بعض المبادئ النظرية:

تنتشر المواد الدسمة بشكل كبير في المملكتين النباتية والحيوانية وهي عبارة عن مجموعة من المركبات التي تحوي بشكل أساسي على الكربون والهيدروجين والأكسجين إضافة إلى وجود بعض المواد الأخرى التي ترتبط مع هذه المواد الدسمة.

بشكل عام فإن المواد الدسمة عبارة عن الإسترات المعقدة للغليسرين والحموض الدسمة كما هو موضح من المعادلة البسيطة التالية:

$$\begin{array}{l} CH_2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2OH \end{array} + 3R\text{-}COOH \longrightarrow \begin{array}{l} H_2 - C\text{-}O\text{-}CO\text{-}R_1 \\ | \\ H - C\text{-}O\text{-}CO\text{-}R_2 \\ | \\ H_2\text{-}C\text{-}O\text{-}CO\text{-}R_3 \end{array} + 3H_2O$$

تتكون المواد الدسمة الطبيعية من الغليسيريدات الثلاثية غالباً أما الغليسيريدات الثنائية أو الأحادية فكميتها أقل والغليسيريدات إما بسيطة أو مختلطة.

تتميز المواد الدسمة بصفة عامة بعدم انحلالها في الماء وتنحل جيداً في الكثير من المذيبات العضوية (الايثر، الهكسان، البنتان، الكلوروفورم، البنزين...ألخ) واستناداً إلي هذه الخاصية فان جميع الطرق المتبعة للتحديد الكمي للمواد الدسمة تعتمد علي هذه الصفة إلا أن يوجد بعض الطرق الأخرى التي تعتمد علي صفات أخرى للمواد الدسمة.

يتم استخلاص المواد الدسمة بواسطة المذيبات العضوية المختلفة بسهولة وأيضاً يتم الحصول معها على الفوسفوليبيدات (الليستين) والشموع والحموض الدسمة الحرة ومواد أخرى **وإن المذيب الشائع الاستعمال لاستخلاص المواد الدسمة هو ثنائي اثيل الايثير $C_2H_5\text{-}O\text{-}C_2H_5$ ذو درجة الغليان35.6 C** و يمكن تنظيف هذا المذيب بسهولة من الشوائب ويؤدي استخدامه إلى تسريع عملية الاستخلاص ويتم التخلص من الايثر فيما بعد بسهولة **ولكن من مساوئ استخدام هذا المذيب** هو مقدرته علي إذابة الماء حتى 8% وكذلك إذابة المواد المنحلة في الماء وهذا ما يعتبر السبب المؤدي إلى الحصول على نتائج غير دقيقة ولذلك من الضروري تجفيف الايثر والمادة المراد معرفة محتواها بالمواد الدسمة قبل إجراء عملية الاستخلاص، ومن الأمور الضرورية أيضاً هي عدم احتواء الايثر المستعمل لعملية الاستخلاص على بقايا الكحول.

يمكن أن نستخدم مذيبات أخرى مثل الكلوروفورم (درجة غليانه 61.2C) ورابع كلور الكربون (درجة غليانه 76.5C) والبنزين (درجة الغليان 80.5C). **ويجب أن تتمتع المذيبات المستخدمة في استخلاص المواد الدسمة بالمواصفات التالية:**

١. قدرة عالية على إذابة المواد الدسمة وتكون بنفس الوقت عالية الانتقائية لإذابة المادة الدسمة.
٢. درجة غليانها غير مرتفعة.
٣. تركيبها الكيميائي ثابت.
٤. عدم امتزاجها بالماء ولا تشكل معه مزيجاً إيزوتروبياً.
٥. عدم احتوائها على مواد ضارة بالصحة (عند استخلاص الزيوت الغذائية).
٦. ألا تكون غالية الثمن.

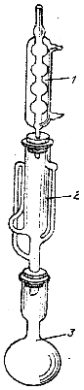
وكما هو معروف أن المواد الدسمة ضعيفة القطبية ولذلك فان المذيبات المستخدمة يجب أن تكون مواد عديمة أو ضعيفة القطبية وتتعلق دقة النتائج التي يمكن الحصول عليها خلال إجراء عملية الاستخلاص بدرجة نعومة المادة المختبرة، فكلما ازدادت درجة النعومة إلى حد ما جرت عملية الاستخلاص بشكل أدق وأسرع.

أما **العوامل المؤثرة على معدل الاستخلاص فهي**:

١. درجة النعومة.
٢. درجة الحرارة: يؤدي الارتفاع في درجة الحرارة إلى ازدياد عامل الانتشار الذي يتناسب عكسياً مع اللزوجة للمادة المستخلصة وللمذيب.
٣. تركيز المواد الدسمة في المذيب: فزيادة الفرق ما بين تركيز المواد الدسمة الخاضعة لعملية الاستخلاص في المادة المختبرة والمذيب يؤدي إلي زيادة معدل الاستخلاص.
٤. رطوبة المادة: زيادة الرطوبة تؤدي إلى انتفاخ الخلايا مما يؤدي إنقاص المسامية الداخلية وبالتالي تتناقص سرعة الاستخلاص. وتجدر الإشارة إلى أن المواد الدسمة التي يمكن أن تتأكسد خلال عملية تجفيف المادة تستخلص بشكل سيء بواسطة المذيبات، مما يؤثر على نتيجة القياس ولذلك ينصح بتجفيف المادة المختبرة قبل عملية الاستخلاص في مجففات تعمل بنظام التخلية .VACCUM.

٢. تعيين كمية المواد الدسمة بطريقة سوكسيليت

تعتبر طريقة سوكسيليت من طرق المجموعة الأولى المستخدمة لتحديد محتوى المواد الغذائية من المواد الدسمة وهي أكثر الطرق انتشاراً على المستوى المخبري وتعد هذه الطريقة مرجعاً لتحديد المواد الدسمة في الأغذية والمواد العضوية نظراً للدقة العالية التي تتميز بها ولكن من سلبياتها أنها تحتاج إلى زمن طويلاً نسبياً (6-4) ساعات لتنفيذها.



يتألف جهاز سوكسيليت من ثلاثة أقسام متصلة مع بعضها بإحكام كما هو واضح في الشكل رقم 1

القسم الأول: هو حوجلة الاستقبال

القسم الثاني : هو المستخلص

القسم الثالث : هو المكثف

الأجهزة والمواد المستخدمة

جهاز سوكسيليت - ميزان تحليلي - فرن كهربائي - سخانة أو حمام مائي - مذيبات عضوية

طريقة العمل

تؤخذ كمية من المادة الغذائية المسحوقة بشكل جيد بحدود (٣-١٠) غرام وذلك حسب المحتوى المتوقع من المادة الدسمة في المادة المختبرة. وتوضع العينة في خرطوشة سوكسيليت الخاصة (وهي عبارة عن كشتبان مصنوع من ورق الترشيح القاسي السميك) توضع في قاع هذه الخرطوشة قطعة من القطن الجافة والخالية من المواد الدسمة وفوق قطعة القطن توضع العينة.

وبعد وزن الخرطوشة مع العينة تغطى العينة بقطعة من القطن أيضاً ومنعاً لاستخلاص المواد المنحلة بالماء توضع الخرطوشة مع العينة في فرن تجفيف كهربائي (يفضل أن يعمل بنظام التخلية) أما إذا جرى التجفيف بدرجات حرارة c 105-100 فإنه **يجب أن يتم التجفيف بوجود غاز خامل وذلك لكي لا يتم أكسدة المواد الدسمة.**

توضع الخرطوشة بعد الانتهاء من عملية التجفيف في المستخلص ومن ثم يركب الجهاز كما هو واضح في الشكل السابق.

توزن حوجلة الاستقبال بعد تنظيفها وتجفيفها على ميزان تحليلي ومن ثم يوضع المذيب فيها بحيث يكون حجم المذيب مساوياً من 3/4 – 2/3 حجم الدورق.

يجب أن يكون حجم المذيب أكبر من الحجم الفعال للمستخلص بـ1.5- 2 مرة توضع الحوجلة على حمام مائي أو سخانة من نوع خاص يجب أن يتم التسخين بشكل متجانس ومناسب ففي حالة التسخين السريع يمكن أن يتطاير قسم من المذيب وهذا ما يشكل خطراً إذا كان المذيب سريع الانفجار، وفاقد أيضاً في كمية المذيب أما في حالة التسخين البطئ فمن الممكن أن يؤدي إلي خلل في عملية انسياب المذيب في الأنبوب وذلك نتيجة التكاثف الجزئي للمذيب في الأنبوب الجانبي.

أثناء عملية التسخين يبدأ المذيب بالغليان فتتصاعد أبخرة المذيب في حوجلة الاستقبال عبر أنبوب جانبي وتتكاثف في المكثف ثم تتساقط قطرات المذيب على الخرطوشة التي تحتوي على المادة المراد تحديد نسبة المواد الدسمة فيها فيرتفع مستوي المذيب في المستخلص وبهذه الحالة يتم استخلاص قسم من المواد الدسمة، وعندما يصبح مستوى المذيب في المستخلص أعلى من مستوى الأنبوبة السيفونية الجانبية يبدأ المذيب الحامل معه قسماً من المواد الدسمة بالانسياب عبر السيفون إلى حوجلة الاستقبال وتتكرر عملية الاستخلاص وتتصاعد الأبخرة إلى الأعلى ومن ثم تكاثفها فيتم استخلاص المواد الدسمة.

م.دانية حلاق

يمكن تحديد نهاية عملية الاستخلاص بوضع عدة قطرات من المذيب الوارد إلى حوجلة الاستقبال على قطعة من ورق الترشيح فإذا بقي أثر للمادة الدسمة على ورقة الترشيح عندها تستمر عملية الاستخلاص وتستغرق عادة عملية الاستخلاص بواسطة جهاز سوكسيليت من 6-4 ساعات. بعد الانتهاء من عملية الاستخلاص يفك الجهاز وتؤخذ الحوجلة الحاوية على المذيب والمادة الدسمة وثم تقطير المذيب فيها أما المادة المتبقية فيتم تبخيرها على حمام مائي ثم توضع في مجفف حتى انتهاء عملية تبخير المذيب بشكل كامل والحصول على مادة دسمة نقية ويتم حساب نسبة الدسم بعد وزن الحوجلة.

التعبير عن النتائج

تحسب النسبة المئوية للمواد الدسمة في العينة المأخوذة L وفق العلاقة التالية:

حيث: m_1 : وزن الحوجلة مع العينة m_o : وزن الحوجلة فارغة g: وزن العينة

$$\%L = m_1-m_o / g \cdot 100$$

. قرينة الحموضة والنسبة المئوية للحموض الدسمة الحرة

تحدد هاتان الخاصيتان محتوى الزيوت والدهون والشحوم من الحموض الدسمة الحرة ولكن على أساسين مختلفين. **تشير قرينة الحموضة إلى عدد ميلغرامات ماءات البوتاسيوم اللازمة لتعديل الحموض الدسمة الحرة (مجموعات الكربوكسيل الحرة) الموجودة في غرام واحد من العينة بينما تعبر النسبة المئوية للحموض الدسمة الحرة عن عدد غرامات الحموض الدسمة الحرة في مئة غرام مادة دسمة محسوبة على أساس حمض الزيت**، وتبلغ قيمة النسبة المئوية للحموض الدسمة الحرة حوالي نصف وعلى وجه التحديد 0.504 قيمة قرينة الحموضة. وتحدد تلك الخاصيتين المذكورتين نوعية الزيت أو الدهن أو الشحم تبعاً إلى حموضته، كما تستخدمان لمتابعة سير عملية التكرير (التنقية القلوية) للمواد الدسمة.

الجدول (١): تصنيف زيت الزيتون تبعاً للنسبة المئوية للحموض الدسمة الحرة

النسبة المئوية للحموض الدسمة الحرة	نوع زيت الزيتون
0-1	ممتاز
1.5-1	نوع أول
3-1.5	نوع ثاني
3-5	نوع ثالث
5<	صناعي

- **طريقة تعيين قرينة الحموضة :**

تعتمد الطريقة القياسية المستخدمة لتعيين قرينة الحموضة على تعديل الحموضة في العينة عند درجة حرارة الغرفة باستخدام محلول غولي 0.1N ماءات البوتاسيوم وباستخدام ايزوبروبانول:تولين كمذيب للمادة الدسمة وفينول فيتاليئن كمشعر حتى انتهاء المعايرة عندما يدوم اللون القرنفلي لمدة 30 ثانية. ولا تخضع الغليسيريدات والمكونات المشابهة تحت هذه الشروط إلى تفاعل تصبن.

١. **طريقة العمل:**

١. توزن كمية من المادة الدسمة تتراوح بين 3-2غرام ثم توضع في أرلينة سعة 250 مل ويضاف 10 مل إيزوبروبانول و10 مل تولين وعدة نقاط من محلول الفينول فيتالين وتخلط محتويات الأرلينة جيداً.
٢. تعاير محتويات الأرلينة بمحلول غولي 0.1N ماءات البوتاسيوم حتى نقطة التعادل (دوام اللون القرنفلي 30 ثانية).
٣. تنفذ في نفس الوقت تجربة الشاهد إجراء الخطوتين 1و2 ولكن بدون وجود المادة الدسمة.
٤. تحسب قرينة الحموضة باستخدام العلاقة:

قرينة الحموضة = 5.61(ن- ل) / و ملغ ماءات بوتاسيوم / غ مادة دسمة

حيث أن:

- ن : حجم محلول 0.1N ماءات البوتاسيوم المستهلك في تجربة العينة مل
- ل: حجم محلول 0.1N ماءات البوتاسيوم المستهلك في تجربة الشاهد مل
- و: كتلة العينة

- **طريقة تعيين النسبة المئوية للحموض الدسمة الحرة:**

تعاير الحموض الدسمة الحرة في وسط إيثانول 95% وذلك باستخدام 0.1N ماءات الصوديوم وذلك تبعاً لمحتوى المادة الدسمة من الحموض الدسمة الحرة ويستخدم الفينول فيتالين كمشعر ويستدل على نقطة التعادل بدوام اللون القرنفلي مدة 30 ثانية تبعاً لـ (AOAC)

طريقة العمل:

نستخدم عينة وزنها 10 g ومذيب غول - ايثر والمعايرة بـ 0.1N ماءات الصوديوم.

١. **الكواشف اللازمة :**

الغول الايثلي 95% - ايثر - محلول ماءات الصوديوم 0.1N - محلول فينول فيتالين.

٢. **خطوات العمل :**

١. يوزن مقدار 10 جرام من المادة الدسمة في أرلينة سعة 250 مل ويضاف إليها مقدار 25مل من الغول الإيثيلي 95% و25مل من الايثر، في حالة الزيت يضاف 10 مل من الغول و10مل من الايثر وتخلط محتويات الأرلينة.
٢. تعاير محتويات الأرلينة بمحلول مائي 0.1 N ماءات الصوديوم بوجود الفينول فيتالين كمشعر (تنتهي المعايرة عندما يدوم اللون القرنفلي مدة 30 ثانية).
٣. تحسب النسبة المئوية للحموض الدسمة الحرة باستخدام العلاقة :

النسبة المئوية للحموض الدسمة الحرة %A = V . 0.282 . 0.1 . 100/g

حيث V : حجم محلول ٠.١ N ماءات الصوديوم المستهلك في المعايرة (مل).

٢. قرينة التصبن

تعرف قرينة التصبن بأنها عدد مليغرامات ماءات البوتاسيوم اللازمة للتفاعل بشكل تام مع جميع المجموعات الوظيفية القابلة للتفاعل في غرام واحد من العينة (أو هي عدد مليغرامات ماءات البوتاسيوم اللازمة لتصبن غرام واحد من العينة). ويجري تعيين هذه القرنية في وسط غولي وعند درجة حرارة الراجع ولمدة تتراوح بين 60-30 دقيقة **ويستدل على نهاية عملية التصبن عندما يصبح مزيج التفاعل رائقاً تماماً**.

لا يمكن إجراء هذا التحليل ببساطة مع الزيوت والدهون والشحوم الحاوية على مقادير كبيرة جداً من الشموع التي تتفاعل ببطء شديد وتكمن الصعوبة في عدم القدرة علي تحديد انتهاء عملية التصبن بسبب عدم انحلالية الكحوليات المحلمهة طويلة السلسلة في وسط التفاعل.

تعتبر قرينة التصبن مقياس للكتلة الجزئية الوسطية أو بصورة أدق المكافئ الغرامي للمواد الدسمة، ويعرف مكافئ التصبن Saponicafication equivalent للمواد الدسمة أو الإسترات الأخرى بأنه عدد الغرامات من المادة الدسمة أو الإستر التي يتم تصبينها بمول واحد 56.104جرام من ماءات البوتاسيوم.

أي قرينة التصبن x مكافئ التصبن = 56.104

الجدول (٢) قرائن تصبن بعض الزيوت والمواد الدسمة

المادة الدسمة	قرينة التصبن
زيت النخيل المكرر	202 -196
زيت الزيتون	196 -185
زيت بذر القطن	198 -190
زيت الذرة	193-187
زيت دوار الشمس	194 -188

طريقة تعيين قرينة التصبن :

تبعا" لـ(AOCS) يجري تعيين قرينة التصبن للزيوت والدهون والشحوم بأخذ عينة 5-4 جم وتصبينها باستخدام 50 سم^3 من محلول ماءات البوتاسيوم الغولي حوالي 40 غ ماءات البوتاسيوم في الليتر لمدة 60 دقيقة حتى ينتهي تفاعل التصبن **ويتم الحكم على نهاية التصبن عندما يصبح وسط التفاعل رائقاً تماماً**. ثم يعاير **بـ0.5N حمض كلور الماء** بوجود مشعر فينول فيتالين **حتى يختفي اللون القرنفلي** وفي نفس الوقت تجري تجربة الشاهد.

ويتم حساب قرينة التصبن باستخدام العلاقة:

قرينة التصبن = 28.05(ل – ن)/ و مليغرام ماءات البوتاسيوم / غرام مادة دسمة (١)

حيث ل: حجم محلول 0.5 N (حجم كلور الماء المستهلك في تجربة الشاهد)

ن: حجم محلول 0.5N (حجم حمض كلورالماء المستهلك في تجربة العينة)

و: كتلة العينة (غ)

١. **طريقة العمل :**

أ – يوزن حوالي 5-4 غرام من المادة الدسمة وتوضع في أرلينة مصنفرة 150-250سم^3 ويضاف إليها 50سم^3 من محلول ماءات البوتاسيوم الغولي.

ب- يركب مكثف مائي بشكل معكوس على فوهة الأرلينة، وتجري عملية التصبن والتسخين بلطف على مصدر حراري مناسب لمدة 60 دقيقة ابتداء من لحظة الغليان (إذا لم يصبح المحلول رائقاً تماماً يستمر التسخين حتى تزول أية عكارة).

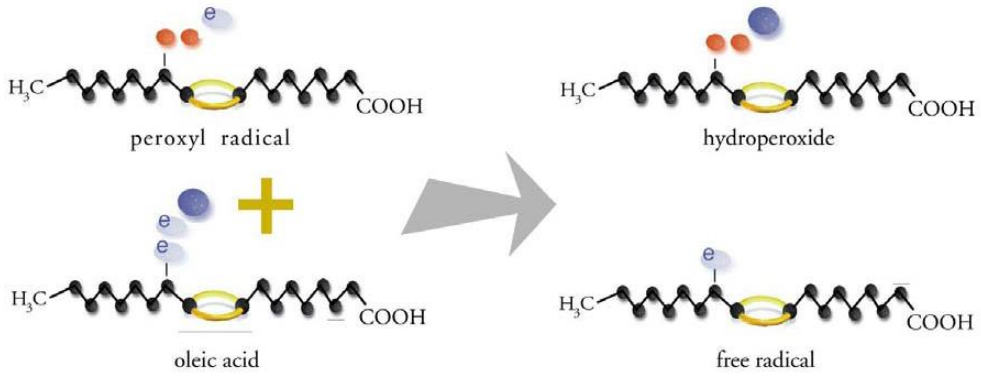
ج- يرفع المكثف وتجرى المعايرة والمحلول لا يزال ساخناً بمحلول 0.5Nحمض كلور الماء بوجود مشعر الفينول فيتالين ويستدل علي انتهاء المعايرة عند اختفاء اللون القرنفلي. تجرى في نفس الوقت تجربة الشاهد، وتحسب قرينة التصبن باستخدام العلاقة (١).

٢ـ ملاحظات :

أـ لا يتم التصبن إلا بوجود مقدار زائد من ماءات البوتاسيوم وكل تجربة يصرف فيها لتعديل زيادة ماءات البوتاسيوم أقل من 2 سم^3 من محلول الحمض يجب أن تعاد باستخدام مقدار أكبر من محلول ماءات البوتاسيوم.

٤. قرينة البيروكسيد

تتشكل مركبات البيروكسيد في الزيت بسبب الأوكسجين المنحل في الزيت وغيره من العوامل مثل الصبغات (الكلوروفيل والفيوفيتين)(الضوء) أو المعادن التي تحفز تكوينها. على وجه الخصوص يمكن تمييز نوعين من الأكسدة "ذاتية وضوئية" وفي كلتا الحالتين وعند مرحلة معينة لهذين التفاعلين **تتشكل الجذور الحرة من الأحماض الدهنية غير المشبعة والتي تتفاعل مع جزيء الأكسجين ويؤدي إلى جذر البيروكسيد التي تتحد وبشكل عشوائي "تبعاً للصدفة" مع جزيء آخر من الحمض الدهني لتكون الهيدروبيروكسيد "الأكسدة الذاتية"**. كذلك الحال بالنسبة للمعادن فإنها تحفز الأكسدة الذاتية "بدون وجود الأشعة فوق البنفسجية". في حين أن مركبات مثل الفينولات والتوكوفيرولات والبيتا-كاروتين تمنع انشطار الأوكسجين بما يسمى **مضادات الاكسدة الطبيعية** .



يتم التعبير

يعبر عن محتوى البيروكسيدات في الزيت برقم البيروكسيد، حيث إن ارتفاع هذا الرقم دليل على تدهور الزيت بسبب الاكسدة من الزيت. وبدورها فإن مركبات البيروكسيدات عرضة لمزيد من عمليات الأكسدة مما يعمل على زيادة تركيز مركبات أخرى أهمها الألدهيدات والكيتونات . وتدعى هذه المركبات بنواتج الاكسدة الثانوية وهي مسؤولة عن تزنخ الزيت.

<u>تعريف قرينة البيروكسيد</u> :

محتوى المادة الدسمة من الأوكسجين القادر على أكسدة يود البوتاسيوم وذلك بواحدة مللمكافئ أوكسجين لكل ١كغ من المادة الدسمة

<u>طريقة تعيين قرينة البيروكسيد:</u>

تعتمد على قدرة البيروكسيدات على تحرير اليود من يود البوتاسيوم في وسط من حمض الخل الثلجي

تمتاز هذه الطريقة بالحساسية والدقة للاوكسجين لذلك يجب أن يتم استخدام أرلينات جافة تماما كما يجب استخدام ماء مقطر مطرود منه الأوكسجين المنحل وذلك بغليه لمدة 20 د تقريبا

التفاعلات الحاصلة :

١)أكسدة البيروكسيدات لشوارد اليود في وسط حمضي :

$$2KI + 2CH3COOH \longrightarrow 2HI + 2CH3COOK$$

٢) يعاير اليود المتحرر بثيوسلفات الصوديوم 0.01N

$$I_2 + 2S_2O_3 \longrightarrow 2I + S_4O_6$$

طريقة العمل

نزن حوالي 2 غ زيت بدقة في دورق مصنفر ثم

نضيف إلى الوزن السابق 25 مل مزيج حمض الخل الثلجي مع الكلوروفورم (1:2) ثم يضاف 1 مل من يوديد البوتاسيوم فوق المشبع (مادة صلبة بيضاء مذابة في الماء المقطر) وبعدها نحرك لمدة 30ثانية ثم نقوم بوضع العينة في الظلام لمدة 5د بعد انتهاء الزمن نقوم بإيقاف التفاعل من خلال اضافة 30مل ماء مقطر ثم نضيف حوالي 1 مل من النشاء وفي النهاية نقوم بالمعايرة بواسطة ثيو سلفات الصوديوم العيارية 0.01N حتى زوال اللون

رقم البيروكسيد =(ح×ع×١٠٠٠) /و

ح:الحجم المستهلك من ثيوسلفات الصوديوم N٠.٠١

ع:نظامية الثيوسلفات وتساوي ٠.٠١

و: وزن العينة

م.دانية حلاق