

Szemelvények a zsiradékok papírkromatografiai vizsgálatai köréből*

JÁKY MIKLÓS

Növényolaj és Háztartás Vegyipari Kutató Intézet, Budapest.

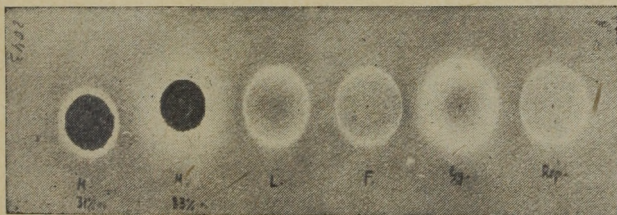
Érkezett: 1958 február 18-án.

(Folytatás, II. rész)

Monogliceridek papírkromatografiai vizsgálatai:

A monogliceridek papírkromatografiai vizsgálatairól irodalmi adatot eddig csak egyet találtunk. Miután úgy láttuk, hogy a trigliceridek acetonban jól elmozdulnak, monogliceridek esetében is kipróbáltuk a különböző töménységű acetonekat. Úgy találtuk, hogy a 80%-os tiszta vizes aceton válik be legjobban a monoglicerideknek a di- és trigliceridektől való elválasztására. A foltok előhívására Rodamin B mutatkozott a legalkalmasabbnak. A monoglicerid foltok a Rodamin B-t erősen adszorbeálják és a folt intenzív ibolyás-vörös színt vesz fel. Ezt a tulajdonságot sem a di- sem a trigliceridek, valamint szabad zsírsavak nem mutatják. Zsiradékközegben tehát a monoglicerid-rodamin színezés képződés specifikus és valószínűleg nemcsak adszorpció, hanem rodamin-monoglicerid-észter képződéssel függ össze.

A 10. ábrán két különböző töménységű monoglicerid és négy különböző olaj foltja rodaminos kezelés után látható.



10. ábra

A foltok 1%-os benzolos oldatok 1 cseppjétől származnak, 10 percnyi 0,05%-os vizes rodamin fürdőben való áztatás után. A len (L), napraforgó (F) gyapot (GY) és repce (Rep) foltok közelítőleg azonosak és ezektől élesen elütnek a monoglicerid foltok (M).

A továbbiakban háromféle monoglicerid készítményt vizsgáltunk: egy technikai monogliceridet (pálmaolajmonoglicerid), mely az analízisek

* Szemelvények a szerzőnek a Minőségvizsgáló intézetvezetői értekezleten, Budapesten 1957 június 5-én tartott „Zsiradékok papírkromatografiája” c. előadásából. A dolgozat I. része az Élelmiszervizsgáló Közleményekben jelent meg (IV. 97, 1958.) (szerk.).

szerint 29% monogliceridet tartalmazott. Ebből a nyersanyagból két dúsított terméket állítottunk elő, melyek közül az egyik 62, a másik 90% monogliceridet tartalmazott.

A 11. ábrán látható mindhárom termék kromatogramja.

Macherey—Nagel 62-es papír, 1%-os benzolos oldatból 0,03 ml anyagfelvétel, 80%-os acetonban 18 cm-es kifejesztés 21 C°-on. Mindhárom mintából egyszeres és kétszeres mennyiségek futottak.

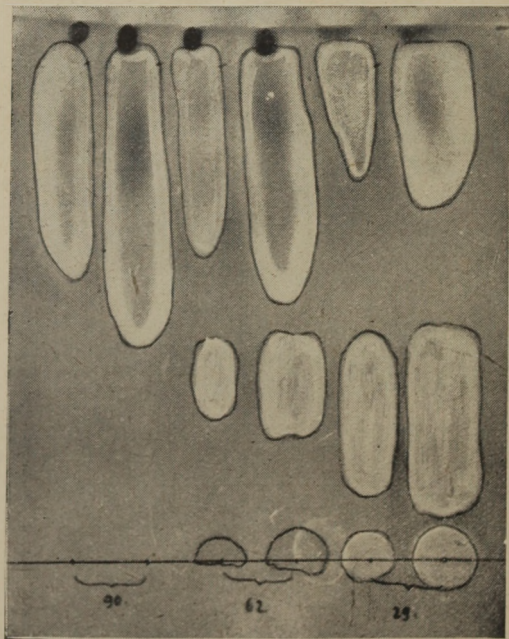
A kromatogramból megállapítható, hogy a 29-es jelzésű minta három folttra vált szét: a startponton maradtak a trigliceridek, ezek felett a digliceridek helyezkedtek el kis kifutással ($R_f = 0,3$) és ezek felett erős kifutással a monogliceridek ($R_f = 0,85$). A 62-es mintánál a foltok nagyságának arányában is meg lehet állapítani, hogy itt a trigliceridek és digliceridek csökkennek, végül a 90-es mintánál már sem tri-, sem diglicerid folt nem keletkezett. Tekintve, hogy a 90%-os készítményben a hiányzó 10%-ot szabad zsírsavak és glicerín teszi ki, ezek a kromatogramokon rodamin festéssel nem jönnek elő és ezért ez a készítmény papírkromatografiai kifejesztéssel csak monoglicerid foltot eredményezett. Miután ez a készítmény ideálisan viselkedett, megkíséreltük mennyiségi meghatározásoknál modellként felhasználni. Méréseink szerint a Fischer szabály itt nem érvényes, nagy szórások jelentkeznek és így a számított értékek irreálisak

voltak. Ellenben megállapítottuk, hogy a monoglicerid foltok terület-nagysága és koncentrációja között lineáris összefüggés áll fenn és ilyen számítási alapon megbízható gyakorlati eredményeket kaptunk.

Papír 212-es Sch et Sch, anyagmennyiség 1%-os benzolos oldatból 0,0063 ml, kifejesztés 19,5 cm, 80%-os acetonban. Hőfok 21 C°. Szárítás után előhívás 0,05%-os vizes Rodamin B oldatban 1 óráig.

Számos kvantitatív értékelést végeztünk a 29-es és 62-es monoglicerid készítményeknél, melyeknek adatait a III. táblázatban foglaltuk össze.

A táblázat adataiból megállapítható, hogy a foltarány alapján történő monoglicerid meghatározás eléggé megbízható gyakorlati eredményeket ad. Különösen a nagyobb koncentrációjú készítmé-



11. ábra

Kromatogram jele	Vizsgált minta	Bemérés mg	Monoglicerid tart. %	
			analitikai	feltarány alapján
A.	29-es	0,063	29	31
	62-es	0,063	62	61
B.	29-es	0,063	29	32
	62-es	0,063	62	60
C.	29-es	0,301	29	30
	62-es	0,301	62	60
D.	29-es	0,301	29	27
	62-es	0,301	62	62
E.	29-es	0,301	29	32
	62-es	0,301	62	62

nyek esetében kaphatók pontosabb eredmények. A módszer gyors, a kromatografiai futtatás mindössze 1 órát vesz igénybe.

Trigliceridek papírkromatografiai szétválasztása

A természetes zsíradékokat alkotó trigliceridek papírkromatografiai szétválasztása és azok identifikálása egyike a legnehezebb kromatografiai problémáknak. A gliceridek között rendszerint csekély szerkezeti és fizikokémiai különbségek lépnek fel, különösen a kevert glicerideknél, így ezek szelektációjára különleges módszert kell kidolgozni.

Az irodalmi adatok közül egyedül Kaufmann közleményei nyújtanak e téren némi felvilágosítást (12).

Számos előkísérlet után, két út látszott biztatónak: az egyik a metilalkohol és acetonszisztem egymás melletti alkalmazása egyenes fázisban, a másik a metilalkohol és acetonszisztem egyenes és fordított fázisú és több szakaszú alkalmazása. Papírok közül legalkalmasabbnak mutatkoztak a sűrűszerkezetű vastagabb nagy adszorpcióképességű Sch et Sch 212, és Macherey—Nagel 62-es. 214. sz. papírok.

Vizsgálatra természetes nyersolajok 5%-os toluolos vagy benzolos oldatait használtuk, a kromatogramokat 20—21 C°-on felfelé futtattuk. Előhívás Rodamin B, illetve KMnO₄-el kombinálva.

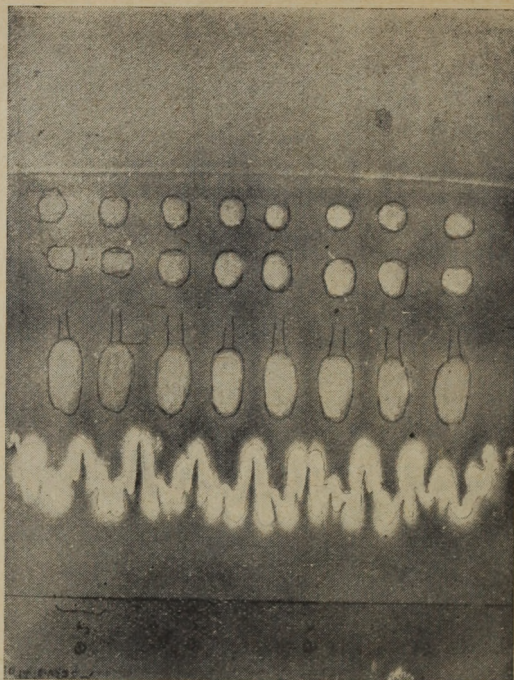
Tájékoztató minőségi vizsgálati eredményt mutat be a következő kromatogram (12. ábra).

Magyarázat: Vizsgált anyag nyers napraforgóolaj 5%-os toluolos oldatából az egyes startpontokra 0,0235 ml felvétel, futás 4 szakaszban: a) abszolút metilalkoholban 25 cm, b) 93%-os acetonszisztemben 20 cm, c) 96,5%-os acetonszisztemben 15 cm és 98%-os acetonszisztemben 15 cm magasságig. Papír 212 Sch et Sch 4 szakaszos futás, de minden oldószert 2% petróleumfrakciót tartalmazott, a futási magasságok sorrendje: 25, 20, 15, 15 cm.

Ezen a kromatogramon a napraforgóolaj minden esetben 4 jól szelektált foltot eredményezett, melyekről szintén feltételezhető, hogy négy különböző glicerid típustól származnak.

A jelenlegi elméletek szerint a természetes olajokban a zsírsavak minőségétől függően több kevesebb glicerid típus lehet. Pl. napraforgóolaj esetében, ha csak három zsírsavkomponenst veszünk alapul (telített-, olaj- és linolsav).

$$\text{Hilditch szerint } N = \frac{n^3 + 3n^2 + 2n}{6}$$



12. ábra

képlet alapján — ahol N a lehetséges trigliceridek számát, n pedig a zsírsavak számát jelenti — elméletileg a lehetséges gliceridek száma 10. Ezzel szemben a 12. kromatogram csak négy gliceridfoltot tüntet fel és így valószínű, hogy a kis százalékban jelen levő többi gliceridtípus, illetve az egy mástól kis mértékben eltérő tulajdonságú közelítőleg azonos R_f értékű gliceridek nem váltak szét.

A glicerid kromatografia további kísérletei során megkíséreltük a szelektált gliceridfoltok zsírsav összetételét kvalitatíve meghatározni. E célból a következő munkamódszert dolgoztuk ki: szélesebb papírcsíkron (18—20 cm) 6—8 startpontra ugyanazt a zsíradékot vittük fel és megfelelő ideig futtatuk. Előhívás után az azonos magasságban levő foltokat kivágtuk az

összetartozó foltokat tartalmazó papírcsíkokat lombikba téve $n/10$ alkoholos KOH-val elszappanosítottuk, a zsírsavakat sósavas savanyítással felszabadítottuk, benzollal kivontuk és ecetsavval kromatografáltuk.

Itt az egyes gliceridfoltoknak megfelelő zsírsavkomponenseket sikerült szétválasztani és a már előbbieken ismertetett módon identifikálni.

A 13. ábra az előbbieken már szerepelt nyers napraforgóolaj 4 gliceridfoltra szelektált kromatogramjának zsírsavjait tünteti fel. Az 1. sz. a legalsó (legkisebb R_f értékű) a 4. sz. a legmagasabbra futott (legnagyobb R_f értékű) glicerid zsírsav összetételét mutatja, míg az 5. sz. a metilalkoholos zóna legfelső részére kifutott szabad zsírsavat jelenti (a kromatografált nyers napraforgóolaj kb. 1,5% szabad zsírsavat tartalmazott). Az ábrából látható, hogy az 1. sz. startpontról négy zsírsav (sztearin-, palmitin-, olaj- és linolsav) futott ki, a 2. sz.-ról olaj- és linolsav, 3. sz.-ról ugyancsak olaj- és linolsav, a 4. sz.-ról csak linol-, míg az 5. sz.-ról csak olajsav.

A foltok helyzetéből és nagyságrendjéből a következő glicerid komponensek jelenlétére lehet következtetni.

1. R_f érték 0,1000: az összes telített savat tartalmazó trigliceridek, melyekben túlnyomórészt olaj és linolsav is van. (di-telítetttolein, monolinololein-telített, esetleg kevés triolein).

2. R_f érték 0,320: főként linol-olajsav glicerid (dilinol-monoolein).

3. R_f érték 0,653: főként ugyancsak olajsav-linolsav glicerid (valószínűleg a 2. sz.-val izomer).

4. R_f érték 0,906: Egysavas glicerid (trilinol).

5. Az eredeti olaj szabad zsírsavjának megfelelő zsírsav: olajsav.

Hasonló módon vizsgáltunk egy nyers repceolajat is, ennek kromatogramját a 14. ábra tünteti fel, melynek kiértékelése szerint érdekes, hogy az erukasav az összes glicerid komponensekben megtalálható. Ez amellet bizonyít, hogy repceolaj esetében az egyenletes eloszlás elve érvényesül.

A foltok helyzetéből és nagyságrendjéből a következő glicerid komponensek jelenlétére lehet következtetni:

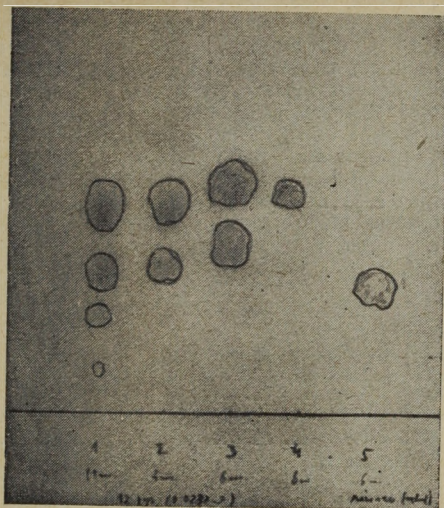
1. sz. startpont, R_f érték 0,05: sok erukasav, olaj-, linol- és linolénsavat tartalmazó gliceridek (dieruka-monoolein, dieruka-monolinol, dieruka-monolinolén lehetséges).

2. sz. startpont, R_f érték 0,313: kevés eruka és olajsav, sok linolsav és kevés linolénsavat tartalmazó gliceridek (dilinol-monoeruka, linoléno-lajeruka lehetséges).

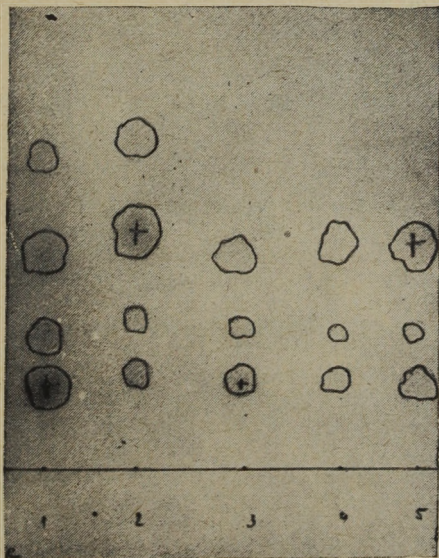
3. sz. startpont, R_f érték 0,746: eruka-, olaj-, linolsavat tartalmazó glicerid (linol-olaj-eruka glicerid lehetséges).

4. sz. startpont, R_f érték 0,85: több linol-, kevesebb eruka- és olajsavat tartalmazó glicerid, kb. a 3. ábrával (kromatogrammal) azonos (valószínűleg izomer linol-olaj-eruka glicerid).

5. sz. startpont, R_f érték 0,95: több linol-, kevesebb eruka- és olaj-savat tartal-



13. ábra



14. ábra

mazó glicerid (az előző két kromatogrammal kb. azonos azaz izomer linol-olaj-eruka glicerid jelenléte valószínű).

A kiértékelés szerint tulajdonképpen 7—8 fajta glicerid típus jelenléte látszik valószínűnek, melyek közül az 1. sz. 2 vagy 3 glicerid komponensből is állhat, ugyancsak a 2 sz. is, míg a 3, 4, 5 sz. gliceridek egymással izomer azonos zsírsavösszetételűek lehetnek. Úgy a napraforgó valamint repce-olaj esetében a közölt kromatogramok alapján megállapíthatjuk, hogy mindkét esetben kevertsavú gliceridek alkotják e két olajat.

Az eddigi elválasztási módokkal sikerült e kevert gliceridek egy részt elválasztani és identifikálni. A legfontosabb kérdések tisztázása azonban még a jövő feladata: az összes glicerid komponensek szelekciójának megoldása, a gliceridfoltokat alkotó zsírsavak mennyiségi vizsgálatai, illetve a glicerid komponensek mennyiségi arányainak megállapítása.

IRODALOM:

- (1) Kaufmann, H. P.: Fette u. Seifen 52, 713, 1950; 53, 69, 252, és 390, 1951; 54, 10 és 348, 1952.
- (2), (3) és (4) Kaufmann, H. P.: Fette u. Seifen 52, 713, 1950.
- (5) Kaufmann, H. P.: Fette u. Seifen 52, 555, 1950.
- (6) Jáky M.: Élelmezési ipar X. 44, 1956.
- (7) Jáky, M.: Olaj—Szappan Kozmetika 1955. nov—dec. 14
- (8) Kaufmann, H. P.: Fette u. Seifen 95, 154, 1954.
- (9) Jáky, M.: Fette u. Seifen 58, 721, 1956.
- (10) (11) Jáky, M.: Élelmezési Ipar XI. 148, 1957.
- (12) Kaufmann, H. P.—Budwig, J.—Schneider, C. W.: Fette u. Seifen 55, 85, 1953.

ОТРЫВКИ ИССЛЕДОВАНИЙ ЖИРОВ ПРИ ПОМОЩИ БУМАЖНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

М. Яки

Автор занимает важнейшими результатами исследований жиров при помощи бумажной хроматографии.

Сообщает групповые реакции насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, а также характерные цветные реакции отдельных жирных кислот.

Сообщает также новый метод для количественного колориметрического определения свободных жирных кислот жиров.

В дальнейшем занимается вопросами качественного разделения смеси природных жирных кислот, а также сообщает 2 количественных методов.

Для разделения моноглицеридов годиться раствор ацетона, который можно применить также для количественного определения.

Для бумажно-хроматографического разделения неомыляемых частей жиров (стеринов, токофероля) сообщает изопропылалкоголевый метод, что можно применить для разделения стеринов и токофероля из смеси.

Наконец занимается результатами исследований относительно определения состава глицеридов в подсолнечном и сурепном масле.

STUDIEN ÜBER DIE PAPIERCHROMATOGRAPHIE DER FETTE

M. Jáky

In der Arbeit werden die auf dem Gebiete der Papierchromatographie der Fette erzielten wichtigsten Ergebnisse erörtert.

Es werden die Gruppenreaktionen der gesättigten und ungesättigten Fettsäuren, sowie auch die charakteristischen Farbreaktionen der einzelnen Fettsäuren beschrieben.

Es wird eine neue Methode zur kolorimetrischen quantitativen Bestimmung des freien Fettsäuregehaltes von Fetten beschrieben.

Im Weiteren behandelt die Studie die qualitative Trennung von natürlichen Fettsäuregemischen und beschreibt auch zwei quantitative Verfahren.

Zur Trennung von Monoglyceriden wie auch zu deren quantitativer Auswertung ist ein acetonhaltiges Lösungsmittel gut geeignet.

Die papierchromatographische Trennung des unverseifbaren Anteiles der Fette (Sterine, Tokopherol) kann durch die Isopropylalkoholmethode erfolgen, welche sich zur Trennung von Sterinen und Tokopherol eignet.

Die Studie beschäftigt sich schliesslich mit orientierenden Versuchsergebnissen zur Feststellung der Zusammensetzung des Sonnenblumen- und Rapsölglycerids.