون لون أحمر دل ذلك على أن العينة تحتوى على زيت بذرة القطن ويرجع ذلك إلى إحتواء زيت بذرة القطن على أحماض دهنية حلقيه *cyclopropenoid* بنسبة 0.5 % ممثلة كحامض المالفاليك *malvalic* والذي يعطى اللون الأحمر مع محلول هالفن.

* إختبار فلافيشيا *Villavecchia test* : يستخدم في الكشف عن زيت السمسم *sesame oil* ، حيث يتفاعل الفورفورال مع الإستيروولات الموجودة في زيت السمسم ويعطى لون أحمر ، ويمكن إجراء الإختبار كما يلي (طريقة AOAC رقم 893.01) :

- أضف 10 مل من الزيت في أنبوبة إختبار + 0.1 مل محلول فلافيشيا (2 % فورفورال في كحول إيثايل 95 %) + 10 مل حامض هيدروكلوريك مرر .
- قلب الأنبوبة جيدا لمدة 30 ثانية ، ثم أترك الأنبوبة حتى تمام الفصل .

- إذا لم يتكون لون أحمر في طبقة الحامض دل ذلك على عدم وجود زيت السمسم.
- إذا تكون لون أحمر في طبقة الحامض يضاف 10 مل من الماء والرج ، ثم تترك الأنبوبة فترة من الزمن ، فإذا أعطت لون أحمر في طبقة الحامض دل ذلك على وجود زيت السمسم .

2.2.3.7. الإختبارات الطبيعية *Physical tests* :

* **الوزن النوعي *Specific gravity*** : وهي عبارة عن وزن حجم معين من الزيت أو الدهن منسوبا إلى وزن نفس الحجم من الماء عند درجة حرارة معينة .وعادة يقدر الوزن النوعي للزيوت أو الدهون على درجة حرارة 25°م ، ولكن هناك بعض أنواع من الزيوت والدهون لايمكن قياسها عند هذه الدرجة من الحرارة وعليه فإنه يفضل تقدير وزنها النوعي على درجات حرارة مرتفعة نسبيا ثم تصحح قيمة الوزن النوعي باستخدام معامل التصحيح التالي :

$$\text{الوزن النوعي (25°م)} = \text{الوزن النوعي (25°م)} + 0.00064 (\text{د} - 25°\text{م})$$

حيث أن د = درجة الحرارة المقاس عندها الزيت أو الدهن

ونظرا لأن الكثافة تتأثر بكل من الوزن الجزيئي للأحماض الدهنية ودرجة عدم التشبع فإنه يمكن تقديرها عن طريق قياس كل من رقم التصبن والرقم اليودي من المعادلة الآتية:

$$\text{Density (Sp.G)} = 0.8475 + 0.0003 (S) + 0.00014 (IV)$$

حيث أن : S = رقم التصبن *Saponification value*

IV = الرقم اليودي *Iodine value*

وعموما فإن الإختلافات في الكثافة بين الزيوت المختلفة ليست كبيرة لذا فإن تقديرها ليس له أهمية كبيرة لدى محلى الأغذية ، ولكنها تستخدم فقط في حساب وزن محتوى تنكات الزيت في المصانع عن طريق الحجم وأثناء عمليات الهدرجة حيث تتغير مع درجة عدم التشبع . وتقدر الكثافة بالطريقة التقليدية باستخدام قنينة الكثافة *Pyknometer* (AOAC Method 920.213).

* **معامل الإنكسار *Refractive Index*** : يعتبر معامل الإنكسار من الثوابت الطبيعية للزيوت والدهون ويقاس باستخدام الرفراكتوميتر (*Abbe refractometer*) المزود بحمام مائي لضبط درجة حرارة القياس (طبقا لطريقة AOAC رقم 921.08) ،

حيث يقاس معامل إنكسار الزيوت على درجة حرارة 20°م أما الدهون فتقاس على درجة حرارة 40°م . وفى حالة إختلاف درجة حرارة الإختبار عن الدرجة المطلوبة يصحح معامل الإنكسار كما يلى :

يضاف أو يطرح 0.00035 عن كل 1°م إرتفاع أو إنخفاض فى درجة حرارة الإختبار عن الدرجة المطلوبة فى حالة الزيوت .

يضاف أو يطرح 0.00036 عن كل 1°م إرتفاع أو إنخفاض فى درجة حرارة الإختبار عن الدرجة المطلوبة فى حالة الدهون .

كما يدل تقدير معامل الإنكسار على مدى نقاوة الزيت أو الدهن المختبر ، وينخفض معامل الإنكسار بزيادة نسبة الأحماض الدهنية غير المشبعة . ومن ناحية أخرى يزداد معامل الإنكسار بزيادة مدة تسخين الزيوت (خاصة زيوت القلى) نتيجة لحدوث بلمرة وتحلل حرارى للزيت أثناء عمليات القلى ، ويمكن أن يعبر معامل إنكسار الزيوت عن جودة نوع معين من زيوت القلى .

• اللزوجة *Viscosity* : تعرف لزوجة الزيت بأنها عبارة عن المقاومة الداخلية لجزيئات الزيت *internal resistance* عند إنسيابه . ونظرا لعدم وجود تباينات كبيرة بين لزوجة الزيوت المختلفة ، فإن تقديرها ليس له أهمية كبيرة لدى محلى الأغذية إلا إذا كانت سوف تستخدم فى تقدير درجة جودة الزيوت المسخنة وخاصة زيوت القلى ، حيث تزداد اللزوجة أثناء المعاملة الحرارية (القلى) نتيجة لتكوين البوليمرات *polymers* كما أنها تستخدم أيضا فى تقدير حجم المضخات والمواسير فى العديد من المصانع ويمكن تقديرها بإستخدام طرق عديدة منها *Uebbelohde-type capillary viscometers* أو طريقة أوستوالد *Ostwald* أو جهاز هوبلر *Hoebbler* .

• نقطة الإنصهار *Melting point* : تعتبر درجة الإنصهار للزيوت والدهون مصطلحا عاما ، حيث أن الدهون لاتنصهر عند درجة حرارة محددة نظرا لأنها مواد غير نقية (لأن المركبات النقية عادة ما تنصهر إنصهارا كاملا عند درجة حرارة معينة) ، حيث أنها عبارة عن مخاليط مكونة من إسترات الجليسيريدات الثلاثية ذات درجات متباينة من درجة عدم التشبع . ويعتبر الدهن منصهرا تماما عندما تنصهر المكونات الأصلب فى المكونات الأكثر سيولة . وهناك عدة طرق لتقدير نقطة الإنصهار :

- نقطة إنصهار الأنبوبة الشعرية المقفلة *Closed capillary melting point* :

ويجرى هذا الإختبار بوضع عينة الدهن السائلة فى أنبوبة شعرية *capillary tube* زجاجية ذو نهاية مقللة ، ثم توضع فى الثلجة على درجة حرارة 5 - 10°م حتى تتجمد تماما ، ثم توضع بعد ذلك فى حمام مائى مزود بترموتر لقياس درجة الحرارة وترفع درجة حرارة الحمام المائى ببطئ ، وتكون نقطة الإنصهار هى درجة الحرارة التى يصبح عندها الدهن فى الأنبوبة صافيا (رائقا) تماما (*AOAC method 920.157*).

- نقطة إنصهار الأنبوبة الشعرية مفتوحة الطرفين *Open capillary melting point* :

وفى هذه الطريقة توضع الأنبوبة الشعرية مفتوحة الطرفين فى عينة الدهن السائل (المنصهر) فيصعد الدهن فيها بالخاصية الشعرية فى الأنبوبة ، ثم توضع الأنبوبة وبها العينة داخل الفريزر لعدة ساعات (ويفضل طوال الليل) حتى تتجمد . بعد ذلك تربط الأنبوبة الشعرية مع ترمومتر بقطعة من الكاوتشوك ويوضع فى كأس به ماء بارد ويسخن ببطء مع التقليب حتى يبدأ الدهن فى الإنصهار وعندما يصعد عمود الدهن داخل الأنبوبة الشعرية بفعل ضغط الماء السفلى وعند هذه النقطة تسجل درجة الحرارة التى تمثل نقطة إنصهار الدهن . ويعتبر تقدير نقطة الإنصهار من الإختبارات الهامة فى الصناعة وخاصة أثناء تتبع خطوات عمليات الهدرجة كما تذكر كثيرا فى المواصفات القياسية للدهون .

* إختبار التبريد *Cold test* : يستخدم هذا الإختبار لقياس مقاومة الزيت للتبلور ، ويجرى على الزيوت النقية ، حيث يكون الزيت ناجحا مقبولا عن تخزينه لمدة 5.5 ساعة فى درجة حرارة الصفر المئوى دون تكوين راسب أو حدوث يتبلور. وبالتالي يمكن تحديد قدرة زيوت السلطة بصفة خاصة على تحمل التخزين داخل الثلجة .

* اللون *Color* : يعتبر لون الزيت من أهم عوامل الجودة التى أقرها العديد من الباحثين ، حيث أنه من المعروف أن لكل نوع من أنواع الزيوت لون يتميز به . فبعض الزيوت يبدو طبيعيا داكنا بدرجة أكبر من البعض الآخر . وقد توجد صبغات ملونة فى زيوت مميزة (كزيت الزيتون) . ويتأثر لون الزيت بالمعاملات التكنولوجية المختلفة أثناء الإستخلاص والتقىة وكم الصبغات التى تتم إزالتها أثناء تلك المعاملات .

وتعتمد درجة لون الزيت على المادة الخام التى تم إستخلاص الزيت منها ، فإذا كانت رديئة أضفت على الزيت لونا داكنا غير مقبول . وقد يتغير لون الزيت عند تخزينه

لفترة طويلة على درجات حرارة مرتفعة ويرجع ذلك إلى تأكسد التوكوفيرولات
tocopherols عديمة اللون إلى توكوكوينونات ملونة *colored tocoquinones* .

ويقاس لون الزيت عادة بمقياس لوفيبوند للألوان *Lovibond tintometer* ، حيث يقارن لون الزيت بلون عدة شرائح زجاجية قياسية مدرجة في ثلاث ألوان هي : الأصفر ، والأحمر ، والأزرق . وقد يستخدم بدلا من الشرائح الزجاجية الملونة محاليل كيميائية ملونة قياسية توضع في أنابيب مقلدة لمقارنة الألوان . ويمكن توضيح هذه الطريقة فيما يلي (طريقة *AOCS Method Cc 13b-45*) :

- رشح العينة المجهزة (تصهر إذا كانت غير سائلة) خلال ورقة ترشيح لإزالة أى عكارة أو شوائب .

- جهز الشرائح الزجاجية القياسية الملونة (الصفراء أو الحمراء) الخاصة بجهاز لوفيبوند فى خلايا *cells* مختلفة المقاسات (6.35 مم ، 12.70 مم ، 25.4 مم ، 133.35 مم) . ثم نظف الخلية الزجاجية *glass cell* ذات المقاس المطلوب بمحلول رابع كلوريد الكربون وجففها قبل وضع عينة الزيت المراد قياس لونها.

- إملأ الخلية النظيفة بالعينة المرشحة ثم ضعها فى المكان المخصص لها فى الجهاز ويوضع فى الجانب الآخر الشرائح القياسية الملونة اللازمة لمضاهاة لون العينة.

- يعبر عن لون الزيت بوحدات اللوفيبوند أصفر أو أحمر كما يلي :

اللون مقاسا بخلية مقاس (6.35 أو 12.70 أو 25.4 أو 133.35 مم) -

مجموع أرقام شرائح اللون الأصفر + مجموع أرقام شرائح اللون الأحمر

وهناك أنواع من الزيوت يوجد بها الصبغة الخضراء (كلوروفيل *chlorophyll*) والتي تميز الزيت باللون الأخضر ، ويمكن تقديرها بطيف الإمتصاص *Absorption spectra* (كمية الضوء الممتصة) عند أطوال ضوئية محددة . وفى هذه الحالة فإن أطوال الموجات المستخدمة تكون عند 630 ، 670 ، 710 نانوميتر ، ويعبر عن النتائج بجزء فى المليون (*ppm*) من الكلوروفيل . كما يستخدم رقم اللون الأزرق فى مقياس لوفيبوند حيث يؤدى إندماج اللون الأصفر مع الأزرق بنسب متفاوتة لإعطاء درجات متباينة من اللون الأخضر .

هذا ويمكن إستخدام أجهزة قياس الإنعكاس الضوئي *Refractance meter* والتي تعتمد على قياس إنعكاس الضوء ذو الموجات المختلفة فى الطول فى تقدير لون السمن الصناعى وزيادة الفول السودانى والمارجرين والمايونيز . وتفسر القيم المتحصل عليها عن طريق المقارنة بقيم قياسية مختارة .

* **نقط التدخين ، الوميض والإشتعال *Smoke , Flash and fire points* :**

تعرف نقطة التدخين *smoke point* بأنها درجة الحرارة التى يبدأ عندها الدهن أو الزيت فى إطلاق خيوط مستمرة من الدخان . وتعتبر من الإختبارات الهامة فى قياس درجة تدهور الزيوت وخاصة زيوت القلى . أما نقطة الوميض *flash point* فهى عبارة عن درجة الحرارة التى عندها يظهر وميض على أى جزء من سطح الزيت أثناء تسخينه والذى يستمر حوالى 1 ثانية . فى حين أن نقطة الإشتعال *Fire point* : هى درجة الحرارة التى يشتعل عندها الزيت وتستمر حوالى 5 ثوانى . ويجب الأخذ فى الإعتبار ضرورة تجفيف عينات الزيت أو الدهن قبل تقدير هذه الإختبارات حيث يؤثر وجود آثار من الرطوبة فى الزيت على هذه الصفات.

وبصورة عامة يودى تكون الأحماض الدهنية الحرة والمركبات القطبية الأخرى أثناء عمليات القلى إلى خفض نقطة التدخين ، وبمقارنة نقطة التدخين لنفس نوع الزيت المستخدم فى القلى يمكن التقدير النسبى لمدى تدهور جودته بتكرار عملية القلى .

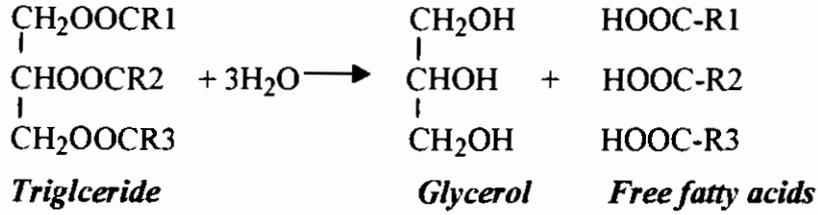
3.2.3.7. الطرق الكيميائية لتحليل الزيوت والدهون:

Chemical Analysis of Oils & Fats:

* **الإختبارات الخاصة بالتحلل *Methods related to hydrolysis* :**

أ- رقم الحموضة *Acid value* : يستخدم رقم الحموضة عادة كدلالة على حدوث تحلل للزيت وذلك بفعل الحرارة والأكسجين فى وجود آثار من الرطوبة مما يودى إلى زيادة الأحماض الدهنية الحرة المنفردة مؤدية فى النهاية إلى حدوث تحلل وفساد للزيت أو الدهن . وقد تحتوى الزيوت النباتية على نسبة عالية من الأحماض الدهنية الحرة إذا ما كانت قد إستخلصت من بذور مخزنة بطريقة غير مناسبة . ويلاحظ عادة أن الزيادة فى نسبة الأحماض الدهنية الحرة يصحبها ظهور وتطور رائحة التزنخ التحليلى ويعرف رقم الحامض بأنه عبارة عن " عدد مليجرامات البوتاسا الكاوية

الكحولية اللازمة لمعادلة الأحماض الدهنية الحرة في 1 جرام زيت أو دهن
وتوضح المعادلة التالية طريقة التفاعل :



ويجرى هذا الإختبار كما يلي طبقاً لطريقة (AOAC رقم 940.28) :

- زن 10 جرام من الزيت أو الدهن في ورق مخروطي ، ثم أضف 25 مل من كحول الإيثايل المتعادل وسخن محتويات الدورق لمدة 5 ق في حمام مائي مع التقليب لإذابة العينة .

- أضف 1 مل من دليل الفينولفثالين *phth* (1 جم في 100 مل كحول إيثايل 95%)
- عادل مع الرج المستمر بواسطة محلول *KOH* 0.1 ع إلى أن يظهر اللون القرنفلى لمدة 1 ق مع التقليب الشديد ليساعد على إتصال الأحماض الدهنية بالمحلول القلوي العياري.
- إحسب رقم الحموضة كما يلي :

$$\text{رقم الحموضة} = \frac{\text{ح} \times \text{ع} \times 56.1}{\text{وزن العينة}}$$

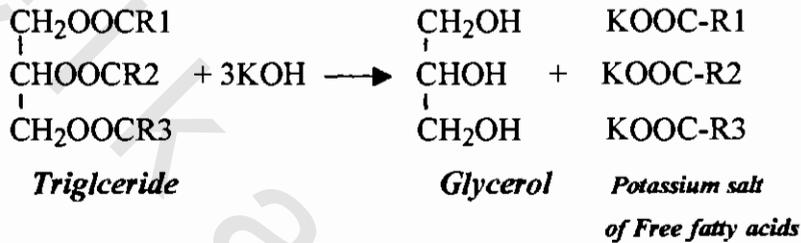
حيث أن:

ح = حجم القلوي *KOH* المستخدم في التعادل بالملييلتر
ع = عيارية القلوي *KOH* المستخدم في التعادل .

- ويمكن حساب النسبة المئوية للحموضة مقدره كحامض أولييك أو على حسب نوع الحامض الشائع وجوده في الزيت المستخدم كما يلي :

$$\% \text{ للحموضة مقدره كحمض أولييك} = \frac{\text{ح(مل)} \times \text{ع} \times 56.1 \times 282 \times 100}{\text{وزن العينة} \times 1000}$$

ب- رقم التصبن *Saponification value* : يعرف رقم التصبن بأنه " عدد ملليجرامات البوتاسا الكاوية الكحولية اللازمة لتصبن 1 جرام زيت أو دهن " ويستدل منه على طول السلسلة الكربونية والوزن الجزيئي للأحماض الدهنية المكونة للزيت أو الدهن . حيث أنه كلما زاد عدد الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة كلما زاد رقم التصبن كما في حالة دهن اللين ومنتجاته وزيت جوز الهند . أما إذا كانت الأحماض الدهنية السائدة في الزيت أو الدهن تتميز بطول سلسلتها الكربونية ينخفض رقم التصبن (كما في زيوت الأسماك وبذرة الكتان ، عباد الشمس والصويا) . وتوضح المعادلة التالية ميكانيكية هذا التفاعل :



- ويمكن إيجاز طريقة إجراء هذا الإختبار فيما يلي (AOAC رقم 920.160) :
- زن 5 جرام من عينة الزيت أو الدهن في دورق مخروطي ، ثم أضف عليها 25 مل بوتاسا كاوية كحولية 0.5 ع ، ثم ضع مكثف هوائي عاكس على الدورق .
 - ضع الدورق بعد ذلك في حمام مائي يغلي لمدة تتراوح بين 30 إلى 60 دقيقة لإتمام تصبن الزيت أو الدهن .
 - بعد تمام التصبن أضف 1 مل من دليل *phth* وعاير بواسطة حامض هيدروكلوريك 0.5 ع حتى نقطة إختفاء اللون الأحمر .
 - أجرى عمل تجربة بلانك تحت نفس الظروف السابقة دون إضافة الزيت أو الدهن .
- إحسب رقم التصبن كما يلي :

$$\text{رقم التصبن} = \frac{56.1 \times \text{ع} \times (1 - \text{ح})}{\text{وزن العينة}}$$

حيث أن :

- ح - حجم الحامض الذى إستهلك فى البلائك بالمليتر .
 ح 1 - حجم الحامض الذى إستهلك فى التجربة بالمليتر .
 ع - عيارية حمض الهيدروكلوريك

ج- رقم الإستر : *Ester value* ويعبر هذا الرقم عن عدد مليجرامات البوتاسا الكاوية اللازمة لتصبين لاجرام زيت أو دهن متعادل ، وبعبارة أخرى هو عبارة عن رقم تصبن الزيت أو الدهن الخالى من الأحماض الدهنية الحرة . ويمكن تقديره كما يلى :

- قدر رقم حموضة العينة كما سبق .
- قدر رقم التصبن فى العينة كما سبق .
- إحسب رقم الإستر من المعادلة الآتية :

رقم الإستر = رقم التصبن - رقم الحموضة

* تقدير الأحماض الدهنية الطيارة *Determination of volatile fatty acids* :

- 1- رقم رايخرت - ميسل *Reichert-Meissl value* : وهو عدد مليلترات المحلول المائى القلوى 0.1 ع اللازمة لمعادلة الأحماض الدهنية الطيارة القابلة للذوبان فى الماء (C4 - C6) الناتجة من تقطير 5 جم من عينة الزيت أو الدهن .
 - 2- رقم بولنسكى *Polenske value* : وهو عدد مليلترات محلول مائى قلوى 0.1 ع اللازمة لمعادلة الأحماض الدهنية الطيارة غير القابلة للذوبان فى الماء (C8 - C12) الناتجة من تقطير 5 جم من عينة الزيت أو الدهن .
 - 4- رقم كرشنر *Kirschner value* : وهو عدد مليلترات محلول مائى قلوى 0.1 ع اللازمة لمعادلة الأحماض الدهنية الطيارة القابلة للذوبان فى الماء التى تكون أملاح الفضة (بإضافة 0.5جم كبريتات فضة إلى المحلول المتعادل فى إختبار رايخرت - بولونسكى ويترك لمدة ساعة فى الظلام ، ثم يرشح ويعاد تقطيره مرة أخرى فى وجود وسط حامضى مخفف ويعاير بواسطة محلول الباريوم) القابلة للذوبان فى الماء والناتجة من تقطير 5 جم من عينة الزيت أو الدهن .
- وعموما فإنه تم تعريف هذه الطرق الأربع السابقة فقط حيث أنها تحتاج إلى أجهزة زجاجية مصممة بمواصفات خاصة ، ولكن فى وقتنا هذا أمكن إستخدام أجهزة التحليل الكروماتوجرافى فى تقدير هذه الأحماض الذى سوف نوضحه بالتفصيل فيما بعد .

• طرق تقدير درجة عدم التشبع *Determination of unsaturation* :

1- الطرق الإسبكتروفوتومترية *Spectrophotometric methods* : تستخدم هذه الطريقة في تقدير التغيرات التي تحدث في الروابط الزوجية أثناء الأكسدة أو المعاملات الحرارية (عمليات القلى) ، حيث يحدث إنتقال للروابط الزوجية في الأحماض الدهنية التي تحتوى على أكثر من رابطة زوجية ، كما تتكون هيدروبيروكسيدات تمتص الأشعة فوق البنفسجية *ultra violet* في نطاق طول موجى يتراوح بين 230 - 245 نانوميتر . كما تتكون أيضا ألدهيدات وكيثونات كنواتج ثانوية لعملية الأكسدة لها إمتصاص في المنطقة بين 262 - 285 نانوميتر . وبمعنى آخر فإن قياس إمتصاص الأشعة فوق البنفسجية عند طول موجى 232 نانوميتر ، 268 نانوميتر يعطى فكرة عن مدى التغير في الروابط الزوجية المتبادلة *conjugated diene* ، *conjugated triene* ، على التوالى . أى أنه عندما يتأكسد حامض اللينولييك *C18:2* لتكوين الهيدروبيروكسيدات يحدث إنتقال لإحدى الروابط الزوجية فينتج لينولييك برابطتين زوجيتين متجاورتين فيزداد على أثره إمتصاص هذا الحامض للأشعة فوق البنفسجية ذات الطول الموجى 232 نانوميتر . ويمكن إيجاز هذه الطريقة كما يلى :

- زن 0.1 جرام من عينة الزيت أو الدهن بدقة ثم أضف عليها 75 مل من الأيزوأوكتان *isooctane* وقلب حتى الذوبان .

- أنقل محلول العينة إلى دورق معيارى سعة 100 مل وأكمل الحجم حتى العلامة .
- ضع العينة بعد ذلك فى خلية الجهاز (جهاز الإسبكتروفوتوميتر) وسجل درجة الأمتصاص للأشعة فوق البنفسجية على طول موجى 232 ، 268 نانوميتر بعد ضبط الجهاز بإستخدام المذيب المستخدم فى عملية الإذابة . وتحسب درجة الإمتصاصية للأشعة فوق البنفسجية من المعادلة الآتية:

$$E_{1\text{cm}}^{1\%} = A / (C \times d)$$

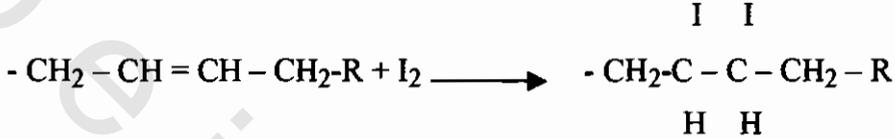
حيث A = الإمتصاص عند طول موجى 232 أو 268 نانوميتر

c = تركيز الزيت بالجرام / 100 مل

d = طول أنبوبة القياس بالسـم .

2- الطرق الكيميائية *Chemical methods* :

أ- الرقم اليودي *Iodine value* : هو عبارة عن " عدد جرامات اليود اللازمة لتشبع الروابط الزوجية في 100 جرام زيت أو دهن " . ويستخدم هذا التقدير في معرفة درجة عدم التشبع ونسبة الأحماض الدهنية غير المشبعة في الزيت أو الدهن كما يستخدم في تتبع المراحل المختلفة لعملية الهدرجة ، وفي الكشف عن غش الزيوت والدهون . وتوضح المعادلة التالية طريقة التفاعل :



وقد قسمت الزيوت على أساس الرقم اليودي إلى :

- زيوت غير قابلة للجفاف *Non drying oil* : ذات رقم يودي أقل من 100 .
 - زيوت نصف جافة *Semi drying oil* : ذات رقم يودي من 100-130 .
 - زيوت قابلة للجفاف *Drying oils* : ذات رقم يودي أعلى من 130 .
- ومن ناحية أخرى فإن قيمة الرقم اليودي تتوافق عادة مع متوسط عدد الروابط الزوجية *double bonds* في العينة المختبرة ، ولكنها لا تعطي فكرة عن توزيع هذه الروابط بين الأحماض الدهنية الموجودة بالعينة . ويمكن تلخيص إحدى طرق إجراء تقديرا للرقم اليودي (*AOAC* رقم 920.158) فيما يلي :
- زن من 0.1 إلى 0.5 جرام من العينة في دورق مخروطي بغطاء مصنفّر سعة 500 مل ، وأضف عليها 10 مل كلوروفورم أو رابع كلوريد الكربون ، ثم أضف 25 مل من محلول ويغ أو محلول هانس وإخلط محتويات الدورق برفق .
 - إقلل الدورق بالغطاء المصنفّر مع وضع كمية قليلة من يوديد البوتاسيوم 15% على الغطاء لعدم تسرب اليود ، ثم ضع الدورق في الظلام لمدة 30 ق .
 - أضف بعد ذلك 15 مل يوديد بوتاسيوم 15% + 50 مل ماء مقطر سبق غليانه ، ثم إخلط وعاير اليود المنفرد بواسطة محلول ثيوكبريتات الصوديوم 0.1 ع بسرعة مع تحريك الدورق حركة دائرية حتى يختفى اللون الأحمر (قرب نقطة التعادل) ، ثم أضف بعد ذلك 1 مل من دليل النشا (1%) فيتكون لون أزرق .

- أكمل المعايرة إلى أن يختفى اللون الأزرق .
- أجرى نفس الخطوات السابقة كتجربة بلانك بدون العينة تحت نفس الظروف .
- احسب الرقم اليودى من المعادلة الآتية :

$$\text{الرقم اليودى} = \frac{100 \times 126.9 \times \text{ع} \times (\text{ح} - \text{ح}_1)}{1000 \times \text{وزن العينة}}$$

حيث أن :

- ح = حجم الثيوكبريتات بالمليتر التى إستهلكت فى البلاك .
- ح₁ = حجم الثيوكبريتات بالمليتر التى إستهلكت فى التجربة.
- ع = عيارية الثيوكبريتات

ب- التحليل الكروماتوجرافى للأحماض الدهنية *Chromatographic analysis* :

تستخدم أجهزة التحليل الكروماتوجرافى *Gas chromatography* فى تقدير تركيب الزيوت والدهون من الأحماض الدهنية سواء المشبعة أو غير المشبعة بعد إجراء ميثلة *methylation* لعينة الزيت أو الدهن ، وسوف نتكلم عن طرق التحليل الكروماتوجرافى فيما بعد .

* الطرق الكيميائية لتقدير الأكسدة الأولية وبداية عمليات التزنخ الأسيدي :

Chemical methods for primary oxidation & the beginning of oxidative rancidity process:

* رقم البيروكسيد *Peroxide value* : وهو عبارة عن " عدد ملليمكافلات البيروكسيد الموجودة فى 1 كجم زيت أو دهن " . ويستخدم فى تقدير درجة التزنخ الأسيدي للزيوت والدهون حيث أن تكوين الهيدروبيروكسيدات فى المراحل الأولى يعطى فكرة عن درجة صلاحية الزيوت للإستهلاك الآمنى . والهيدروبيروكسيدات عديمة الطعم واللون ولكنها تتحلل بسرعة لتعطى ألدهيدات ذات رائحة ونكهة قوية وكريهة . وترتبط قيمة البيروكسيد إلى حد ما بالنكهة المنبعثة من الأدهيدات ونواتج الأكسدة الأخرى . ولايعتمد عليه بصورة قاطعة فى الحكم على درجة تزنخ الزيوت والدهون حيث يحدث له تكسير مما يعطى نتائج غير دقيقة عند ربط قيم البيروكسيد بالصفات الحسية للزيوت ودرجات التزنخ . ويمكن إيجاز طريقة إجراء هذا الإختبار *AOAC* رقم 965.33 فيما يلى :

- زن 2-5 جرام من العينة فى ورق بغطاء مصنفر .

- أضف 20 مل من مخلوط المذيبات (حامض خليك تلجى : كلوروفورم بنسبة 2 : 1 ح/ح) + 0.5 مل يوديد بوتاسيوم مشبع ، ثم غطى الدورق ورج لمدة 1 ق.
- أضف 50 مل ماء مقطر لإيقاف التفاعل وإفراغ اليود .
- عاير اليود المنفرد بواسطة ثيوكبريتات الصوديوم 0.01 ع فى وجود دليل النشا حتى تمام التبادل (إختفاء اللون الأزرق لنتاج تفاعل النشا مع آثار اليود) .
- إحسب رقم البيروكسيد من المعادلة الآتية :

$$\text{رقم البيروكسيد (ملليمكافى/كجم زيت أو دهن)} = \frac{\text{ح} \times \text{ع} \times 1000}{\text{وزن العينة}}$$

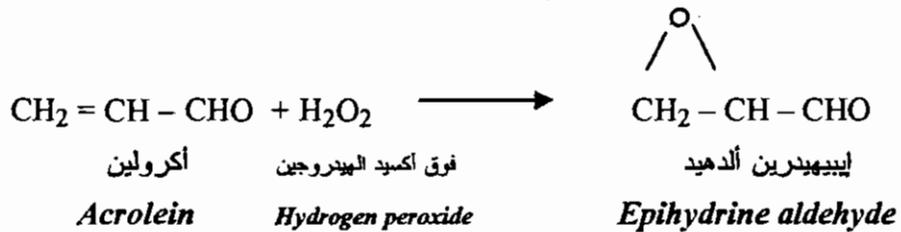
حيث أن : ح = حجم ثيوكبريتات الصوديوم بالملييلتر
ع = عيارية ثيوكبريتات الصوديوم

ملحوظة : يجب إجراء تجربة بلانك للتأكد من نقاوة المذيبات المستخدمة .

• الطرق الكيميائية لتقدير الأوكسدة النهائية :

Chemical methods for secondary oxidation:

1- **إختبار كرايس Kreis test** : من المعروف أن ترنخ الزيوت والدهون ينتج عنه تكوين بيروكسيدات وهيدروبيروكسيدات والتي ينتج عنها مركبات معقدة نتيجة تفاعلها مع المواد القطبية الموجودة فى الغذاء (أثناء القلى) وينتج عنها ألدهيدات وكيتونات وبعض الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة . وإختبار كرايس هو إختبار لوني يعتمد أساسا على تفاعل الفلوروجلوسينول *phloroglucinol* مع المواد الكربونيلية المتطايرة *volatile carbonyls* وخاصة الإبيهدرين ألدهيد *epihydrine aldehyde* . وقد أمكن تحضير مادة الإبيهدرين معمليا من تفاعل الأكرولين مع فوق أكسيد الهيدروجين كما هو موضح فى المعادلة التالية :



وبإضافة الفلوروجلوسينول في وجود حامض الهيدروكلوريك يتولد لون أحمر ناتج من أكسدة الفلوروجلوسينول بالأكسجين الموجود في الأدهيد ويتكون مركب كوينويد *quinoid compound* . وينتج اللون غالبا من تكثيف وتجميع المركبات الكوينويدية مع بعضها أو مع الفلوروجلوسينول .

ويمكن إيجاز طريقة إجراء هذا الإختبار كما يلي :

- ضع 10 مل من عينة الزيت في أنبوبة إختبار + 10 مل من محلول الفلوروجلوسينول (0.1 % في الإيثر) + 5 مل حامض هيدروكلوريك (ث= 1.19)
- رج الأنبوبة جيدا لمدة 20 ثانية ، ثم أترك الأنبوبة لمدة 10ق حتى يتكون اللون .
- فإذا لم يتكون لون أحمر وردى في طبقة الحامض دل ذلك على أن العينة غير مترنخة ، أما إذا ظهر لون أحمر في طبقة الحامض يجرى تخفيف عينة الزيت بنسبة 1 : 10 ، 1 : 20 في البتروليم إثر ويعاد إجراء الإختبار مرة أخرى كما سبق : فإذا لم يظهر لون أحمر في التخفيفات المشار إليها دل ذلك على أن العينة في بداية مرحلة الأكسدة ووجود ترنخ بنسبة بسيطة لا يمكن تمييزه بالطعم أو الرائحة . أما إذا ظهر لون أحمر في التخفيف 1 : 10 دل ذلك على أن العينة في مرحلة ترنخ متقدم ويمكن تمييزه بالطعم والرائحة . في حين لو ظهر لون أحمر في التخفيف 1 : 20 دل ذلك على شدة ترنخ العينة (Hoffmann, 1986) .

2- إختبار حامض الثيوباريتيوريك (*Thiobarbituric acid (TBA)*) :

يستخدم هذا الإختبار كدلالة على حدوث الأكسدة النهائية للزيوت والدهون . ويعتمد على قياس المركبات الأدهيدية الناتجة من تكسير الهيدروبيروكسيدات منتجا الرائحة الغير مقبولة للمستهلك . ويعبر عنه بعدد ملليجرامات المالمونالدهيد / 1 كجم عينة .

والمالونالدهيد الناتج هو عبارة عن مشابه للمركب *epihydrine aldehyde* ، ويجرى هذا الإختبار على الأنسجة الدهنية (اللحوم والأسماك... إلخ) ، الزيوت السائلة والدهون ويمكن توضيح تلك الطريقة (*Tarladis et al*) كما يلي :

- زن 10 جرام من العينة وجنسها مع 50 مل ماء مقطر لمدة 2 ق .
- إنقل العينة بعد ذلك إلى دورق التقطير بواسطة 47.5 مل ماء مقطر .
- أضف 2.5 مل حامض هيدروكلوريك 4 ع لضبط الـ *pH* على 1.5 ، ثم أضف بعض نقط من السيليكون (كمادة مضادة للفران *antifoaming*) ، بعض كريات صغيرة من الزجاج *glass beads* لتنظيم عملية الغليان .
- قطر محتويات الدورق في جهاز التقطير الخاص (مكون من دورق التقطير ، مكثف مائي ، وحدة إستقبال نواتج التقطير) وجمع 50 مل من المتقطر في حوالى 10 ق من بداية وقت الغليان .
- إنقل 5 مل من المتقطر في أنبوبة إختبار نظيفة بغطاء ثم أضف 5 مل من محلول الـ *TBA* (0.2883 جرام /100 مل حامض خليك ثلجى) . غطي الأنبوبة وقلب لخلط المحتويات جيدا .
- ضع الأنبوبة بعد ذلك في حمام مائي لمدة 35 ق مع عمل تجربة بلانك تحت نفس الظروف . ثم برد الأنبوبة بالماء الجارى لمدة 10 ق .
- إضبط صفر الإمتصاص الضوئى على العينة البلانك .
- إقرأ الإمتصاص الضوئى للون المتكون على طول موجى 538 نانوميتر .
- يتم عمل منحنى قياسى *standard curve* من مادة 1،3،3،1 - رباعى إيثوكسى بروبان *1,1,3,3-tetra ethoxy propane* ، ويحسب ميل المنحنى وهو يعبر عن معامل التحويل ، ثم إحسب الـ *TBA value* من المعادلة الآتية :
- قيمة الـ *TBA* (مجم مالونالدهيد/كم عينة) - *O.D* x معامل التحويل (وهو عادة - 7.8)

3- قيمة الأسيدين *P-Ansidine value* : يعبر رقم الأسيدين عن كمية الأدهيدات التي تكونت في الزيت أثناء الأكسدة والتحلل (أثناء عمليات القلي) والتي تتمثل في *2-alkenals* ، *2,4-alkadienals* حيث تتفاعل تلك المركبات مع مركب الـ *P-anisidine* تحت الظروف الحامضية وتكون معقد وردى اللون يتناسب تركيزه طردياً مع كمية الأدهيدات ، وتقاس نواتج التفاعل لونياً على طول موجى 530 نانوميتر .

ويمكن إجراء هذا الإختبار فيما يلى طبقاً لطريقة (IUPAC, 1979) :

- زن 0.5 - 4 جم من عينة الزيت أو الدهن بدقة (حتى 0.001 حم) فى ورق معيارى سعة 25 مل .

- إذب العينة فى الأيزوأوكتان *iso-octane* وأكمل الحجم إلى 25 مل بالمذيب .
- ضع المحلول فى أنبوبة القياس (*Cuvette*) سعة 1 سم وسجل الإمتصاص الضوئى عند طول موجى 350 نانوميتر (E_b).

- جهز أنبوتى إختبار وضع فى الأنبوبة الأولى 5 مل من محلول الزيت (فى الأيزو أوكتان) ، ثم ضع فى الأنبوبة الثانية 5 مل من المذيب (أيزو أوكتان). ثم أضف على كل أنبوبة 5 مل من *p-anisidine* (0.25 % فى حامض الخليك الثلجى) ثم غطى الأنبيب .

- أترك الأنبيب لمدة 10 ق ثم إقرأ الإمتصاص كما سبق عند طول موجى 350 نانوميتر ، مع ضبط صفر قراءة الإمتصاص على الأنبوبة الثانية (5 مل أيزوأوكتان + 5 مل *p-anisidine*) ثم إحسب قيمة الأسيدين من المعادلة الآتية :

$$\text{قيمة الأسيدين} = \frac{[(E_b - E_a) 1.2] 25}{P}$$

حيث أن :

E_a = الإمتصاص الضوئى لمحلول الدهن + الأسيدين

E_b = الإمتصاص الضوئى لمحلول الدهن

P = وزن العينة بالجرام

4- قيمة الأوكسدة الكلية (*Total Oxidation Value (Totox value)*) :

من المعروف أن رقم البيروكسيد يقيس تركيز الهيدروبيروكسيدات أثناء أكسدة الزيوت والدهون (حيث يزداد ثم يقل بعد ذلك) ، أما قيمة الأنسدين فهي تعبر عن مقدار الأدهيدات والتي تزداد باستمرار نتيجة التكسير المستمر للهيدروبيروكسيدات ، وعليه فإن رقم الأوكسدة الكلية (*Totox value*) فهو يعبر عن قيمة الأوكسدة الكلية للزيوت أو الدهون حيث أنه يزداد بصورة مستمرة خلال مراحل الأوكسدة المختلفة . ويعرف بأنه عبارة عن ضعف رقم البيروكسيد مضافا إليه قيمة الأنسدين .

$$\text{Totox Value} = 2 \text{ peroxide value} + p\text{-ansidine}$$

5- المركبات القطبية *Polar compounds* :

يعتبر تقدير النسبة المئوية للمركبات القطبية في زيوت القلى من أكثر الطرق المقبولة عالميا لتقدير جودة زيوت القلى . وتشمل تلك المركبات الناتجة من تدهور زيوت القلى على جلسريدات أحادية *monoglycerides* ، جلسريدات ثنائية *diglycerides* ، أحماض دهنية حرة *Free fatty acids* ومركبات أخرى متكونة خلال عمليات قلى المواد الغذائية . ويمكن فصل تلك المركبات القطبية عن المركبات الغير قطبية باستخدام العمود الكروماتوجرافى طبقا لطريقة (*AOAC* برقم 982.27) كما يلي :

- جهز العمود الكروماتوجرافى كما سيأتى فيما بعد ، وضع به 25 جم من السليكا جيل 60 ذات حجم جزيئات 0.00-0.063 مم (70-230 مش) ومنشطة على درجة حرارة 160°م لمدة 4 ساعات ، ثم أضبط درجة رطوبتها على 5% .

- إملأ العمود بالسليكا جيل باستخدام مخلوط من المذيبات (بتروليم إيثر + الإيثير ثنائى الإيثيل بنسبة 13:87) ، مع مراعاة عدم جفاف سطح العمود . أضف على سطح السليكا جيل حوالى 4 جم من الرمل النظيف (المغسول بالحامض) لتوزيع العينة على سطح السليكا جيل بانتظام .

- أذب 2.5 جم \pm 0.001 جم من العينة بدقة فى 20 مل من مخلوط المذيبات ، ثم إنقلها إلى ورق معيارى سعة 50 مل وأكمل الحجم إلى العلامة .

- إنقل 20 مل من محلول العينة (الزيت) إلى العمود برفق باستخدام ماصة مدرجة .

- ضع فى قمع فصل 150 مل من مخلوط المذيبات ، ثم ضع قمع الفصل على فوهة العمود وإفتح الصنبور السفلى للعمود وكذلك صنبور قمع الفصل لفصل المركبات غير القطبية *nonpolar compounds* بحيث يتم الفصل خلال 60 - 70 ق وجمع فى دورق سعة 250 مل.

- بخر المذيب من العينة المفصولة من العمود باستخدام جهاز تبخير المذيبات وسجل وزن المركبات غير القطبية بالجرام .

- إحسب النسبة المئوية للمركبات القطبية كما يلى :

$$\% \text{ للمركبات القطبية} = \frac{100 \times (ب - أ)}{ا}$$

حيث أ = وزن العينة فى الـ 20 مل (1 جم) .

ب = وزن المركبات غير القطبية بالجرام .

4.2.3.7. تقدير المواد الغير قابلة للتصين :

Determination of unsaponifiable matter:

وهى عبارة عن مواد توجد فى الزيوت والدهون بنسب مختلفة حسب نوع الزيت أو الدهن مثل الإستيروولات *sterols* ، والهيدروكربونات *hydrocarbons* ، الكحولات الأليفاتية *aliphatic alcohols* والكاروتينات *carotens* إلخ . ويمكن فصل وتقدير تلك المواد كما يلى (طريقة AOAC رقم 933.08) :

- زن 5 جرام من عينة الزيت أو الدهن فى دورق مخروطى سعة 250 مل.
- أضف 25 مل بوتاسا كاوية كحولية *KOH* 0.5 ع ، ثم ركب المكثف الهوائى العاكس وإجرى عملية التصين فى حمام مائى يغلى لمدة ساعة أو حتى تمام التصين
- برد الدورق بعد ذلك وإنقل محتويات الدورق إلى قمع فصل مع غسيل الدورق بـ 50 مل الإيثير ثنائى الإيثيل ويوضع كل من ماء الغسيل والإيثير فى قمع الفصل .
- غطى قمع الفصل ورج بشدة ثم أترك القمع فترة من الزمن حتى يتم الفصل إلى طبقتين .
- تفصل الطبقة المائية الكحولية وتنقل طبقة الإيثير فى قمع فصل آخر ، ثم إغسل الطبقة المائية الكحولية مرتين بالإيثير 50 مل فى كل مرة ، ثم أضف ناتج الغسيل

- الإيثيرى إلى قمع الفصل الثانى المحتوى على طبقة الإيثير الأولى ، ثم أضف 20 مل من الماء المقطر على محتويات قمع الفصل .
- رج محتويات القمع جيدا وإتركه حتى تمام الفصل ، ثم إفصل طبقة الماء .
- إغسل طبقة الإيثير بمحلول قلوئى مخفف (0.1 KOH ع) مرتين مستخدما 25 مل فى كل مرة ، ثم إغسل طبقة الإيثير بالماء لإزالة القلوئى والصابون المتكون حتى لايعطى ماء الغسيل لون أحمر أو وردى مع دليل الفينولفتالين .
- إفصل طبقة الإيثير فى دورق معلوم الوزن ، ثم بخز المحلول على $100 - 105^\circ\text{C}$ حتى ثبات الوزن .
- إحسب النسبة المئوية للمواد الغير قابلة للتصين كما يلى :

$$\% \text{ للمواد الغير متصينة} = \frac{19}{29} \times 100 \text{ ، حيث أن :}$$

$$1^9 = \text{وزن الراسب بالجرام} \text{ ، } 2^9 = \text{وزن العينة بالجرام}$$

5.2.3.7. تقدير الفوسفوليبيدات *Determination of phospholipids* :

- من المعروف أن الفوسفوليبيدات عبارة عن كحولات عديدة متحدة برابطة إستيرية مع أحماض دهنية وحمض فوسفوريك والذى يتحد بدوره مع قاعدة نيتروجينية . وتستخدم تلك المواد مواد مستحلبة فى كثير من الصناعات خاصة الغذائية ، ومن أمثلتها مركبات الليثين ، السيفالين ، والإسفنجومايلين وغيرها . ويمكن تقدير الفوسفوليبيدات الكلية طبقا لطريقة (Hanahan et al, 1960) كما يلى :
- زن وزنة دقيقة من العينة (زيت أو دهن) وضعها فى جفنة صينيى تحتوى على كمية معينة من حامض السيليسيك *silicic* فى صورة بودر وتدهك العينة جيدا مع حامض السيليسيك حتى تمام التجانس وزيادة مساحة سطح الإستخلاص .
- تفصل بعد ذلك عدة مرات بالكوروفورم ثم ترشح لفصل الشق غير القطبى .
- إغسل حامض السيليسيك وما عليه من مواد مدمصة بواسطة كحول الميثانول لفصل الشق القطبى وهو المحتوى على الفوسفوليبيدات .
- بخز كحول الميثانول فى دورق معلوم الوزن فى فرن على درجة حرارة $100 - 150^\circ\text{C}$ حتى تمام ثبات الوزن .

- إحصاء النسبة المئوية للفوسفوليبيدات كما يلي :

$$\% \text{ للفوسفوليبيدات} = 100 \times \frac{1^2}{2^2}$$

حيث أن : $1^2 = \text{وزن الراسب}$ ، $2^2 = \text{وزن العينة بالجرام}$

وفيما يلي جدول يبين بعض الخواص الطبيعية والكيميائية لبعض الزيوت النباتية الشائعة الإستخدام (جدول 4.7).

جدول (4.7) بعض الخواص الطبيعية والكيميائية لبعض الزيوت الغذائية الشائعة

المواد غير الذائبة للتصنيف	رقم البيروكسيد*	رقم التصبن	الرقم اليودي	الموصوفة مقدرة كحمض لوانيك	الرطوبة (%)	معدل الإكسلاز م ²⁰	الوزن الوعى م ²⁰ /م ²⁰	الثابت الزيت
لا تزيد عن 1 %	لا يزيد عن 20	من 190 إلى 198	من 102 إلى 113	لا تزيد عن 0.2 %	لا تزيد عن 0.2	من 1.4717 إلى 1.4727	من 0.9156 إلى 0.9300	زيت بذرة الفلن
لا تزيد عن 2.8 %	لا يزيد عن 20	من 188 إلى 195	من 110 إلى 130	لا تزيد عن 0.1 %	لا تزيد عن 0.2	من 1.4720 إلى 1.4750	من 0.9180 إلى 0.9255	زيت الذرة
لا تزيد عن 1 %	لا يزيد عن 25	من 188 إلى 194	من 125 إلى 136	لا تزيد عن 0.2 %	لا تزيد عن 0.2	من 1.4740 إلى 1.4760	من 0.922 إلى 0.9250	زيت عباد الشمس
لا تزيد عن 1.5 %	لا يزيد عن 25	من 189 إلى 195	من 125 إلى 140	لا تزيد عن 0.2 %	لا تزيد عن 0.2	من 1.4730 إلى 1.4770	لا يقل عن 0.920	زيت فول الصويا
لا تزيد عن 1.5 %	لا يزيد عن 10	من 190 إلى 195	من 75 إلى 90	من 1.4 إلى 3 %	لا تزيد عن 0.3	من 1.4730 إلى 1.4740	من 0.9100 إلى 0.9150	زيت الزيتون
لا تزيد عن 1.5 %	لا يزيد عن 20	من 188 إلى 195	من 103 إلى 115	لا تزيد عن 0.2 %	لا تزيد عن 0.3	من 1.4730 إلى 1.4740	من 0.9150 إلى 0.9260	زيت المشمم
لا تزيد عن 1.5 %	لا يزيد عن 35	من 187 إلى 195	من 170 إلى 200	لا تزيد عن 2.8 %	لا تزيد عن 0.3	من 1.4800 إلى 1.4830	من 0.9250 إلى 0.9350	زيت الكتان
لا تزيد عن 1 %	لا يزيد عن 10	من 188 إلى 196	من 83 إلى 95	لا تزيد عن 0.2 %	لا تزيد عن 0.2	من 1.4700 إلى 1.4720	من 0.9120 إلى 0.9150	زيت الفول المودقى

* المصدر : تم تجميعه من مصادر مختلفة بواسطة المؤلف .

6.2.3.7. التحليل الكروماتوجرافي للزيوت والدهون

Chromatographic Analysis of Fats and Oils

من المعروف أن مستخلص الليبيدات عبارة عن مخلوط معقد التركيب ، وبالتالي فإن عملية التحليل الكامل لهذه المكونات سواء بالطرق الوصفية أو الكمية تعتبر من العمليات الصعبة وبالتالي فإنها تحتاج إلى طرق أخرى لفصل مكوناتها في صورة نقية ، وتعتبر الطرق الكروماتوجرافية من أهم الطرق التي يمكن عن طريقها فصل الشقوق المختلفة لليبيدات في صورة نقية.

ويفضل دائما أن تكون أول خطوة في فصل الليبيدات كروماتوجرافيا هو فصلها إلى شقوقها المختلفة حسب درجة قطبيتها . وسوف نتكلم بشئ من التفصيل عن الطرق الكروماتوجرافية المختلفة في فصل شقوق الليبيدات المختلفة فيما يلي :

1- فصل الشقوق الرئيسية لليبيدات باستخدام كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة:

Separation of calss lipids by thin layer chromatography:

تعتمد هذه الطريقة على درجة إدمصاص *adsorption* المشتقات الليبيدية المختلفة على الوسط الصلب وهو يمثل الوسط الثابت *stationary phase* ويتم الإدمصاص عن طريق الروابط الهيدروجينية أو روابط فان درفالس أو الروابط الأيونية ، وتعتمد كذلك على درجة نوبان مشتقات الليبيدات في مخاليط المذيبات العضوية المستخدمة في عملية الفصل . ويطلق على هذه الطريقة طريقة الـ *Chromoplate* . وقد تجرى هذه الطريقة باستخدام ألواح زجاجية مقاس 20 x 20 سم تفرد عليها طبقة رقيقة من السليكا جيل الخاصة بالفصل على الألواح الزجاجية ، وفي الوقت الحاضر يمكن الحصول على ألواح من السليكا جيل جاهزة الفرد *precoated plates* وهذه الألواح قد تكون من الزجاج أو من رقائق الألومنيوم . ويمكن إيجاز خطوات الفصل بهذه الطريقة في الخطوات التالية:

* **تجهيز الألواح الزجاجية:** يستخدم في هذه الطريقة ألواح زجاجية مقاس 20 x 20 سم ، وقبل أن نضع مادة الإدمصاص (السليكا جيل) على الألواح الزجاجية يجب أولا تنظيف الألواح جيدا بواسطة الماء والصابون ، ثم تشطف بالماء المقطر عدة مرات وبعد ذلك تغسل بالمذيبات العضوية لإزالة أى دهون عالقة بها ، ثم تجفف وتكون جاهزة لوضع (أو فرد) مادة الإدمصاص عليها .

• زن 5 - 10 جرام من السليكا جيل ونشطها على درجة حرارة 105°م لمدة ساعة
ثم ضعها في دورق ذو قاع دائري وأضف عليها من 12.5 - 25 مل ماء مقطر
(تضاف كمية من الماء على السليكا جيل تساوي مرتين ونصف قدر وزن السليكا جيل) ،
ثم قلب المعلق جيدا وضعه على اللوح الزجاجي وإفرده برفق على اللوح في صورة طبقة
رقيقة سمكها حوالي 0.25 مم تقريبا ويفضل عادة فردها بجهاز الفرد *applicator*
لضمان تساوى سمك الطبقة الرقيقة .

• نشط اللوح بعد ذلك في فرن على درجة حرارة 105°م لمدة ساعة .

• ضع عدة نقط من عينة الزيت أو الدهن في كمية صغيرة من المذيب في كأس
صغير وأنبها جيدا ، ثم نقط العينة بواسطة أنبوبة شعرية دقيقة أو بماصة
ميكرومترية *micropipette* (حيث توضع العينة نقطة نقطة أو في صورة خط
وتجفف أولا بأول في وجود مجفف هوائي لتجفيف المذيب) على خط البداية *start*
line والذي يبعد حوالي 1 - 2 سم من قاعدة اللوح الزجاجي. ثم ضع اللوح بعد
ذلك في وعاء زجاجي *glass jar* (حيث يوضع نظام المذيبات المراد إستخدامها
في عملية الفصل في الـ *jar* ويغطى جيدا حتى لا يتغير تركيب مخلوط المذيبات
قبل وضع اللوح فيه أو قد توضع ورقة ترشيح كبيرة داخل الـ *jar* حول الجوانب
الداخلية لتثبيح جو الـ *jar* بالمذيب) . يجب الاتفهم العينة في المذيب الموجود
بالـ *jar* حتى لا تنوب العينة فيه أى يلزم أن يكون أعلى سطح المذيب تحت
مستوى العينة بحوالي 0.5 إلى 1 سم.

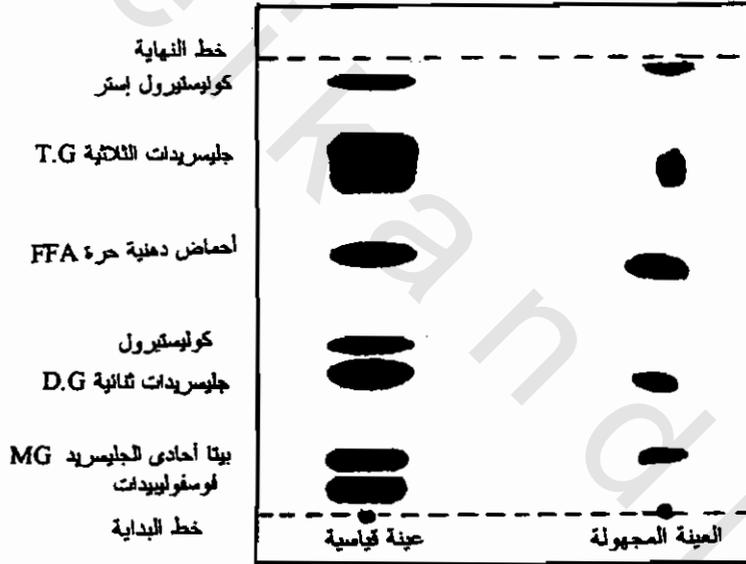
• بعد ذلك لاحظ صعود المذيب في اللوح حاملا معه الشقوق المفصولة ، وقبل أن
يصل مستوى المذيب إلى نهاية اللوح بمسافة 2 سم ، إخرج اللوح من الـ *jar*
وإتركه في الهواء حتى يتبخر المذيب منه .

• إجرى بعد ذلك عملية إظهار للمركبات المفصولة بإحدى الطرق الآتية:

- رش اللوح بواسطة حامض الكبريتيك المركز ثم ضعه في الفرن حتى تظهر
الشقوق المفصولة .

- أو يمكن إستخدام اليود الصلب ، حيث يوضع كمية من اليود الصلب في الـ *jar*
ويوضع اللوح بعد ذلك فيتسامى اليود على اللوح وتظهر الشقوق المختلفة .

- أو يمكن استخدام 2، 7 - داي كلوروفلوريسين *2,7-dichlorofloroscin* برشه على اللوح ثم إجراء عملية الإظهار تحت الأشعة فوق البنفسجية .
 • بعد عملية الإظهار يمكن التعرف على الشقوق المختلفة المنفصلة عن طريق الـ R_f والتي تعبر عن المسافة التي تحركها المركب منسوبة للمسافة التي تحركها المذيب ، ومن جداول خاصة يمكن التعرف على الشقوق المختلفة . ويمكن التعرف على الشقوق المنفصلة عن طريق مركبات قياسية معروفة توضع بجانب العينة على اللوح . ويوضح الشكل التالي طريقة تجهيز العينة وفصل المكونات المختلفة .



شكل (2.7) : فصل الشقوق الرئيسية للبيدات باستخدام كروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة TLC (باستخدام مخلوط مذيبات مكون من ميثان + إثير ثنائي الإيثيل + حامض فورميك بنسبة 2:20:80).

ومن مميزات هذه الطريقة ، سهولة اختيار مادة الإحصاص حسب نوع المادة المراد فصلها وسهولة فصل المواد القطبية والمنتطايرة .

2- استخدام العمود الكروماتوجرافي في فصل الليبيدات :

Separation of lipids by column chromatography :

يعتمد الفصل بالعمود الكروماتوجرافي على توزيع *distribution* أو إدمصاص المركبات المفصولة بين الوسط الصلب *stationary phase* والوسط السائل *mobile phase* . ويتم الفصل هنا على أساس درجة القطبية وقوة الوسط المتحرك *mobile phase* . والوسط الثابت عادة هو السليكا جيل *silica gel* أو الألومينا *alumina* أو الفلوريسيل *Folrisil* (سليكات المغنيسيوم) ... إلخ. كما تعتمد عملية الفصل أيضا على قطر حبيبات مادة الإمصااص وطريقة تهيئتها *conditioning* وطول عمود الفصل. ويمكن باستخدام مذيبات متدرجة القطبية فصل الشقوق المختلفة بسهولة على النحو التالي : هيدروكربونات مشبعة - إسترات الشموع - إستيريل إستر - ألدهيدات طويلة السلسلة - تراى جليسيريد - كحولات طويلة السلسلة - أحماض دهنية حرة - كوينونات - إستيروولات - داى جليسيريد - مونو جليسيريد - سيربروزيد *cerbroside* - جليكوزيل داى جليسيريد - والسلفوليبيدات - الفوسفوليبيدات . ونظام المذيبات المستخدمة في الفصل هو : الكلوروفورم - أسيتون - ميثانول لفصل الليبيدات المتعادلة ، ثم الجليكوليبيدات ، وتليها الفوسفوليبيدات على التوالي .

وتعتبر السليكا جيل أكثر المواد إستخداما كمادة إدمصاص *adsorbant* وتباع عادة بعدة صور وتختلف كل صورة عن الأخرى في :

1- حجم الجزيئات : حيث أنه كلما كان حجم الجزيئات صغير ، كانت مساحة السطح أكبر والفصل أحسن أما إذا كان حجم الحبيبات صغيرة جدا فإن معدل السريان يكون بطيئا وبالتالي تكون مدة الفصل أطول. وأنسب حجم لحبيبات السليكا جيل هو *mesh-200* .

2- درجة إمتصاص الماء أو التميؤ *degree of hydration* :

- إذا كانت نسبة الماء قليلة في السليكا جيل فإن الليبيدات ترتبط بقوة أكبر مع السليكا بقوة ولا يمكن إزاحتها بسهولة أثناء الفصل (وتحدث *tailing* أى يرتبط جزء منها بالعمود ولا تخرج نفعة واحدة).

- أما إذا ما إحتوت السليكا على نسبة مرتفعة من الرطوبة فإن الليبيدات لا تدمص على السليكا وتصبح عملية الفصل صعبة وتتداخل الشقوق مع بعضها البعض لضعف كفاءة الفصل .
- ولتحقيق فصل جيد لشقوق الليبيدات فإنه يجب أن تحتوى السليكا على رطوبة فى حدود 5 % وذلك لضبط درجة القطبية على سطح السليكا جيل بحيث تصبح مناسبة لعملية الفصل .
- ويوضح الشكل رقم (3.7) العمود الكروماتوجرافى .



عمود كروماتوجرافى

شكل (3.7) : الفصل بالعمود الكروماتوجرافى

• طريقة تجهيز العمود *Preparation of column* :

- زن 30 مجم زيت أو دهن لكل جرام من السليكا (وعادة يوزن حوالى 30 جرام من السليكا)
- نشط السليكا جيل فى فرن على درجة حرارة 105°م لمدة ساعة .
- إملأ العمود بالسليكا جيل بإحدى الطرق التالية :
- الطريقة الجافة ، حيث توضع السليكا جيل فى العمود مع هز العمود فى وضع رأسى حتى يتم ترتيب الجزيئات فى صورة طبقات رقيقة ، ثم أضف عليها المذيب .

• الطريقة الرطبة ، حيث يحضر خليط من السليكا والمذيب فى صورة معلق (*slurry*) ثم إنقل الخليط إلى العمود مع الطرق عليه بالأصابع حتى لا تتكون تشققات .

- ويلاحظ ضرورة عدم ترك عمود السليكا يجف لأن الجفاف يؤدي لتكوين تشققات فى عمود السليكا جيل تؤدي بدورها إلى ضعف كفاءة الفصل .

- أنب العينة فى المذيب المناسب ثم ضعها على سطح العمود برفق بحيث يتم توزيعها بالتساوى على السطح الدائرى .

- ضع حوالى 150 مل من المذيب فى قمع فصل فوق فوهة العمود .

- أضبط معدل نزول المذيب من قمع الفصل والعمود بمعدل 1 - 3 مل /ق

- بعد عملية التقطيط (أى خروج المذيب المحمل بالشق المطلوب) *elution* يجمع المتقطر ويبخر ويتم وزنه وحساب نسبته المئوية .

وتتميز طريقة الفصل بالعمود عن طريقة الفصل بالطبقة الرقيقة بأنه يحمى

الليبيدات ضد الأكسدة ، كما يمكن به فصل كميات كبيرة من الليبيدات .

• فصل مخلوط الليبيدات إلى شقوقه المختلفة باستخدام العمود الكروماتوجرافى:

Separation of lipids by column chromatography:

يتم فصل شقوق الليبيدات باستخدام عمود من السليكا جيل بعد تجهيزه كما سبق ، حيث يوزن 30 مجم من العينة/جم من السليكا جيل ويستخدم فى عملية الفصل نظام المذيبات التالية :

- الكلوروفورم أو الإيثير ثنائى الإيثيل : لفصل الليبيدات البسيطة .

- البنزين : لفصل الجليسيريدات الثلاثية .

- الميثانول : لفصل الليبيدات المعقدة والجليسيريدات الأحادية والثنائية والمركبات ذات القطبية العالية.

- الأستون : لفصل الجليكوليبيدات .

3- تقدير الأحماض الدهنية باستخدام كروماتوجرافيا الغاز :

Determination of fatty acids by Gas Chromatography (GC):

يعتبر التحليل الكروماتوجرافى الغازى هو أحد أنواع الطرق الكروماتوجرافية

المستخدمة فى التحليل الكيمى ، ويكون الوسط المتحرك فى هذه الطريقة *mobile*

phase على صورة غاز أما الوسط الثابت *stationary phase* فقد يكون سائلا (فيسمى النظام *gas liquid chromatography*) أو يكون صلبا (فيسمى النظام *gas solid chromatography*). ويلاحظ أن الفصل في الحالة الأولى يعتمد على اختلاف شقوق الليبيدات ومعامل توزيعها *distribution coefficient* بين الوسط المتحرك والوسط الثابت ، بينما في الحالة الثانية فإن الفصل يعتمد على إدمصاص *adsorption* شقوق الليبيدات على الوسط الصلب ثم تحريكها بالوسط المتحرك بحيث يخرج أولا الشق الأقل ارتباطا فالأكثر ... وهكذا.

ومما هو جدير بالذكر أنه لا بد وأن تكون المادة المراد فصلها (الأحماض الدهنية) في صورة متطايرة (لذلك يتم تحويلها إلى ميثيل إستر بعملية *methylation*). ويلاحظ أن سلوك المواد بين الوسط الثابت والوسط المتحرك يعتمد على عدة عوامل :

- معامل التوزيع *Distribution coefficient*
- تركيز المادة والتركيب البنائي لها *Concentration and structure* .
- زمن الفصل *Time of separation* .
- نوع مادة الوسط المتحرك والوسط الثابت

• طريقة التقدير :

- إجراء عملية أسترة (ميثلة) للأحماض الدهنية في عينة الزيت أو الدهن المراد معرفة أحماضها الدهنية . وتجرى عملية الأسترة بعدة طرق ، نذكر منها على سبيل المثال لا الحصر مايلي :

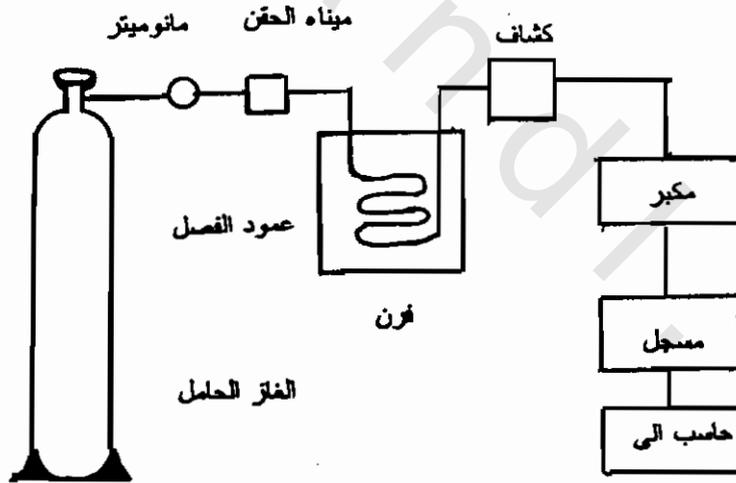
- 1- طريقة الأسترة بواسطة الصوديوم ميثوكسيد *sodium methoxide* .
- 2- إستخدام البورون تراى فلوريد *borone triflouride* .
- 3- إستخدام الدايازوميثان *diazomethane* .

وسوف نقوم بشرح أحد هذه الطرق والسهلة في الإجراء ألا وهي طريقة البورون تراى فلوريد كما يلي :

أ- ضع حوالي من 7 - 10 نقط من الزيت أو الدهن المسال في أنبوبة إختبار كبيرة ، ثم أضف عليها 5 مل من *KOH* 0.5 ع كحولية ، ثم ضع كمية بسيطة من الحجر الخفاف لتنظيم الغليان ، ثم غطي الأنبوبة بقمع مخروطي به كرة من

الزجاج ، إجراء عملية تصبىن لمدة 5 ق أضف بعد ذلك 5 مل من محلول البورون
 تراى فلوريد 15 % فى الميثانول وأكمل التسخين لمدة 2 ق .
 ب- برد الأنبوبة على درجة حرارة الغرفة ثم أضف حوالى 10 مل ماء مقطر (لاحظ
 أن المخلوط أصبح لونه أبيضاً مثل اللبن) ، ثم أضف حوالى 5 مل من الهكسان
 ورج الأنبوبة جيداً وإتركها فترة من الزمن حتى تتفصل طبقة الهكسان عن الطبقة
 المائية ، إفصل طبقة الهكسان وضعها فى أنبوبة نظيفة ، كرر عملية الغسيل
 بالهكسان لإستخلاص أكبر كمية من الإستر .
 ج- ركز مستخلص الهكسان (الإستر) فى جهاز تبخير المذيبات تحت تفريغ، وبذلك
 تكون العينة قابلة للحقن فى الجهاز .

ويوضح الشكل رقم (4.7) الأجزاء المختلفة لجهاز التحليل الكروماتوجرافى
 الغازى *Gas chromatography* .



شكل (4.7): رسم تخطيطى لجهاز الفصل الكروماتوجرافى الغازى GLC

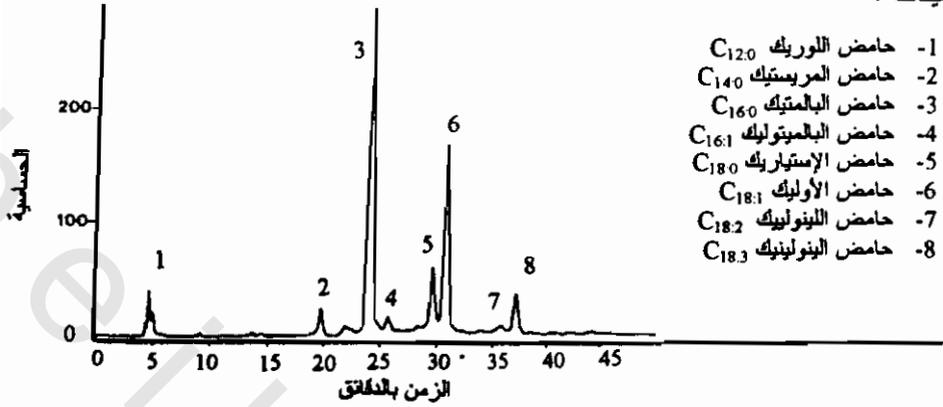
ويمكن توضيح أهمية الأجزاء المختلفة للجهاز فيما يلي :

- **الغاز الحامل Carrier gas** : ويكون معبأ في إسطوانات مركب عليها منظمات خاصة لضبط ضغط الغاز ويعمل الغاز الحامل على حمل العينة المراد فصلها (الإستر) إلى العمود المعبأ بمادة الإدمصاص (الوسط الثابت) بعد حقن العينة في مكان الحقن **injection port** .

- **عمود الفصل Column** : يعبأ عمود الفصل بمادة الإدمصاص ، وقد يكون من المعدن :الصلب غير القابل للصدأ *stainless steel* أو الزجاج ويصل طوله في بعض الأحيان إلى عدة أمتار ، وقد يكون في شكل دائري أو لولبي أو على هيئة أنبوبة شعيرية *capillary* طويلة . ويوضع هذا العمود داخل فرن الجهاز حيث يتم فصل المكونات المراد تحليلها تحت الظروف المناسبة من درجة الحرارة . ويتم فصل الأحماض الدهنية داخل العمود على أساس وزنها الجزيئي ، حيث يحدث تنافس بين الأحماض الدهنية المميثلة على الخروج من العمود فتخرج الأحماض الدهنية الأقصر في طول السلسلة ثم مثيلتها غير المشبعة ، فالأطول في طول السلسلة ثم مثيلتها غير المشبعة ، وهكذا ويعني ذلك أن العامل المحدد الأول لخروج الأحماض الدهنية هو طول السلسلة ثم درجة عدم تشبعها .

- **الكشاف Detector** : بعد خروج الأحماض الدهنية المفصولة من العمود تتقل إلى الكشاف *detector* بواسطة الغاز الحامل ، وهناك أنواع عديدة من الكشافات مثل الـ *argon B- detector* ، *Electron capture detector* ، *refractive index detector* ، *UV detector* ، إلا أن أكثرها إستخداما في مجال الزيوت عادة ما يكون الكشاف من نوع *flame ionization detector* ، والذي تعتمد نظرية عمله على حرق المواد الخارجة من العمود ويحولها إلى أيونات والتي يتم تكبير الإشارة الدالة عليها بواسطة المكبر *amplifire* الذي يعمل على ترجمتها وتحويلها إلى نبضات كهربائية يتم رسمها وتسجيلها على المسجل *recorder* في صورة منحنيات (قمم) *peaks* ، وكل قمة من القمم تمثل مركب معين تأخذ شكل مثلث ، حيث يزداد إرتفاع المثلث بزيادة تركيز المركب المفصول حتى يصل إلى مداه بعدها يقل حتى يعود إلى القاعدة مرة أخرى.

ويوضح الشكل التالي (5.7) شكل لکروماتوجرام ناتج من تحليل الأحماض الدهنية لأحد العينات .



شكل (5.7) : كروماتوجرام ناتج من تحليل الأحماض الدهنية لعينة زيت نباتي باستخدام جهاز الـ GLC

- وتحسب النتائج عن طريق تقدير زمن الخروج *retention time* لأحماض دهنية قياسية بعد حقنها تحت نفس ظروف التحليل التي تخضع لها العينات ومقارنة زمن خروج كل حامض بما يصادفه من الحامض القياسي ، وقد زودت الأجهزة الحديثة بكمبيوتر لحساب النسبة المئوية للأحماض الدهنية المفصولة مباشرة بدلا من طريقة الحساب القديمة التي كانت تعتمد على حساب النسبة المئوية للأحماض الدهنية بحساب مساحة كل حامض (كل مثلث) على حدى كدلالة على تركيزه وتجمع المساحات ، ثم تقسم مساحة كل حامض على المساحة الكلية ثم يضرب الرقم الناتج في 100 فنحصل على النسبة المئوية لكل حامض وهكذا.

* العوامل التي تؤثر على عملية الفصل بالتحليل الكروماتوجرافي الغازي:

- 1- نوع الغاز
- 2- سرعة سريان الغاز
- 3- نوع المادة المفصولة
- 4- مادة الإنمصاص
- 5- طول العمود
- 6- نوع المسجل
- 7- برنامج درجات الحرارة
- 8- احتمالات تداخل بعض المركبات في حالة عدم التنقية الكاملة للعينات موضع التحليل
- 9- نوع الكشف
- 10- كفاءة القائم بالتحليل وقدرته على تعديل برنامج الفصل عند الضرورة .

• استخدامات كروماتوجرافيا الغاز :

- 1- تحديد أنواع الأحماض الدهنية ونسبتها في عينات المواد الغذائية .
- 2- تحديد أنواع الأحماض الأمينية في البروتين .
- 3- تحديد أنواع السكريات .
- 4- يستخدم حاليا في مجال مستحضرات التجميل .
- 5- يستخدم في مجال التصنيف الميكروبيولوجي والزيوت العطرية والمواد الطيارة
- 6- يعتبر طريقة وصفية كمية للتحليل الكيميائي .

4.7. الكشف عن دهن الخنزير في الأغذية

Detection of lard in foods

تنص تعاليم الشريعة الإسلامية الغراء على ضرورة خلو الأغذية من لحم الخنزير ومنتجاته . ونظرا لأن نسبة الدهن في لحم الخنزير مرتفع جدا حيث تصل إلى ضعف نسبة الدهن في اللحم البقري ، لذلك كان يستخدم دهن الخنزير في صناعة المسلي الصناعي *shortening* لما له من صفات جيدة في مثل هذه المنتجات . وقد تطورت صناعة الزيوت ودخلت الزيوت المهدرجة في صناعة المسلي الصناعي بدلا من دهن الخنزير . وهذا لايعنى خلو بعض أنواع السمن الصناعي المصنعة في بعض الدول من دهن الخنزير ، حيث أن التركيب العام للسمن الصناعي عبارة عن 60 % زيوت نباتية مهدرجة ، 20 % زيوت نباتية سائلة ، 20 % شحم حيواني (شحم بقري) ، وعليه فقد يستبدل الشحم البقري بدهن الخنزير .

ونظرا لتحريم إستهلاك لحوم الخنزير ومنتجاتها في الدول الإسلامية لذا وجب الأمر في تلك الدول على إيجاد طريقة أو عدة طرق للكشف عن لحوم ودهون الخنزير في الأغذية المستوردة من الخارج في صورة منتجات مختلفة .

وقد أجريت العديد من الأبحاث على هذا الموضوع وقد أمكن الكشف حتى عن آثار التلوث بلحم الخنزير في منتجات اللحوم باختبار *ELISA* * وفي نفس الوقت تطورت

• Enzyme Linked Immunosorbent Assay : ELISA وهي إحدى طرق التحليل المناعي والتي

تستخدم في الكشف عن عديد من المركبات العضوية .

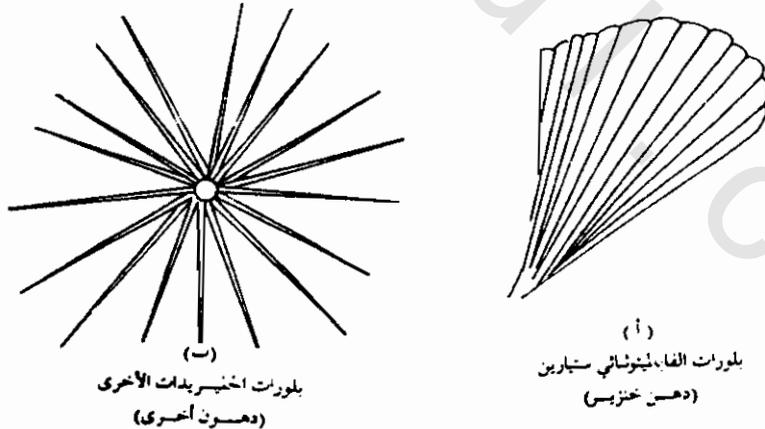
الطرق المختلفة للكشف عن دهن الخنزير فى الأغنية فمنها الطرق الطبيعية والطرق الكيميائية والطرق الكروماتوجرافية ، وسوف نتكلم بإيجاز عن تلك الطرق المختلفة كما يلى:

1.4.7. فحص الشكل البلورى لدهن الخنزير بالميكروسكوب :

Microscopic examination of crystal structure of lard:

لوحظ أنه عند إذابة عينة من الدهن فى الداى إيثيل إيثر ووضعها فى الفريزر لمدة 12 ساعة يتكون بلورات راسبة فى الأنبوبة ، وبفحص هذه البلورات لوحظ أن لكل نوع من أنواع الدهون الحيوانية شكل خاص يتميز به . لذلك إتخذ الإختلاف فى الشكل البلورى للدهن فى الكشف عن دهن الخنزير فى الدهون الأخرى (مثل الشحم البقرى) ، حيث أن دهن الخنزير يعطى بلورات على شكل أزميلى *chisel-shaped like structure* ، والدهن البقرى يعطى بلورات على شكل مروحي *fan-like structure* . وقد أثبتت الدراسات التى أجراها العديد من الباحثين أن الزيوت المهدرجة تعطى أشكال بلورية تشابه بلورات دهن الخنزير أو الدهن البقرى فى مراحل مختلفة من الهدرجة ، وبالتالي لايعتمد على إختبار الكشف الميكروسكوبى للبلورات على تأكيد وجود دهن الخنزير فى العينات المختبرة ، ولكنه يمكن أن يستخدم كإختبار وصفى فى الكشف المبندى السريع عن دهن الخنزير ونؤكد ثانية أن هذا الإختبار غير قاطع .

وتوضح شكل (6.7) بعض الأشكال البلورية للدهون المختلفة



شكل (6.7): الشكل البلورى لبعض الدهون المختلفة

2.4.7. إختبار بومر *Bomer's test* : يستخدم هذا الإختبار فى الكشف عن غش الدهن البقرى *beef tallow* بدهن الخنزير *lard* ، ويعتمد على قياس نقطة إنصهار *melting point* الجليسيريدات الثلاثية والأحماض الدهنية المفصولة . ويحسب رقم بومر من المعادلة الآتية :

$$\text{رقم بومر Bomer No} = t_g - (t_g - t_a)2$$

حيث أن :

t_g = نقطة إنصهار الجليسيريدات الثلاثية .

t_a = نقطة إنصهار الأحماض الدهنية المفصولة .

وقد لوحظ أن رقم بومر للدهن البقرى يساوى 71 ، وينخفض هذا الرقم عند غش الدهن البقرى بدهن الخنزير وتتوقف نسبة الإنخفاض على نسبة الغش بدهن الخنزير .
3.4.7. إختبار فوليست *Wulst's test* : ويجرى هذا الإختبار بصهر عينة دهن الخنزير ثم تبريدها بسرعة فتتكون كتلة حلقيه مستديرة بها ثقب فى المنتصف وهذا يميز دهن الخنزير عن الدهون الأخرى .

4.4.7. تقدير عامل الإثراء بحامض البالميتيك *Palmetic acid enrichment factor*: يعتمد إجراء هذا الإختبار على أن الجليسيريدات الثلاثية لدهن الخنزير تتميز بإحتواءها على أحماض دهنية مشبعة (خاصة حامض البالميتيك) بنسب مرتفعة فى موضع معين ألا وهو الوضع بيتا فى الجليسرول ، بينما الأحماض الدهنية غير المشبعة تكون مرتبطة بالموقعين α ، α من الجليسرول . فى حين لا تتوافر هذه الخاصية فى الزيوت أو الدهون الأخرى ، ومن هنا بدأ البحث فى إيجاد عامل محدد للكشف عن دهن الخنزير فى الأغذية الدهنية المختلفة . وسوف نتكلم عن هذه الطريقة بشئ من التفصيل حيث أنها كانت موضع دراسة مستفيضة فى كليتى الصيدلة بجامعة القاهرة* وكلية الزراعة جامعة عين شمس* كما يلى :

* رسالة دكتوراه - لى السيد عبد الفتاح سنة 1970 رسالة ماجستير - عاطف نور أبو عرب سنة 1980

1.4.4.7. فصل الجليسيريدات الثلاثية بالعمود الكروماتوجرافي :

Separation of triglycerides by column chromatography:

- زن 30 جرام من السليكا جيل ونشطها على درجة 105°م لمدة ساعة .
- ضع على السليكا جيل في جفنة نظيفة كمية من البنزين الجاف (مجفف بواسطة كبريتات الصوديوم اللامائية) مع التقلب الجيد لخروج فقائيع الهواء منها ، ثم ضعها في عمود الفصل الكروماتوجرافي مع إتخاذ كافة الإحتياطات التي سبق الإشارة إليها في تجهيز العمود الكروماتوجرافي.
- زن من 0.5 - 1 جرام من العينة وإذبها في كمية بسيطة من البنزين ، ثم ضعها في العمود بالطريقة المناسبة.
- جهز قمع فصل به 250 مل من البنزين وضعه فوق العمود ، وأضبط معدل سريان المذيب من كلا من قمع الفصل والعمود.
- إجمع البنزين النازل من العمود في كأس ، ثم بخره تحت تفريغ وبذلك يمكننا الحصول على الجليسيريدات الثلاثية في صورة نقية . تجرى عملية أسترة للجليسيريدات الثلاثية ثم حقنها في الـ GC للتعرف على أنواع الأحماض الدهنية المختلفة بها.

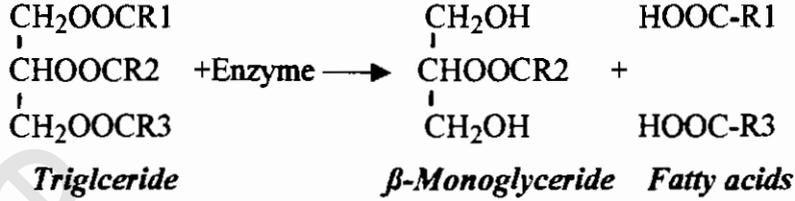
2.4.4.7. فصل البيتا مونو جليسيريد *Separation of β -monoglycerides*

يتم فصل البيتا مونوجليسيريد بواسطة إنزيم ليبيز البنكرياس *pancreatic lipase*

ويمكن توضيح ذلك في الخطوات التالية :

- يحضر مخلوط من كلوريد الأمونيوم (8 جم) ، كلوريد الكالسيوم (2.2 جم) ، الصمغ العربي (10 جم) في 100 مل ماء مقطر مع الرج جيدا لخلط المكونات .
- يضبط pH المخلوط على 8.2 - 9 بإستخدام هيدروكسيد أمونيوم (4 ع) ، حمض الهيدروكلوريك (0.1 ع).
- يوزن 1 جم من العينة في كأس ويضاف عليها حوالي 50 - 60 مل من المخلوط السابق تحضيره ، ثم جنس المخلوط لمدة 3 - 5 ق ،
- يذاب إنزيم الليبيز البنكرياسي (200 ملجم/1 جم دهن) في كمية من الماء المقطر ، ثم يضاف على المخلوط السابق على درجة حرارة 40°م ± 1°م لمدة 20 -

30 ق ، حيث يقوم الإنزيم بتحليل الجليسيريدات الثلاثية وفصل الجليسيريدات الأحادية في الوضع بيتا كما هو موضح في المعادلة الآتية :

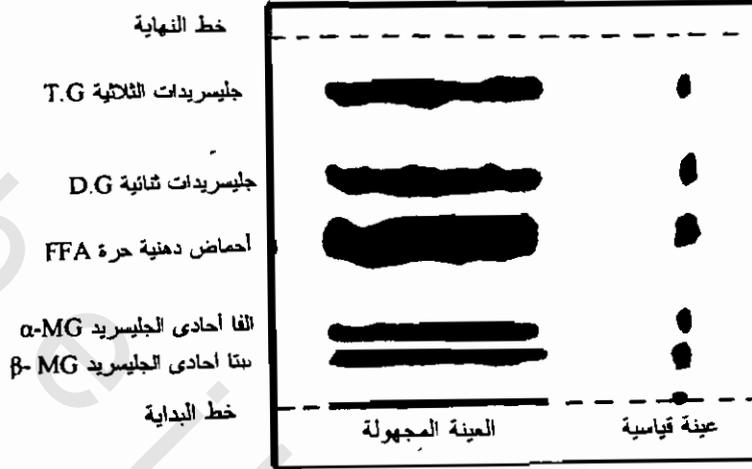


- أضف 80 – 100 مل من الداى إثيل إيثر (لوقف نشاط الإنزيم) على محتويات الكأس وقلب جيدا ، ثم إنقل المحتويات في قمع فصل سعة 250 مل .
- إفصل طبقة الإيثر التي تحتوى على المونوجليسيريد وبخر الإيثر ونواتج التحليل الأنزيمى .

3.4.4.7. فصل المونوجليسيريد على الطبقة الرقيقة :

Separation of monoglycerides on thin layer chromatography:

حيث يتم فرد السليكا جيل على لوح زجاجى مقاس 20 x 20 سم بسمك 0.5 مم فى حامض البوريك 0.4 ع ، وينشط اللوح (كما سبق توضيحه). تذاب بعد ذلك الـ β مونوجليسيريد المفصولة فى كمية قليلة من الكلوروفورم وتوضع على اللوح الزجاجى المجهز فى صورة خط مع الشقوق القياسية بجوار الخط للتعرف على المونو جليسيريد من مقارنة الـ R_f لكل منهما . يوضع لوح السليكا جيل فى الـ *jar* الزجاجى المحتوى على كلوروفورم وبنزين بنسبة 4:96 ح/ح. وبعد تمام سريان *running* المذيب من خط البداية *bottom* حتى قمة اللوح الزجاجى *front* (خط النهاية *end line*) يجفف اللوح فى الهواء ويرش بواسطة الداى كلوروفلوريسين (0.2 % فى الإيثانول) ، ثم يتم الإظهار بواسطة الأشعة فوق البنفسجية وبالتالي يمكن تحديد موضع المونوجليسيريد . بعد لك تكشط طبق المونوجليسيريد وتستخلص بالكلوروفورم وتحقن فى الـ *GC* لتقدير نسبة الأحماض الدهنية الموجودة بها بعد ميثلتها بإحدى الطرق السابقة. ويوضح الشكل التالى شكل (7.7) ترتيب خروج الشقوق المختلفة على اللوح الزجاجى .



شكل (7.7) : فصل البيتا مونوجليسيريد بكروماتوجرافيا الطبقة الرقيقة TLC (باستخدام مخلوط منزيات مكون من : كلوروفورم + اسيتون بنسبة 96:4).

4.4.4.7. حساب عامل الإثراء بحامض البالمتيك :

Calculation of palmetic acid enrichment factor:

يحسب عامل الإثراء بحامض البالمتيك من المعادلة الآتية :

$$\text{عامل الإثراء بحامض البالمتيك} = \frac{\% \text{ لحامض البالمتيك في البيتامونوجليسيريد}}{\% \text{ لحامض البالمتيك في التراى جليسيريد}}$$

وزيادة هذا العامل عن 0.7 يعتبر دلالة على وجود دهن الخنزير في العينة (منتجات اللحوم) ، أما إذا كان 0.5 أو أكثر فإنه يدل على وجود دهن الخنزير في الزيوت والدهون المهدرجة بنسبة 5 % أو أكثر . وتعتبر هذه الطريقة من الطرق المناسبة في الحكم على وجود دهن الخنزير من عدمه في العينات المختبرة .

5.7. أسئلة عامة

- 1- قارن بين طرق الإستخلاص الآتية : طريقة النقع ، طريقة سوكلت ، طريقة بلاى وداير . موضحا الإحتياطات الواجب مراعاتها فى كل طريقة للحصول على إستخلاص جيد .
- 2- رتب الأحماض الدهنية التالية طبقا لزمان خروجها من جهاز التحليل الكروماتوجرافى الغازى *GLC* : C14:0 , C12:0 , C18:1 , C18:3 , C16:0 , C16:1 , C18:2 , C18:0 , C20:1 , C12:0 , C14:1, .
- 3- أردت أن تقارن بين العديد من الزيوت والدهون من حيث خواصها الكيمائية التالية:
 - درجة عدم التشبع .
 - التزنخ التأكسدى .
 - متوسط الوزن الجزيئ للأحماض الدهنية .
 - التزنخ التحليلى .أذكر إسم الإختبار أمام كل خاصية من هذه الخواص.
- 4- علل لما يأتى :
 - أ- يفضل ترك حوالى 5 - 10 مل من المذيب على سطح عمود السليكا جيل أثناء عملية الفصل بالعمود الكروماتوجرافى .
 - ب- لا يعتمد على الكشف الميكروسكوبى للبلورات على تأكيد وجود دهن الخنزير فى العينات المختبرة .
 - ج- يفضل إستخدام أكثر من مذيب واحد من المذيبات لإستخلاص الليبيدات من الأنسجة المختلفة .
 - د- ظهور لون مميز (لون أحمر) عند إضافة الفلوروجلوسينول إلى عينة الزيت فى وجود حامض الهيدروكلوريك .
 - هـ- لا يمكن الإعتماد على رقم البيروكسيد فقط للحكم على درجة جودة زيوت القلى .
- 5- رتب المذيبات التالية حسب درجة قطبيتها : رابع كلوريد الكربون ، الهكسان ، الكلوروفورم ، الإيثير ثنائى الإيثيل ، الأسيتون ، الميتانول ، الأيزوأوكتان

6- قمت بتحليل عينة من الزيت وحصلت على النتائج التالية :

- إرتفاع فى رقم التصبن .

- إرتفاع فى قيمة الـ *TBA* .

- إرتفاع فى نسبة الأحماض الدهنية الحرة .

أكتب تقريرا عن هذه العينة بناءا على النتائج المتحصل عليها .

7- البيروكسيد ، الأنسيدين ، رقم الأكسدة الكلية ، *TBA* تعتبر من الإختبارات التى

تساعد فى تحديد درجة جودة الزيوت والدهون . فيماذا تدل هذه الإختبارات موضحا

دلالة كل إختبار .

مسائل :

1- إحسب النسبة المئوية للشقوق المختلفة المفصولة بالعمود الكروماتوجرافى لعينة زيت

غذائى وزنها 1.8 جم بإستخدام 150 مل من كل من المذيبات التالية : كلوروفورم ،

ميثانول ، بنزين ، أسيتون . علما بأن الأوزان المتحصل عليها بعد تبخير المذيبات كما

يلى :

وزن الشق الذى تم إستخلاصه بالكلوروفورم = 0.5 جم .

وزن الشق الذى تم فصله بالبنزين = 0.3 جم

وزن الشق الذى تم فصله بالميثانول = 0.8 جم

وزن الشق الذى تم فصله بالأسيتون = 0.2 جم

أذكر أيضا إسم الشقوق التى تم فصلها بكل مذيب .

(الحل : 27.8 ، 16.7 ، 44.4 ، 11.1)

2- إحسب رقم التصبن لعينة زيت غذائى وزنها 5 جم علما بأن الفرق بين حجم حامض

الهيدروكلوريك 0.5 ع المستهلك فى معايرة البلاك والحجم المستهلك فى التجربة يساوى

25.8 مل . (الحل : 144.7)

3- عينة زيت وزنها 0.15 جم أضيف إليها 25 مل محلول ويغ ويعد تمام التفاعل لزم

لمعايرة اليود المنفرد 20 مل من محلول ثيوكبريتات الصوديوم 0.1 ع . علما بأن

التجربة البلائك قد إستهلكت حجم من الثيوكبريتات قدره 35 مل لمعايرة اليود المنفرد من 25 مل من محلول ويچ . إحسب الرقم اليودى لهذه العينة . (الحل : 126.9) .

4- تم تحليل الأحماض الدهنية فى الجليسيريدات الثلاثية ، والأحماض الدهنية فى الوضع بيتا مونو جليسيريد β -position لعينة سمن إصطناعى وكانت النتائج المتحصل عليها كما يلى :

الحامض الدهنى	الجليسيريدات الثلاثية	بيتا مونو جليسيريد
C14:0	3.6 %	7.9 %
C16:0	35.4 %	50.5 %
C16:1	4.1 %	3.8 %
C18:0	13.9 %	4.3 %
C18:1	32.4 %	24.4 %
C18:2	10.6 %	9.1 %

هل هذه العينة مغشوشة بدهن خنزير أم لا ؟

5- إحسب رقم البيروكسيد لعينة زيت غذائى وزنها 5 جم علما بأن حجم ثيوكبريتات الصوديوم 0.1 ع المستهلكة فى التفاعل يساوى 0.6 . (الحل : 12) .

6- عينة زيت نخيل وزنها 15 جم عوملت بحجم قدره 30 مل من كحول الإيثيل المتعادل. ثم عودلت الأحماض الدهنية الحرة بها فلزم حجم قدره 5 مل من الصودا الكاوية 0.09 عيارى .

- إحسب رقم الحموض لهذه العينة .
- إحسب % للحموضة مقدره كحامض أوليك .
- إحسب % للحموضة مقدره كحامض بالمتيك .

(الحل : 1.68 ، 47 % ، 42 %) .

6.7. المراجع REFERENCES

- Akoh, C.C. and Min, D.B. 1997. *Food Lipids: Chemistry, Nutrition and biotechnology*. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, HongKong.
- AOCS. 1980. *Am. Oil Chem Soci. Official Methods of analysis*. Am. Oil Chemiste' Sco., Chicago.
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*, 16th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.
- Bligh, E.G. and Dyer, W.J. 1959. *A rapid method of total lipid extraction and purification*. *Can. J. BioChem. Physiol.* 37:911-917
- Christie, W.W. 1982. *Lipid Analysis*. Pergamon Press, New York P.1
- Hanahan, D.J., Brock erhoff, H. and Barron, E.J. (1960). *The site of attack of phospholipids (lecithinase) A on lecthin: A re-evaluation, position of fatty acids on lecithin and triglycerides*. *J. Biol. Chem.* 235 :1917.
- Hoffmann, G. 1986. *Quality control in the food industry*. Vol.2, 2nd ed. Chapter 5: *Edible oils and fats*, pp. 407 – 497. Academic press Inc. London . Ltd.
- IUPAC. 1979. *Standard Methods for the analysis of oils, fats and drivatives* 6th ed. C.paquot (ed). Pergamon press, New York.
- Pearson, D. 1976. *The chemical analysis of foods*. 7th ed. P. 496-497. Churchill Livingstone, Edinbergh, London and New York.
- Pomeranz, Y. and Meloan, C.L. 1994. *Food Analysis Theory and Practice*. 4th ed. AVI Publishers, Westport, CT.
- Swern, D., Formo, M.W., Jungermann, E., Norris, F.A., and Sonntage, N.O.V. 1979. *Baily's industrial oil and fat products*.

Vol.1. 4th ed. A Wiley-Interscience Publication, John Wely & Sons. New York, Chichester, Brisbane, Toronto.

Tarladigis, B.G., Pearsonn , A.M. and Dugan, L.R. (1964). Chemistry of the 2-thiobarbituroc acid test for determination of oxidation of oxidation rancidity in foods. II. Formation of the TBA-Malonaldehyde complex without acid heat treatment. J.Sci. food Agric. Vol. 15. pp 602 – 607.