مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية – سلسلة العلوم الأساسية المجلد (39) العدد (6) 2017
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Basic Sciences Series Vol. (39) No. (6) 2017

طريقة عزل حمض الأوليك (oleic acid) من بعض الزيوت النباتية

الدكتور ياسر موسى*

(تاريخ الإيداع 26 / 11 / 2017. قُبِل للنشر في 27 / 12 /2017)

□ ملخّص □

حمض الأوليك هو أحد الحموض الدسمة التي تعرف بأوميغا–9 و الذي يوجد في العديد من المنتجات النباتية و المنتجات الحيوانية و يتواجد على شكل غليسيريدات ثلاثية (استرات لحمض الأوليك). تم في هذا البحث عزل وتنقية حمض الأوليك بدرجة عالية من النقاوة وصلت حتى 99٪ من الأحماض الدهنية المستخلصة من زيت الزيتون وزيت الذرة و زيت النخيل بمردود وصل إلى 87% من نسبته في الزيوت المستخدمة و ذلك عن طريق استخدام البلورة باليوريا بالإضافة إلى البلورة الانتقائية بالتبريد. كما تم استخدام الكروماتوغرافية الغازية (GC–FID) من أجل التحليل الكمي المباشر لحمض الأوليك و الأحماض الدهنية الأخرى.

الكلمات المفتاحية: حمض الأوليك – عزل – البلورة باليوريا

* أستاذ مساعد – قسم الكيمياء– جامعة تشرين–اللاذقية– سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية – سلسلة العلوم الأساسية المجلد (39) العدد (6) 2017
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Basic Sciences Series Vol. (39) No. (6) 2017

Method of isolating oleic acid from some plants oils

Dr.Yaser Mousa*

(Received 26 / 11 / 2017. Accepted 8 / 11 /2017)

□ ABSTRACT □

Oleic acid is a fatty acid known as omega-9, which is found naturally in many plant sources and animal products and is found in the form of tri-glycerides (oleic acid esters). In this research, the oleic acid was isolated and purified with a high degree of purity up to 99% of the fatty acids extracted from olive oil, corn oil and palm oil with a yield of at least 87% of its percentage in the oils used by the use of crystalline urea as well as crystalline selective cooling . GC-FID was also used for direct quantitative analysis of oleic acid and other fatty acids.

Keywords: oleic acid, isolation, urea crystallisation.

* **Associate Professor, Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Tishreen University, Lattakia, Syria**

مقدمة:

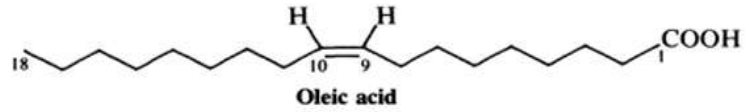
حمض الأوليك هو أحد الحموض الدسمة التي تعرف بأوميغا−9 و الذي يوجد في العديد من المنتجات النباتية و المنتجات الحيوانية و هو يعد المكون الرئيس لزيت الزيتون و يتواجد على شكل غليسيريدات ثلاثية (استرات لحمض الأوليك)[1] ويعد هذا الغليسيريد أحد أهم مصادر الكوليسترول المفيد لجسم الإنسان، كما أنه غني بمضادات الأكسدة التي تساعد في إبطال الجذور الحرة في الجسم. ويستخدم حمض الأوليك بحسب دستور الأدوية الأمريكية كسواغ صيدلاني شائع في مختلف الأشكال الصيدلانية [2]. فمن أجل استخدام الأحماض الدهنية غير المشبعة كمكملات غذائية و في الأشكال الصيدلانية المتعددة قام العلماء بعزل هذه الحموض من مصادرها و الحصول عليها بدرجة عالية من النقاوة.

هناك العديد من الطرائق لعزل الأحماض الدهنية غير المشبعة ومشتقاتها (أي الاسترات والأحماض الدهنية الحرة، الغليسيريدات الثلاثية، الخ) من مختلف المصادر الطبيعية، ولكن القليل منها كان مناسباً للإنتاج على نطاق واسع. تعتمد التقنيات الأكثر شيوعا في عزل و تنقية هذه المركبات على التقطير المجزء [3,4] والبلورة مع اليوريا و التي تعتبر من أكثر الطرائق فعالية وذلك نظراً لانخفاض تكلفتها، وارتفاع المردود، ونقاوة المنتج الذي يتم الحصول عليه، وانخفاض درجات الحرارة التي يتم عندها الفصل [5,6]. أظهرت الدراسات العلمية وجود خمسة أنواع من الحموض الدسمة في الزيوت النباتية المدروسة، كما هو مبين في الجدول (1) [7].

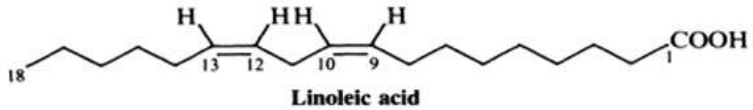
الجدول (1) نسبة الحموض الدسمة في زيت الزيتون و زيت الذرة و زيت النخيل

mp(°C)	MW	Olive oil%	Corn oil%	palmatic Oil%	Formula	Acid
13.6	282.45	65-80	25-40	40-52	$C_{18}H_{34}O_2$	Oleic
-5	280.44	5-15	45-55	8-12	$C_{18}H_{32}O_2$	Linoleic
Liquid	278.42	1.2-5.3	0.5-3	0.3-3	$C_{18}H_{30}O_2$	Linolenic
69.9	284.07	2-5	3-6	3-6	$C_{18}H_{36}O_2$	Stearic
62.9	256.42	8-16	7-12	35-45	$C_{16}H_{32}O_2$	Palmitic

ثلاثة منها غير مشبعة واثنين مشبعة. انحلالية حمض الأوليك و اللينوليك في المذيبات العضوية أكثر بكثير من انحلالية الحموض المشبعة، وعندما يتم تبريد المحلول الناتج عن حلمهة هذه الحموض في ن − الهكسان إلى الدرجة °C 15− ، فإن جزء من المواد يفصل على شكل بلورات تحتوي على اثنين من الحموض المشبعة، هما حمض الستيريك وحمض النخيل. أما المشكلة الحقيقية فتكمن في فصل فصل حمض اللينوليك عن حمض الأوليك، من أجل ذلك تعالج الحموض غير المشبعة باليوريا بوجود الميتانول لتشكيل معقد مع اليوريا. حيث تتبلور اليوريا على شكل قناة ذات أربع وجوه بقطر حوالي Å 5.67 و في حال وجود جزيئات ذات سلاسل كربونية طويلة فإن شكل البلورات يأخذ شكل قناة سداسية بقطر داخلي من(8−A12) [8].

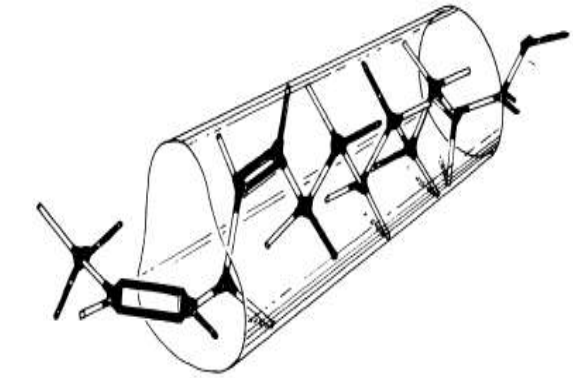


Oleic acid

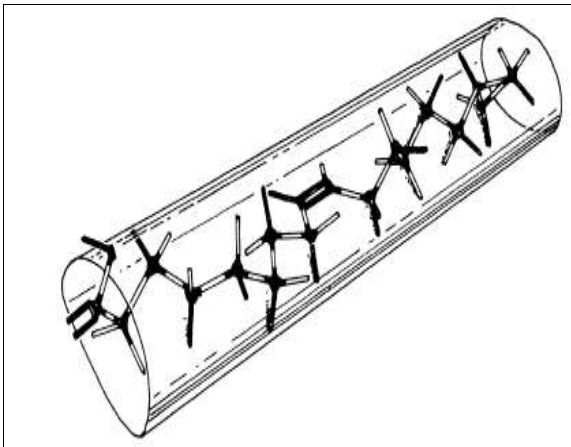


Linoleic acid

إن اختيار تشكيل مجمعات مع اليوريا من أجل فصل و تجزئة الحموض الدسمة فعالة و ذلك بسبب حساسية المجمعات (المعقدات) المتشكلة مع اليوريا لموقع الرابطة المضاعفة بالإضافة إلى تفضيل الروابط المضاعفة بالشكل المفروق Trans أكثر من الشكل المقرون Cis في السلاسل الكربونية التي لها نفس عدد الذرات كما هو موضح في الشكل (1) و (2) [9].



الشكل (2) مجمعات حمض اللينوليك مع اليوريا



مع اليوريا الأوليك خمض الشكل (1) مجمعات

أهمية البحث وأهدافه:

يهدف هذا البحث إلى عزل وتنقية حمض الأوليك بدرجة عالية من النقاوة لا تقل عن 99% وتحديد نسبته في كل من زيت الزيتون و زيت النخيل و زيت الذرة عن طريق إخضاع الحموض الدسمة الموجودة في الزيوت السابقة إلى البلورة باستخدام الميثانول واليوريا ومن ثم بلورة الأحماض الدهنية غير المشبعة بواسطة المذيبات العضوية بالتبريد الانتقائي عند درجة 5°C− إلى 10°C− دون تحريك.

أما أهمية هذا البحث فتكمن في الأهمية الغذائية و البيولوجية (الطبي) لهذا الحمض.

طرائق البحث و مواده:

تم استخدام مواد كيميائية عالية النقاوة مثل ، هيدروكسيد صوديوم، رباعي خلات ثنائي أمين الإيتلين EDTA، ن−هكسان، إيتانول، ميتانول، يوريا، حمض كلور الماء المركز.

تم اختيار عينة زيت الزيتون من المنطقة الساحلية المحيطة بمدينة اللاذقية حيث الانتاج المرتفع أما عينة زيت الذرة و زيت النخيل فهي من الزيوت المتوافرة في الأسواق و المستخدمة في الصناعات الغذائية كما تم تحديد قرينة

الحموضة واليود و البيروكسيد و التصبن للزيوت المستخدمة و ذلك بحسب الطرائق المرجعية المعتمدة كما هو مبين في الجدول (2).

الجدول (2) قرائن الحموضة و اليود و البيروكسيد و التصبن للزيوت المدروسة

Parameters	Olive oil	Corn oil	palmatic oil	Methods
(%) Acidity	0.33	0.56	0.76	ISO660 (Determination (of acid value and acidity
Iodine (inde(g/100g	72	103	44	ISO3961 (Determination (of iodine value
Peroxide index (meq O2/kg)	9.6	10	52	ISO3960 (Determination (of peroxide value
Saponification index ((mgKOH/g	185	193	196	ISO 3657 (Determination (of saponification value

العمل المخبري:

-تحويل الغليسيريدات إلى حموض دسمة حرة:

تم تحويل الغليسريدات الثلاثية الموجودة في زيت الزيتون و النخيل و الذرة إلى حموض دسمة حسب الطريقة المرجعية AOAC [10]، حيث يتم في المرحلة الأولى تصبن الزيوت من خلال إضافة (g48) من NaOH و (g0.5) من EDTA إلى محلول مؤلف من 160ml ماء و 160ml إيتانول عند الدرجة 60c° ثم يضاف 100g من الزيت مع التحريك لمدة نصف ساعة حتى اكتمال تفاعل التصبن، يضاف إلى الصابون المتشكل 500ml من ن- الهكسان و 80ml ماء يحرك المزيج لمدة ساعة كاملة ثم يترك حتى ينفصل إلى طبقتين للتخلص من الطبقة العلوية التي تحوي المواد غير المتصبنة نضيف إلى المزيج حمض كلور الماء المركز حتى تصبح حموضة الطبقة المائية مساويا الواحد $P^H=1$.

يتم جمع الطبقة العلوية و التي تحوي على الحوض الدسمة الحرة و يبخر الهكسان باستخدام المبخر الدوار عند الدرجة 30C°.

- عزل حمض الأوليك:

يضاف إلى محلول اليوريا المؤلف من 150g يوريا في 400ml من الميتانول عند الدرجة 70c° 100g من الحموض الدسمة التي جمعناه في المرحلة الأولى على سبع دفعات ثم يبرد المزيج إلى درجة حرارة المخبر بحدود الدرجة(20C°) و بمعدل 0.3c°/min، يرشح الناتج على قمع بوخنر ثم تبخر الرشاحة باستخدام المبخر الدوار للتخلص من الميتانول و الحصول على ناتج صلب، ومن أجل إزالة أية آثار متبقية من اليوريا و الميتانول تم إضافة 400ml من الماء وعدة قطرات من HCl المركز مع تحريك المزيج تجمع الطبقة العلوية التي تحوي على الحموض الدسمة غير المشبعة.

في المرحلة التالية يتم إعادة البلورة مع اليوريا مرة ثانية و يغسل الناتج بـ (200ml ماء و 200ml ن-هكسان) ثم يضاف عدة قطرات من حمض HCl المركز و يحرك لمدة ساعة حيث تتشكل طبقة علوية من الهكسان تحوي على حمض الأوليك تغسل ثلاث مرات بالماء ثم تبخر باستخدام المبخر الدوار للتخلص من الهكسان.

- تنقية حمض الأوليك:

نضيف إلى حمض الأوليك الناتج ml70 ن-هكسان حتى ينحل بشكل كامل ثم يبرد إلى الدرجة c5- ° و c10-° على التوالي باستخدام حمام ثلجي ملحي بدون تحريك فيلاحظ تشكل بلورات ترشح ثم يبخر ن-الهكسان للحصول على حمض الأوليك بنقاوة تصل حتى 99% و مردود 87%.

النتائج و المناقشة:

عند إخضاع الحموض الدسمة الموجودة في زيت الزيتون و زيت النخيل و زيت الذرة للبلورة مرتين باستخدام اليوريا و الميتانول و من ثم إذابتها باستخدام ن- الهكسان و تبريدها حتى الدرجة c5-° و c10-° بدون تحريك تم الحصول على حمض أوليك نقي من الزيوت الثلاثة له نفس خواص حمض الأوليك القياسية كما هو موضح في الجدول التالي:

الجدول (3) خواص حمض الأوليك المعزول

Density	0.892
Boiling point (°C)	360
Melting point (°C)	13.6

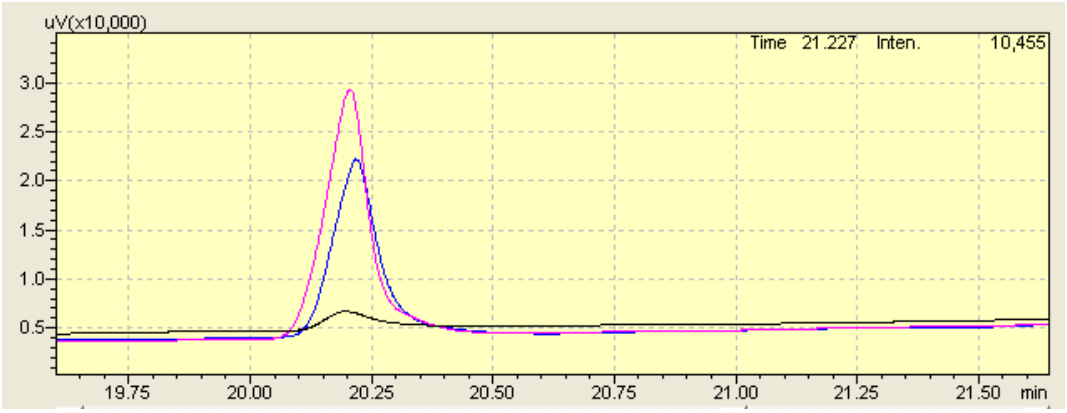
- تحليل حمض الأوليك المعزول باستخدام الكروماتوغرافيا الغازية (GC-FID):

من أجل تحليل حمض الأوليك بالغروماتوغرافيا الغازية لابد من تحويله إلى استر أوليات الميتيل[11]، و ذلك بإذابة g0.1 من حمض الأوليك في ml2 من ن- الهكسان و بعد التحريك يضاف ml0.2 من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم الميتانولي (N2) و بعد التحريك بشكل جيد تؤخذ الطبقة العلوية من أجل التحليل على جهاز الكروماتوغرافيا الغازية GC-FID.تم التحليل على جهاز من نوع SHIMADSU 2010 حسب الشروط التحليلية التالية العمود DB-WAX بطول m30، الطور الثابت هو السيلكا جل أما الطور المتحرك غاز الهليوم بمعدل تدفق ml/min1،حجم الحقنة هو µl0.5، حرارة العمود c180° ،حرارة الحاقن c250° الكاشف هو كاشف تأين اللهب FID [12]. و الأشكال (6،5،4) تبين نتائج التحليل الكروماتوغرافي.

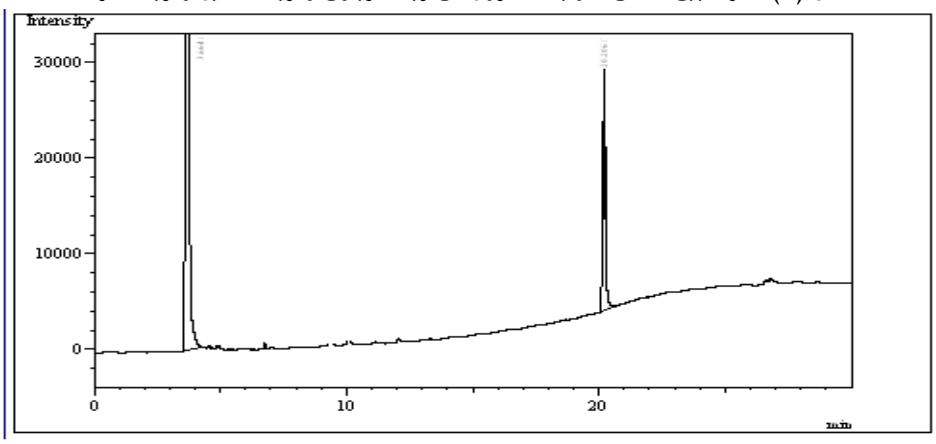
تم مقارنة النتائج بالاعتماد على عينات عيارية لكل من زيت الزيتون و زيت النخيل و زيت الذرة ،حيث تبين لنا من خلال المقارنة بين حمض الأوليك المعزول من زيت الزيتون و وزيت الذرة و زيت النخيل أنه تم عزل حمض الأوليك بنقاوة عالية 99% من الزيوت الثلاثة و ظهرت القمة الخاصة بالحمض عند نفس زمن الاحتفاظ تقريبا في العينات الثلاث الشكل (3)، و لكن بكميات مختلفة حيث كانت أكبر كمية لحمض الأوليك في زيت الزيتون ومن ثم حمض النخيل و أقل نسبة في زيت الذرة حسب الجدول (4):

الجدول(4) كمية حمض الأوليك المعزول من الزيوت المدروسة

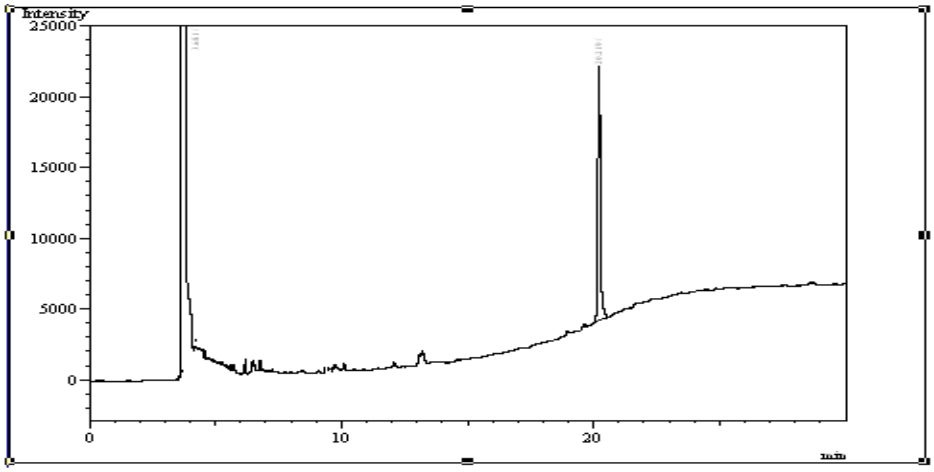
زيت الذرة	زيت النخيل	زيت الزيتون	الزيت		
g20			g38	g63	كمية حمض الأوليك المعزول من g100 زيت



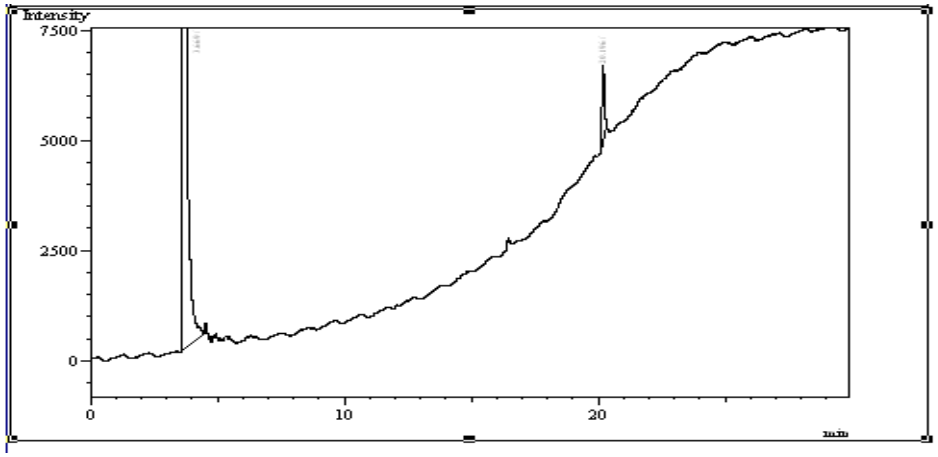
الشكل (3) مقارنة بين حمض الأوليك المعزول من زيت الزيتون و زيت النخيل و زيت الذرة



الشكل(4) كروماتوغرام حمض الأوليك المعزول من زيت الزيتون



الشكل(5) كروماتوغرام حمض الأوليك المعزول من زيت النخيل



الشكل(6) كروماتوغرام حمض الأوليك المعزول من زيت الذرة

الاستنتاجات و التوصيات:

تم عزل حمض الأوليك من زيت الزيتون و النخيل و الذرة بنقاوة عالية وصلت حتى 99%و ذلك عن طريق البلورة على مرحلتين باستخدام اليوريا و الميتانول و التبريد من الدرجة −5C° حتى الدرجة −10C° ،، و بالاعتماد على هذه النتيجة فإننا نوصي بما يلي:

- عزل حمض الأوليك من زيت الزيتون للحصول على كميات وفيرة من حمض الأوليك نظرا لاستخداماته المتعددة و خاصة في مجال المستحضرات الصيدلانية و المنتجات الغذائية.
- تطبيق الطريقة المستخدمة على زيوت نباتية أخرى بغية الحصول على كميات كافية من حمض الأوليك.

المراجع:

- Ruiz-Gutiérrez V, Muriana FJ, Guerrero A, Cert AM, Villar J. Plasma lipids, erythrocyte membrane lipids, and blood pressure of hypertensive women after ingestion of dietary oleic acid from two different sources. J Hypertens. 1996;14:1483–1490.
- Merck & Co.You Can Control Your Cholesterol: A Guide to Low-Cholesterol Living. *Inc*. Retrieved 2009-03-14.
- Haug A, Høstmark AT and Harstad OM. Bovine milk in human nutrition – a review. Lipids in Health and Disease 2007;6:25.
- G. G. Haraldsson, J.A.C.S, 61, 219–222 (1984).
- I. El Mouhtadi, M. Agouzzal, and F. Guy, "L'olivier au Maroc,"Oilseeds and Fats, Crops and Lipids, vol. 21, no. 2, article D203,2014.
- Loury M., Journées Inform. Méth. Instrum. Anal. Contrôle Corps gras Prod. 59 (1968).
- Elkacmi R., Kamil N., Bennajah M., Kitane S., Biomed Res Int. (2016).
- Newsletter—Olive Market No. 91—February 2015, International Olive Council, 2015.
- A.Franscis Carey, Organic Chemistry, 6th Ed., New York, University of Virginia, 2006.
- J. Radell, J. W. Connolly, and L. D. Yuhas, J.O.C, 26, 2022 (1961).
- D. Swern and W. E. Parker, "Application of urea complexes in the purification of fatty acids, esters, and alcohols. II. Oleic acid and methyl oleate from olive oil," J.A.C.S, vol. 29, no. 12, pp. 614–615, 1952.
- Commission Regulation EEC No. 2568/91 of 11 July 1991 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis. Official Journal of the Commission European Communities, L248, 1–83 and successive modifications.