

Szemelvények a zsiradékok papírkromatografiai vizsgálatai köréből.\*

JÁKY MIKLÓS

Növényolaj és Háztartás Vegyipari Kutató Intézet, Budapest.

Érkezett: 1958 február 18-án.

A zsiradékok PK-ja még csak kezdeti sikereket könyvelhet el, a terület igen nagy és még sok a bizonytalanság. Elsősorban Kaufmann professzor és munkatársai eredményeit kell kiemelni, melyek alapját képezik a zsiradékok jelenlegi papírkromatografiai vizsgálati módszereinek. Számos egyéb külföldi kutatás mellett, hazai eredményeink is vannak már e téren.

Az anyagot a következő felosztásban tárgyaljuk:

1. zsírsavak papírkromatografiája,
2. kísérő anyagok papírkromatografiája,
3. gliceridek papírkromatografiája.

1. Foglalkozunk először a fontosabb egyedi zsírsavak papírkromatografikus viselkedésével.

Az általános vizsgálatok szempontjából szóba jöhető zsírsavak száma nem nagy, ezek a következők:

Növényi zsiradékoknál a telítettek: kaprin (K<sub>ap</sub>), laurin (L<sub>a</sub>), mirisztin (M), palmitin (P), sztearin (Szte), arahin (Ar), telítetlenek: olaj (O), linol (L), linolén (Lén) savak. Külön kell foglalkozni a konjugált zsírsavakkal (eleosztearin és likán sav). Állatiak közül: vaj, valérián, kapron, kapril és a már fent említett zsírsavak.

Az egyes zsírsavaknak a felismerése, illetve azonosítása kromatografiai papíron vagy színreakciókkal,  $R_f$  értékekkel, illetve modell zsírsavakkal való együttes futtatással történhet.

Ha modell zsírsavak kb. 1%-os benzolos oldataiból 0,001—0,01 ml-t azaz kb. 10—100  $\gamma$  zsírsav mennyiséget esepentünk kromatografiai papírra, az oldószer elpárolgása után látható olajos folt marad vissza, mely különféle reagensekkel specifikus színeződést mutat. Általában a telített és telítetlen zsírsavak csoportját megkülönböztető csoport reagensek közül legjobb a lúgos káliumpermanganát oldat (2). A telített zsírsavak foltjai élénk pirosak maradnak, a telítetlenek telítetlenségi fokuk szerint előbb, vagy utóbb sárgaszínűvé válnak a káliumpermanganát redukciója folytán. Ez a reakció alkalmas a telítetlenségi fok megállapítására is. Így például az olajsav kezdetben vörös marad, de néhány másodperc múlva sárgává válik. Linolsav azonnal sárgaszínű lesz. A reakció igen érzékeny, még 0,05 mg zsírsav telítetlensége is megállapítható. Hátránya a káliumpermanganátnak, hogy a jellegzetes színreakció csak pár másodpercig figyelhető meg, azután egységesen barna szín lép fel (barnakő kiválás).

\* Szemelvények a szerzőnek a Minőségvizsgáló intézet vezetői értekezleten, Budapesten 1957 június 5-én tartott „Zsiradékok papírkromatografiája” c. előadásából. (Szerk.)

Jó reagens olaj és linolsav részére a rézacetát (3). Hidegen telített vizes rézacetát-oldat az olaj és linolsavat kékre színezi. Levegőn szárítva 24 óra alatt a linolsavfolt zöld lesz, az olajsav viszont kék marad. A színátcsapás siettethető, ha a rézacetátos papírt áztatás után az előbb említett lúgos káliumpermanganát oldatba mártjuk. A reakció érzékenysége 5 gamma. A rézacetát sokszor előnyösebb a káliumpermanganátnál, annak ellenére, hogy az érzékenység gyengébb, viszont a reakciótermék állandó és további karakterizálásra alkalmas.

Osmiumtetroxid csak a telítetlen zsírsavakkal ad színeződést (4) (szürke-feketés). A linolsavnál lényegesen erősebb a színeződés, mint az olajsavnál.

Egyedi zsírsavak identifikálására a papirogrammos habzási módszert („Schaumtest”) dolgozta ki Kaufmann (5). A módszer azon alapszik, hogy a zsírsavak alkáli sói különféle habzásokat mutatnak katalizátor és gázfejlesztő anyagok jelenlétében. Gázfejlesztő anyagnak a  $H_2O_2$  vált be, katalizátor nátronszappan esetében mangánsó vagy kolloid ezüst. Ammonszappan esetében a rézacetát felel meg.

A vizsgálandó zsírsavat vagy zsírsavakat szerves oldószerben oldjuk 2—5%-os mennyiségben (benzol, alkohol stb.). Ebből az oldatból olyan krom. papírra viszünk fel cseppeket (0,1—0,2 mg zsírsav), melyet előzőleg rézacetát oldattal impregnáltunk és kiszáritottunk. A zsírsav foltra az oldószer elpárolgása után mikropipettával cseppentünk az  $NH_4OH + H_2O_2$  1:1 arányú keverékből; azonnal hab keletkezik, melynek térfogata és konzisztenciája a zsírsavra jellemző.

Alacsony mol. súlyú zsírsavak (vajsav, kapronsav, stb.) nem képeznek habot és csak oktánsavtól (pl. kaprilsav) kezdődik habképződés. A módszer érzékenysége: 10 gamma olajsav, vagy 5 gamma olajsav + eleidinsav keverékben a komponensek jól felismerhetők. Egy zsiradékból, melynek 3—5%-a szabad zsírsav 0,1 mg alkalmazva, az olajsav még jól felismerhető. A módszer sok esetben jó segítséget nyújt a kromatografiás zsírsavvizsgálatoknál, továbbá szappanok minősítésénél. Döntő módszer annak megállapítása, hogy a krom. folt valóban zsírsavtól ered-e vagy sem.

A kvalitatív vizsgálatokkal kapcsolatban meg kell emlékezni a konjugált telítetlen zsírsavak kimutatásáról. Ezek közül a természetben előforduló 3 legfontosabb zsírsavra térünk ki: 9—11 linolsav, eleosztearin sav, likánsav.

A fémsó reagensek közül itt a réz, vas és nikkell specifikus. Az alábbi I. táblázat szemlélteti a fellépő színelkülönbségeket.

I. táblázat

Fémsó reagens	9,12 linolsav	9,11 linolsav	$\beta$ -eleo-sztearin sav	$\beta$ -likánsav
Réz .....	sötétzöld	világos kékeszöld	gyenge zöld	sárgászöld
Vas .....	vörösbarna	barnássárga	sárga	világossárga
Nikkel .....	gyengén zöld, később sárga	nagyon gyengén zöld	gyengén rózsaszín, zöldes szegéllyel	gyengén zöld

A konjugált zsírsavak eltérő színárnyalatait az izoláltakal szemben a könnyebb oxidálhatóság eredményezi.

A színelkülönbségeken alapuló felismerés természetesen csak tiszta zsírsavak esetében lehet megbízható. Amennyiben zsírsav keverékekről

van szó, úgy a zsírsavakat előzőleg kromatográfiai futtatásokkal szét kell választani. A szétválasztás azért előnyös, mert így az előbb említett 3 konjugált savfolt helyzetéből is meg lehet állapítani a mineműséget. Így pl. a 9,11 linolsav  $R_f$  értéke kisebb, mint a 9,12 linolsavé. A  $\beta$ -eleostearinsav viszont a startponton marad, azaz  $R_f$  értéke gyakorlatilag nulla. Petroléteres futtatás esetében viszont a  $\beta$ -likánsav marad a startponton, a többi sav kivándorol.

A legmegbízhatóbban úgy identifikálhatjuk a zsírsavakat, ha tiszta modell zsírsavakkal rendelkezünk és ezekkel parallel futtatjuk az ismeretlen zsírsavakat egyedül vagy keverékekben ügyelve arra, hogy jól szeparált foltokat tartalmazó kromatogramokat kapjunk. Meghatározzuk az  $R_f$  értékeket és ezek alapján a legtöbb esetben megbízhatóan identifikálhatjuk a zsírsavakat.

Tájékozásul közöljük néhány fontosabb zsírsav  $R_f$  értékeit (80%-os ecetsav futtatás):

Laurinsav	= 0,550 ;	Olajsav	= 0,108 ;
Mirisztinsav	= 0,383 ;	Linolsav	= 0,310 ;
Palmitinsav	= 0,220 ;	Linolénsav	= 0,440 ;
Sztearinsav	= 0,050 ;	Erukasav	= 0,105 ;
Arachinsav	= 0,025 ;	Ricinolsav	= 0,650 ;

A táblázatos kimutatásból megállapíthatjuk, hogy azoknál a zsírsavaknál, melyeknek  $R_f$  értékei között lényegesebb eltérések vannak, a keverékekből való szétválás papíron való futtatásnál teljes lesz, azaz jól definiált különálló zsírsavfoltokat kapunk. A felsorolt zsírsavak közül az olaj és palmitinsav  $R_f$  értékek közel állanak egymáshoz, (kritikus pár), ezeket tehát nehéz különálló foltokra különíteni. A gyakorlat is azt mutatja, hogy ennek a két savnak az elválasztása papíron nehezen valósítható meg és ha szét is váltak a foltok, ez többnyire nem kvantitatíve történik.

A papírkromatográfiai vizsgálatok gyakorlati alkalmazása a zsíradékok vonalán már több hasznos útmutatást nyújt.

A zsíradékok szabad zsírsavtartalmának meghatározására már több módszert dolgoztak ki. Ezek közül egy gyakorlatilag jól reprodukálható saját módszert részletesen ismertetek (7).

A módszer kiindulási alapja az, hogy kapillár-aktív felületen, tehát pl. egy kromatografáló papíron vagy egyszerű laboratóriumi szűrőpapíron folyékony zsíradékkal foltot képezünk és ezt a foltot olyan fémsóoldatban áztatjuk, mely a szabad zsírsavakkal színes, vízben oldhatatlan fémszappant képez. A fellépő szín intenzitása ráeső vagy áteső fényben becsülve vagy mérve a szabad zsírsavak mennyiségével arányos. Ha a savkoncentráció nagyon csekély volt, akkor pl. a rézsó foltok nagyon halványak, esetleg szabadszemmel nem is láthatók. Ezért ún. erősítő vegyszerek váltak szükségessé, melyek közül jól bevált a káliumferrocianid, melyet ugyancsak vizes oldatban lehet használni. A sárga vérlúgsó a rézszappannal reakcióba lép és barna színű rézferrocianid keletkezik.

A rézszappanból keletkezett rézferrocianid lényegesen intenzívebb színű, mint a rézszappan. Ez módot ad arra, hogy a szabad szemmel nem látható igen kis mennyiségű rézszappant tartalmazó foltok sárga vérlúgsóval kezelve, jól látható barna foltokat eredményezzenek.

Méréseket végeztünk annak megállapítására, hogy milyen nagyságrendű zsírsavmennyiségek regisztrálhatók a fenti szín-reakciókkal.

Megállapítottuk, hogy 1 mikrocsepp, 1-es savszámú olaj (0,01 g olajban 50 gamma, azaz 0,00005 g szabad zsírsav) szűrőpapírra felitavva és az ismertetett vegyszerekkel kezelve még szabad szemmel is jól látható,

értékelhető színfoltot ad, tehát a reakció rendkívül érzékeny. Szemrevételezett méréseknél a pontosság 1 savszámértéken belül van, műszeres színméressel (reflektométer) tizedes értékekig fokozható a pontosság. A nagy savtartalmaknál szabad szemmel csak közelítő becsléseket lehet eszközölni. Reflektométerrel ezen a területen is pontosabb méréseket lehet végezni.

A módszer nagy előnnyel alkalmazható sorozatvizsgálatoknál, továbbá magnemesítési kísérleti anyagok vizsgálatánál, ahol módunkban áll pl. egy szem olajos magban levő olaj savszámát is könnyűszerrel megmérni.

A továbbiakban azokat a zsíradékvizsgálati módszereket ismertetjük, amelyek papírkromatográfiai kifejesztéseken alapulnak.

Ezek közül a következő vizsgálatokat fogjuk ismertetni:

1. Természetes zsíradékok zsírsavjainak szétválasztása és kvalitatív meghatározása;

2. zsíradékeverékek kvalitatív vizsgálatai  
zsírsavak kvantitatív meghatározása.

3. Zsíradékkísérő anyagok minőségi vizsgálatai (szterinek, tokoferol stb.).

4. Monogliceridek vizsgálatai.

5. Zsíradékok glicerid szétválasztása.

Természetes zsíradékok zsírsavjainak szétválasztására a Kaufmann által ajánlott jégecet + víz poláros oldószer alkalmas hidrofob stacioner fázisban, azaz szénhidrogénnel telített oldószerrel és impregnált kromatográfiai papíron (8).

Ilyen rendszerben a homolog zsírsavak a kaprinsavtól a sztearinsavig jól elválaszthatók. Ezen az úton haladva olyan munkamódszert dolgoztunk ki, mellyel nemcsak a telített homolog sor tagjait, hanem az azonos szénlánc-hosszúságú telítetlen savak egy részét is sikerült értékelhetően szétválasztani.

A természetes zsírsavkeverékeket egyes növényi olajokból állítottuk elő. A frissen sajtolt nyersolajokat alkoholos közegben kálilúggal szappanosítottuk el, a szappanos olda-



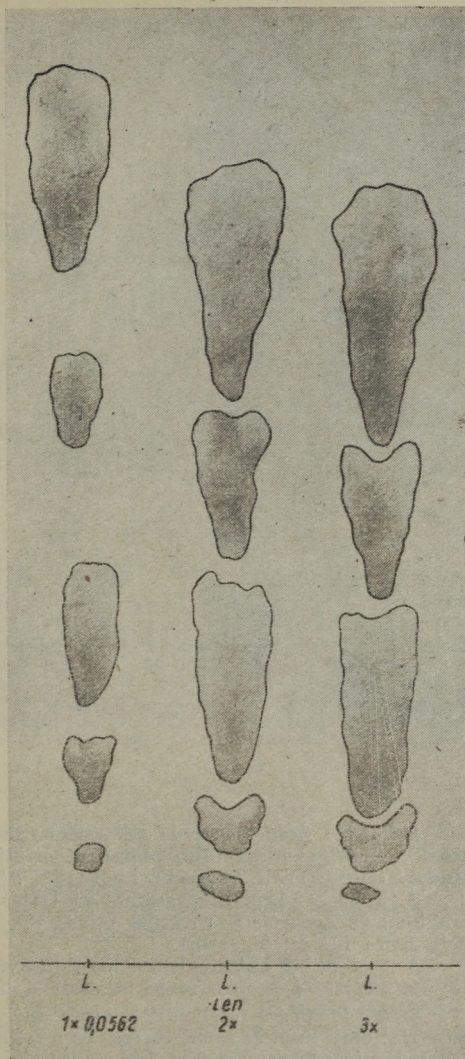
1. ábra

tokat vizes hígítás után sósavval kezelve felszabadítottuk a szabad zsírsavakat. Ilyen módon kb. 12 természetes zsíradék zsírsavkeverékeit állítottuk elő, melyekből 0,5, 1 és 2%-os benzolos oldatokat készítettünk. A benzolt előzőleg aromás alkatrészeitől kénsavas roncsolással, mosással, szárítással és lepárlással megtisztítottuk. A zsírsavak futtatását a Macherey—Nagel 62 és Sch. et Sch. 2043/b papírokon végeztük.

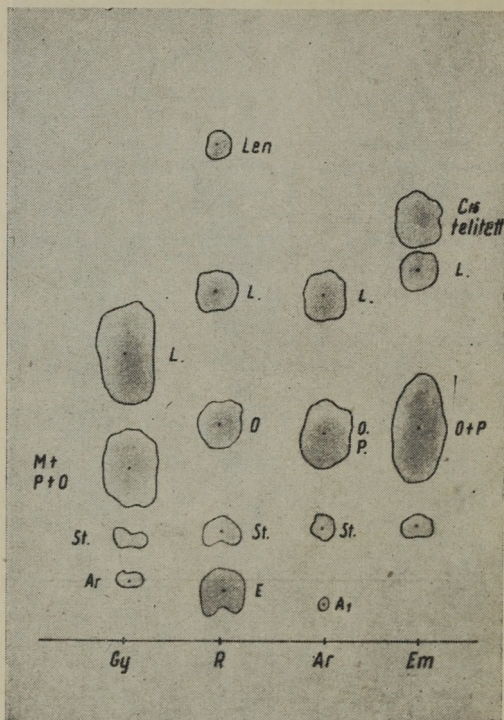
A papírok impregnálását (hidrofobizálását) Kaufmann szerint a petróleum frakciónak 190—220 C° közti részével végeztük az általa közölt előírás szerint. A futtató poláris oldószert (jégecet + víz) ugyancsak Kaufmann előírása szerint telítettük ugyanazzal a petróleum frakcióval, mellyel a papírt impregnáltuk.

A kromatografálást a szokásos méretű szekrényben lefelé vagy felfelé futtatással végeztük 20 C° körüli konstans hőmérsékleten. A papír startvonalára kalibrált kapillárpipettával vittük fel a vizsgálandó zsírsavoldatokat. A felvitt oldatok mennyisége 0,006—0,03 ml között változott. A telítetlen zsírsav kromatografálásokat szén-sav atmoszférában végeztük. A kész kromatogramokat szárítottuk, a foltok előhívását rézacetát és káliumferrocianiddal végeztük, illetve speciális esetekben a zsírsav telítettsége és telítetlensége vizsgálatoknál káliumpermanganát és rodamin B festéseket alkalmaztunk.

Az alábbi ábrák az eredeti kromatogramm fényképeken szemléltetik egyes természetes zsíradékok zsírsavkeverékének szelekcioit: Sch. et Sch.



2. ábra



3. ábra

Az L-nél (len) (2. ábra) azt látjuk, hogy igen kevés sztearin mutatkozik (2–3%), ennél több palmitin (5–6%), a linolnál lényegesen több olajsav (30% körül), kevesebb linol (15% körül) és sok linolén (40–45%).

A 3. és 4. kromatogramokon látjuk feltüntetve a gyapotot, repecet, arachisz és emberzsír, továbbá olíva, tök kromatogramokat. (Gy; R; Ar; Em; ill. d; T; stb.).

A gyapotnál különvált az arachinsav, sztearin, palmitin és olajsav együtt futott és szépen szelektálódott a linolsav.

Szinte ideálisan viselkedik a repace, mely 5 savra szelektálódott (eruka, sztearin, olaj, linol és linolénsavra) és a foltok nagyságrendje is kb. egyezik a repceszírsavösszetétel irodalmi adataival (45–47% eruka-, 1–2% palmitin-, 30–35% olaj-, 15–17% linol- és 1–2% linolénsav).

Ugyancsak jó szelektációt mutat az arachisz-zsírsavkeverék: arachin sztearin, palmitin + olajsav és linolsav. Ugyanaz látható az emberzsírnál is, ahol a linolsav mellett külön futott ki a C<sup>16</sup>-os telítetlen zsírsav is. Az olajnál a palmitin és olein szintén együtt futott, a töknél már szépen különvált, viszont a tengeri csiránál megint együtt látni a palmitin és olajsavat.

2043 b, papíron 75%-os ecetsavval lefelé futtatva 20 óra alatt. Felvitt zsírsavmennyiségek 0,37 mg.

Az 1. ábrán K-val jelölt kókusz zsírsavak közül a foltmagyságok is nagyjából érzékeltetik a főbb zsírsavak mennyiségi viszonyait. Alulról kezdve a sztearin, palmitin, mirisztin és laurinsav növekvő és jól szelektált foltjai láthatók az F (napraforgó) minta három foltra szelektálódott: legalul a telített zsírsavak (főként sztearinsav), felette az olajsav és palmitinsav és legfelül a linolsav foltja.

Bcs = búzacsíraolaj-zsírsav keverék: legalul sztearinsav, a következő szívalakú folt az olajsav és valószínűleg palmitinsav frakciót együtt tartalmazza, a felett a linolsav folt helyezkedik el és legfelül kis folt alakban erősebben telítetlen részt is feltételezhetünk (linolénsav).

Az Rcs = rizscsíraolajnál kb. ugyanaz a helyzet, mint a Bcs-nél.

Úgy látszik azoknál az olajoknál, melyekben a palmitin-olajsavarány nagy, e két zsírsav szétválása nehezen megy végbe és sok esetben csak nyújtott vagy két dimenziós futtatással választható szét.

Tudjuk, hogy a zsírsav komponensek  $R_f$  értékeinek alakulása sok körülménytől függ. Érdekes, hogy e sok körülmény között a kísérő alkatrészek szintén befolyásolják ennek értékűségét. Az 5. ábra szemléltetően mutatja a sztearin, palmitin, olaj és linolsav  $R_f$  értékeinek alakulását a különböző természetes zsírsavkeverékekben.

Legszembetűnőbb a palmitin és olajsav  $R_f$  értékeinek alakulása. Látjuk, hogy azoknál az olajoknál, melyeknél a palmitinsav az olajsavtól nem különült el, vagy tökéletlenül szelektálódott, az olajsav görbe a palmitinsav görbéhez közel simul.

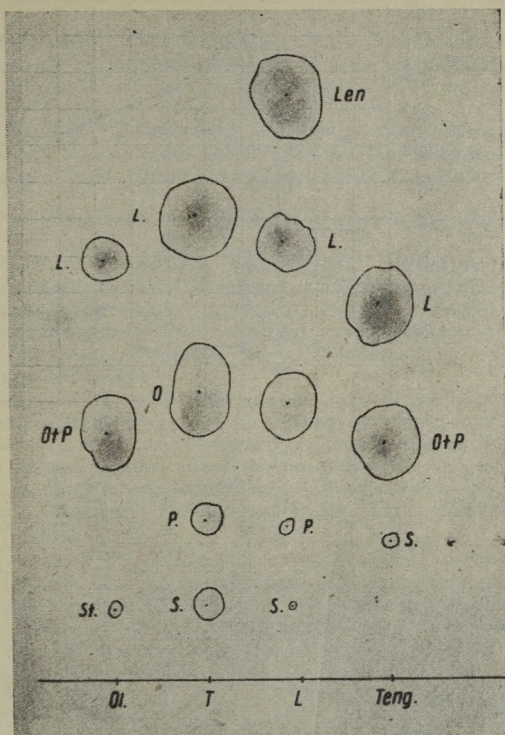
Ugyancsak leolvasható, hogy azokból a természetes zsírsavkeverékekből adódott a legjobb szelekcio, ahol az egyes zsírsav  $R_f$  értékpontjai, ill. a görbe legtávolabb fut egymástól.

Mind a négy zsírsavban jó szétválasztás csak a napraforgónál és lennél tapasztalható. A sztearin, palmitin + olaj és linolsav nagyságrendben viszont a többi olaj is szétválasztást mutat.

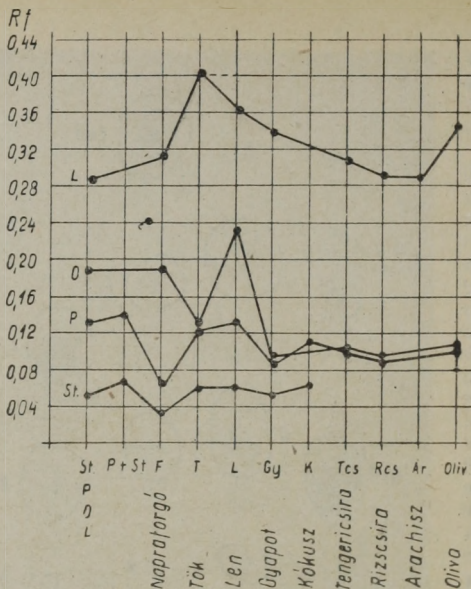
A legtöbb természetes olajzsírsavkeverék — mint a már ismertetett kromatogrammból is megállapítható — jellegzetes kromatogrammot ad. Ebből önként következik, hogy ha a természetes zsíradékokat egymással összekeverjük, az eredeti kromatogrammok torzulást szenvednek, illetve új zsírsavfoltok jelenhetnek meg. Egyelőre két zsíradékból készített keverék kromatogrammjait vizsgáltuk oly módon, hogy napraforgóolajhoz 10%-ban különböző olajokat kevertünk.

Jellegzetes különbséget látunk a 6. ábrán, ahol különösen a len, kókusz és repecelajok jelenléte újabb zsírsavfoltok megjelenésével (linolén, laurin, eruka) árulják el a napraforgóolajban levő jelenlétüket.

Az olivánál az olaj és linolsav foltok eltolódásában látszik a különbség.

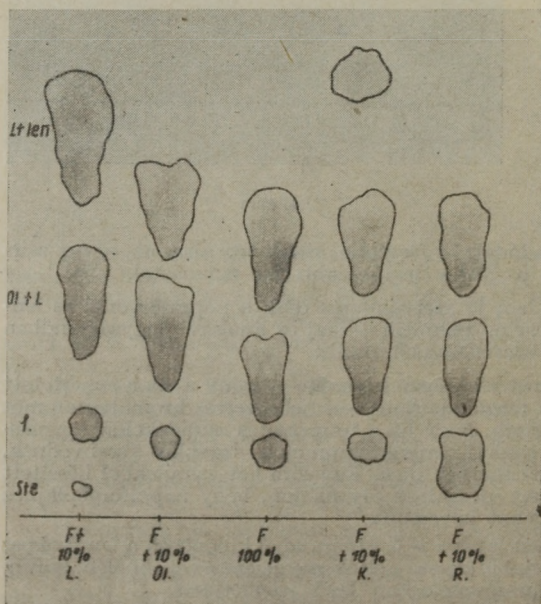


4. ábra



5. ábra

Jól tudjuk, hogy a zsíradék-elemzések legnehezebb feladata közé tartozik keverék-zsíradékok esetén az idegen olajok minőségi kimutatása különösen akkor, ha az idegen zsíradékokra nem ismerünk speciális kémiszert, vagy értékjelzőt. Leginkább a refrakció, jódszám és telített zsírsavak mennyisége az a három értékmérő, mellyel idegen zsíradékok nagyobb mennyiségű jelenléte megállapítható. A jelenlévő idegen zsíradék minőségét azonban a legtöbb esetben még így sem tudjuk eldönteni.



6. ábra

Az ismertetett kromatografiai módszerrel mint látjuk, aránylag már kis idegen olajmennyiség és minőség jelenléte is egyszerű eszközökkel megállapítható. A kromatogramokból látható, hogy sok esetben a torzulások és feltelődések olyan mértékűek, hogy még kisebb mennyiségű szennyezés esetét is meg lehet állapítani és az idegen olaj minőségét eldönteni.

A továbbiakban megpróbáltuk a kromatogramok kvantitatív kiértékelését. Természetesen itt csak azok a zsíradékok jöhetnek tekintetbe, melyeknél a kromatografiai futtatásoknál a főkomponensű zsír-



savak éles szelektációt mutatnak. Az előzőek alapján erre többek között a napraforgóolaj alkalmas.

A mennyiségi értékelésnek több útja lehetséges: 1. A zsírsavfoltok szeparálása és mikro-titrálása, fémszappanoképzés és a fém kvantitatív meghatározása, retenciós analízis, a foltok fotometrikus színerősség mérése stb.

Mi először ezektől eltérő utat választottunk. Fischer és munkatársai aminosavaknál megállapították, hogy lineáris összefüggés áll fenn a kromatogram foltok területe és a kiindulási aminosavkoncentrációk logaritmusai között.

Megállapítottuk, hogy a zsírsavakra is alkalmazható ez a törvény-szerűség (9).

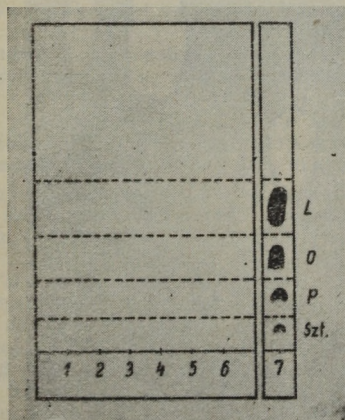
Pontosabb és megbízhatóbb kvantitatív módszernek bizonyult a papírkromatografiai elválasztással kombinált mikrotitrimetrikus módszer (10). A módszer azon alapszik, hogy a jól kifejlesztett kromatogramokból kivágjuk a zsírsavfoltoknak megfelelő darabokat és a zsírsavakat oldószerezrel kivonva, titrálással határozzuk meg a mennyiségét.

A módszer részleteiben a következő:

20 cm széles 35 cm hosszú 2043/b papírra egymástól 2,5 cm távolságra több startpontot jelölünk meg a papír alsó végétől 3 cm-re létesített startvonalra. Ezekre a startpontokra 0,06 ml térfogatú mikropipettával felvisszük az 1%-os benzolos zsírsavoldatot. Startpontonként tehát 0,6 mg zsírsavat vittünk fel, mely 6 startpontra átszámítva 3,6 mg összes zsírsavnak felel meg, azaz még a legkisebb mennyiségben levő sztearinsavra is kb. 0,1 mg mennyiséget jelent.

A kromatogram kifejlesztését 48—72 óra közötti időtartamig végezzük 20—21 °C hőmérsékleten 80—85%-os ecetsavban fordított fázisban. A mi esetünkben 85%-os ecetsav használata mellett 56 órai futtatás volt szükséges. Kromatografálás után a papírról levágjuk a legszélső startpontnak megfelelő csíkot, desztillált vízzel savmentesre mossuk, majd a szokásos módon rézacetáttal, illetve káliumferrocianiddal a zsírsavfoltokat előhívjuk. Az eredeti papírt ezalatt visszahelyezzük a kromatografáló szekrénybe anélkül, hogy a futtató ecetsavba merítenénk be. Erre az elővigyázatosságra azért van szükség, mert ha az előhívott csíkon a zsírsavfoltok még nem mutatnak kielégítő szétválást, módunk legyen az eredeti papíron a futtatást tovább folytatni. Amennyiben a próba kielégítő, végérvényesen kivesszük a szekrényből az eredeti papírt, vákuum exsikkátorban kiszáritjuk (kb. 1/2 óra). A száraz, de még ecetsavszagú papír mellé fektetjük az előhívott próbacsíkot és pontosan megjelöljük a 7. ábrán felüntetett módon az egyes zsírsavfajták helyzetét.

A keresztcsíkokat megjelölve szétvágjuk, majd apró négyzetekre vágjuk és külön-külön megjelölt 100 ml-es lombikba helyezve desztillált vízzel ecetsavmentesre mossuk; ez ötszöri mossással

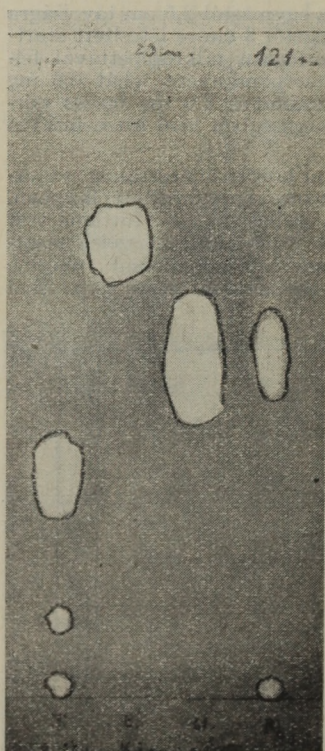


7. ábra

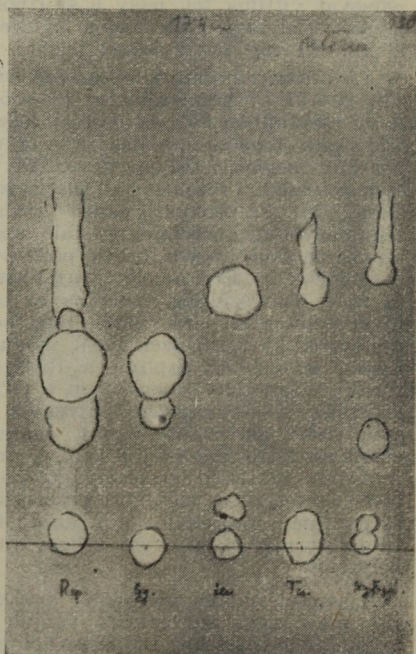
Zsírsvajta	Fogyott n/200 NaOH ml	Számított zsírsvajta mg	Zsírsvajta % tritimetikusán számított összes zsírsvajtra (3,5141 mg)
Sztearinsav.....	0,035	0,04970	1,4
Palmitinsav.....	0,134	0,17152	4,9
Olajsav.....	0,838	1,19568	34,0
Linolsav.....	1,498	2,09720	59,6
Összesen.....	2,515	3,51410	99,90

(20—20 ml desztillált vízzel) elérhető. Utolsó mosás után a vizet jól ki-csepegtetjük, majd 10 ml absz. alkohollal, a továbbiakban 5—5 ml 1 rész benzol + 2 rész absz. alkoholkeverékkel négy ízben 50—60 C°-on kiextraháljuk a papírdarabkákból a zsírsvajtaikat és az extraktumokat külön megjelölt tiszta száraz 100 ml-es Erlenmayer lombikban gyűjtjük össze.

Minden egyes zsírsvajta mellé vak-próbát is beállítunk, melyet teljesen azonos körülmények között készítünk el



8. ábra



9. ábra

(azonos nagyságú üres papíresík, ill. darabkák, ugyanolyan vizes mosás és azonos oldószer mennyiségekkel előállított extrakt stb.).

Az extraktumokhoz 4 mikrocsepp 1%-os bromfenolkék alkoholos oldatát adva n/200 vizes NaOH-val mikrobürettából a zsírsavakat meghatárjuk. Először mindig a vakpróbát titráljuk határozott zöldes szín fel-lépéséig, majd ugyanilyen színig titráljuk a zsírsavat tartalmazó extraktot. A két érték különbsége adja a kérdéses zsírsav semlegesítéséhez szükséges n/200 NaOH ml-einek számát.

Egy hazai napraforgóolajjal végzett vizsgálati eredményeket a II. táblázat mutatja.

A módszer kidolgozásával kapcsolatban sorozatvizsgálatokat végez-tünk és kontrollképen Kaufmann-féle jódszám-rodánszám alapján törtenő számításos eljárással hasonlítottuk össze az eredményeket. Vizsgálandó természetes zsírsavkeverék az előbbieken említett napraforgó volt.

Megállapítottuk, hogy amennyiben a kromatografiai fejlesztésekkel a zsírsav komponensek jól szétválaszthatók, a vizsgálati eredmények teljesen függetlenek attól, hogy a kromatografálást milyen körülmények között végeztük. A módszer arra is alkalmas, hogy semleges zsiradékokban a szabad zsírsavak mennyiségét meghatározzuk.

#### *A zsiradék kísérő anyagok papírkromatografiai vizsgálatai*

Átfogó egységes módszert eddig nem ismert az irodalom. Vannak eljárások, melyek külön a szterinek szétválasztására, mások a karotionidok továbbá E-vitamin szeparálására és identifikálására vonatkoznak.

Saját vizsgálati módszerünket ismertetem (11), mely alkalmas arra, hogy a zsiradékok el nem szappanosítható részéből a szterineket és az E-vitamint elkülönítsük és minőségileg meghatározzuk.

Vizsgálatra néhány ismertebb olaj el nem szappanosítható részeit különítettük el az ismert analitikai módszer alapján. Az anyagot 1%-nyi mennyiségben kénsavval tisztított 70—80 C°-on forró petroléterben oldottuk.

Papír: petroleumfrakcióval impregnált Macherey—Nagel 62 és 2043 B-s Sch et Sch, a kifejlesztő oldószer általunk kikísérletezett keverék volt, mely 80% etilalkohol 8% izopropilalkohol és 12% víz keverékéből állt. Az oldószert használat előtt szintén petróleumfrakcióval telítettük. A foltokat Rodamin-B-val hívtuk elő.

A 8. ábra a tokoferol (bázis), ergoszterin, sztigmaszterin és búzacásra készítmény foltjait mutatja. Az egyes modellek között az  $R_f$  értékek lénye-gesen eltérnek egymástól.

A tokoferol készítmény nem látszik egységesnek, három külön folt-ban jelent meg, valószínű, hogy  $\alpha$ ,  $\beta$  és  $\delta$  tokoferolból állt, mely komponen-sek közül a startponthoz közelálló az  $\alpha$ , a felette levők a  $\gamma$  és  $\delta$  formáció.

Az ergoszterin magas  $R_f$  értékkel egy foltban futott ki, ugyancsak a sztigmaszterin is. A búzacásra el nem szappanosítható részében legalul a tokoferollal azonos  $R_f$  értékű folt látszik, e felett a sztigmaszterin helyén van nagy éles folt.

A 9. kromatogram különféle olajok el nem szappanosítható részeinek sztearin és tokoferol kromatogramjait szemlélteti. Ezek szerint mind az öt olajféleség tokoferoltartalmú és pedig az  $\alpha$  formációból a legnagyobb mennyiséget a tengericsíra, gyapotmagolaj, repace tartalmazza. A lenben és napraforgóban az  $\alpha$  formáció mellett  $\beta$  és  $\gamma$  formáció is feltételezhető. A szterinfoltok közül a repace és gyapot foltjai azonos helyeken vannak. Úgy látszik a gyapotmagolaj szterinjai is főképpen a brassikaszterinhez hasonlóak, vagy ezzel azonosak. A len, tengericsíra és napraforgó szterinjai egymáshoz közelálló  $R_f$  értékekkel jelentkeznek.

*Folytatjuk.*