

Zsírsvmetilésztetek képződésének reakciómechanizmus vizsgálata

(Gyors metilezési eljárások gázkromatográfiás célra)

JÁKY MIKLÓS

(Délkelet-dunántúli Mezőgazdasági Kísérleti Intézet)

Iregszemce

Érkezett: 1969. március 5.

Bevezetés

A zsírsavas metilésztetek képződésével, előállításával sok tanulmány foglalkozik. Különösen a zsírsavak gázkromatográfiás vizsgálatának az elterjedésével kapcsolatban vált ez a téma időszerűvé, hiszen köztudomású, hogy a vizsgálatokhoz a zsírsavakat előzőleg metilésztterékké kell átalakítani (1–13).

A téma fejtegetésénél tulajdonképpen a zsíradékok hidrolízisének a különböző fajtáival kellene foglalkozni, tehát a zsírbontással és a szappangyártással is, továbbá az átészterezés és észterezés folyamataival is, azonban a témát célszerű leszűkíteni a zsíradékhidrolízis egyik kisebb területére, valamint az észterezés és átészterezés egy-egy fajtájának a tanulmányozására.

Kísérleteink célja részben a leszűkített területeken a hidrolízis mechanizmusának a vizsgálata, az észterezés és átészterezés speciális eseteinek tanulmányozása és végül olyan gyakorlati zsírsvmetilésztelő-előállítási eljárások kidolgozása volt, amelyek a legkíméletesebb körülmények mellett biztosítják a nagyobb telítetlenségű, bomlékony zsírsavaknak is bomlás nélküli észterképződését.

Kísérleti rész

Vizsgálatainkhoz két utat választottunk, az egyik a természetes zsíradékoknak hidegúti közvetlen átészterezése metilésztterré. A másik út a természetes zsíradékoknak hidegúti elszappanosítási folyamatával való zsírsav előállításához vezet, majd a továbbiakban a szabad zsírsavaknak hidegúti észterezésével a metilésztetek előállítására a cél.

Az első úton a *Henriques* [14] elvből indultunk ki, e szerint alkoholos közegben homogén lúgos oldatban a zsíradékok rövidebb-hosszabb idő alatt nyugalmi állapotban is teljesen elszappanosodnak. A folyamat – megfelelő lúgfelesleg alkalmazásával – annyira kvantitatív, hogy az elszappanosítási szám (Köttsdorfer szám) is meghatározható ilyen módon. A módszer kivitelezésénél módosítottuk a *Henriques* előírást, ugyanis ő normál etanolos nátronlúgot használt elszappanosításhoz; miután a vizsgálandó zsíradék 3–4 g-ját 25 ml petroléterben feloldotta, ehhez 25 ml norm. etanolos nátronlúgot adott. Ebben az esetben a lúgfelesleg kb. 50%, az oldat nátriumhidroxid koncentrációja pedig 2%, ami a teljes elszappanosításhoz ugyan elegendő, azonban az elszappanosítási reakció végső szakaszát vontatottá teheti. Előfordulhat az is, hogy az eredeti előírásban szereplő 96%-os alkohollal készített norm. nátronlúgos oldat a petroléterrel nem elegyedik tökéletesen, ilyenkor az oldat két fázisra különülhet, ez pedig azt jelenti, hogy az elszappanosodás tökéletlenül megy végbe.

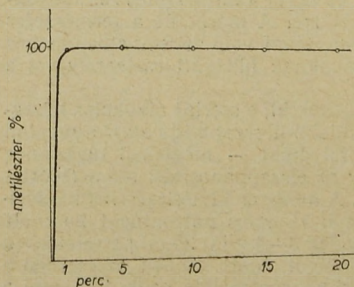
A *Henriques* elvet felhasználva, az eljárást úgy módosítottuk, hogy a tiszta, friss zsiradékot peroxidmentes etiléterben oldottuk, majd 5%-os absz. metanolos káliúgot adtunk hozzá, átráztuk, mikoris homogén oldat keletkezett. Ilyen oldatban a zsiradék elszappanosodása szobahőmérsékleten bizonyos idő elteltével végbement. Mint a továbbiakban látni fogjuk, gyorsabban megy végbe az elszappanosodás, ha 10%-os absz. metanolos káliúgot alkalmazunk.

Fortini, *Anderson* és *Brown* már régebben megállapította, hogy alkoholos alkáliakkal történő zsiradékhidrolizisnél közbülső terméként mindég keletkeznek zsírsav-metil- vagy etil-észterek, aszerint, hogy a lúg oldásához milyen alkoholt használtunk. Később ezt *Toyama*, *Tsuchiya* és *Ishikawa* is igazolták kísérleteikben, arról azonban nem tesznek említést, hogy az átmeneti észterképződés (átésztereződés) mennyi idő alatt és szelektíve vagy inszelektíve megy e végbe.

Az alkoholos közegben való elszappanosításhoz nyers sajtolt, friss és szűrt napraforgóolajat használtunk, a hidrolízis folyamatát pedig azonos koncentráció és hőmérsékleti viszonyok mellett az idő függvényében vizsgáltuk.

Módszer: kémcső sorozat mindegyikébe 0,2 g frissen sajtolt napraforgóolajat mérünk be, majd 2–2 ml peroxidmentes éterben oldjuk, azután 2–2 ml 5%-os metanolos káliumhidroxid oldatot keverünk hozzá, majd meghatározott időközben az átészterezési, illetve hidrolízis folyamatot megszakítjuk oly módon, hogy 2 ml vizet adunk a homogén oldathoz. A reakcióelegy két részre különül: felül helyezkedik el az éteres réteg, amely oldva tartalmazza az esetleg még változatlanul visszamaradt olajat és a képződött metilésztert, míg a vizes metanolos lúgos részben az olaj hidrolizált zsírsavjai oldott kálizsappan alakban vannak jelen. Az átészterezési, ill. hidrolízis folyamatot 1, 5, 10 perc, majd ezután óránként szakítottuk meg és vizsgáltuk a metilészter, illetve zsírsav képződést.

A felső réteghez még 2 ml petrolétert adtunk, majd választótölcsérben a két réteget elválasztottuk. Az éter-petroléteres réteget vízzel mostuk, majd további vizsgálatok céljaira használtuk fel (vékonyrétegű lapkromatografia és gázkromatografia). Az alsó metanolos vizes réteget 5 ml petroléterrel átráztuk, majd az elkülönített vizes-metanolos réteget 50–60 fok C-ra felmelegítettük, sósavval felszabadítottuk a zsírsavakat, ezeket 4 ml petroléterben felvettük és ezt az oldatot használtuk fel a továbbiak folyamán kromatografiai vizsgálatainkhoz.



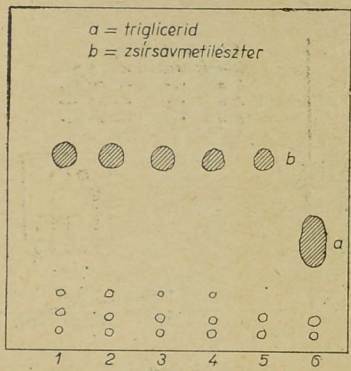
1. ábra

A napraforgóolaj átészterezése zsírsavmetilészterre metanolos lúgos közegben 20 fok C-nál

A folyamatot szemléltető vizsgálati eredményeket az 1., 2., és 3. ábra tünteti fel

Az 1. ábrából megállapítható, hogy az átészterezés szobahőmérsékleten homogén fázisban szinte pillanatok alatt kvantitatíve végbemegy.

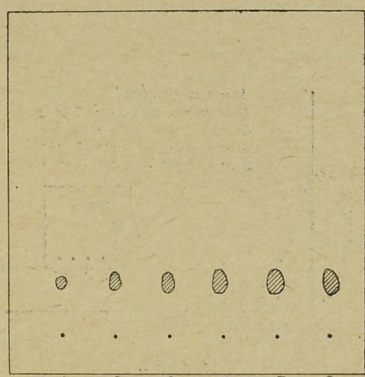
A 2. és 3. ábrából megállapítható, hogy a napraforgóolaj szelektíve észtereződik át metilészterre és ennek megtörténte után indul csak meg a metilészterek elszappanosodása, ez a folyamat már az első 5 percben megindul.



a = triglicerid
 b = zsírsavmetilészter
 1 = átészterezési idő 1 perc
 2 = -"- -"- 5 -"-
 3 = -"- -"- 10 -"-
 4 = -"- -"- 15 -"-
 5 = -"- -"- 20 -"-
 6 = napraforgóolaj
 „Kieselgel 6 Stahl“ 0,3 mm, kifejlesztés :
 petroléter-éter-ecetsav / 90:10 : 1 v/v/
 felvitel: 500 mikro g., előhívás jódgáz.

2. ábra

A zsírsavmetilészter-képződést szemléltető vékonyrétegű lapkromatográfias kép



1 = átészterezési idő 1 perc
 2 = -"- -"- 5 -"-
 3 = -"- -"- 10 -"-
 4 = -"- -"- 15 -"-
 5 = -"- -"- 20 -"-
 6 = napraforgómetilészter

3. ábra

A hidrolízis folyamatot szemléltető vékonyrétegű lapkromatográfias kép

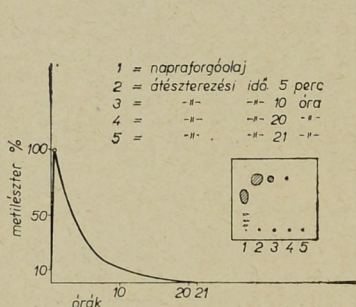
A 4. ábrán feltüntetett diagram az észterképződés és hidrolízis folyamat mennyiségi értékeit szemlélteti. Megállapítható, hogy a metilészter elszappanosodás, tehát a metilészter fogyása, ill. az ezzel összefüggő zsírsavképződés növekedése nem egészen lineáris görbékkel ábrázolható. A felezési idő az adott viszonyoknak megfelelően kb. 7 óra alatt következik be, a teljes elszappanosodás ideje pedig 40–41 óra közé esik.

A kísérletet megismételtük nagyobb lúgkoncentráció alkalmazásával: 10%-os lúgot vettünk. A folyamatot az 5. ábra szemlélteti.

Az 5. ábrából látható, hogy itt a görbe lefutása meredekebb és ha az előző ábrához viszonyítva megnézzük az időbeli különbségeket, úgy azt látjuk, hogy a metilészter képződés reakciójában nem lehetett különbséget tenni, ellenben a metilészter elszappanosodása fele annyi idő alatt ment végbe, mint 5%-os lúg alkalmazásával. A görbe lefutás itt sem tekinthető lineárisnak, azaz a felezési idő 3 óra, viszont a reakció teljes lefolyásához 20–21 óra vált szükségessé.

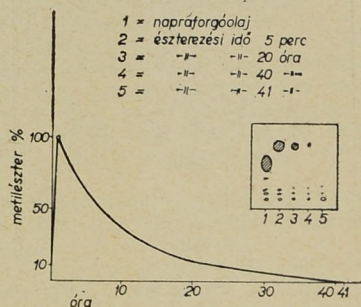
A továbbiakban vizsgáltuk az elszappanosodás folyamatát olyan szempontból, hogy a metilészter növekvő elszappanosodásával a visszamaradt metilészter zsírsavösszetételében megváltozik-e az egyes komponensek aránya és ha igen, ez a megváltozás milyen mértékű. A zsírsavösszetételi vizsgálatokat Giede f. keletnémet gázkromatográfias készüléken végeztük (Chromosorb W 60 mesh,

15% dietilén-glikol-succinattal impregnálva, lángionizációs detektor, vívdőgaz argon, hőfok 180 fok C, gázsebesség 40 ml/perc, anyagfelvitel 0,2 mikroliter). A gázkromatografiás vizsgálatokhoz az 1., 2., 3. ábrák értékeléséhez használt napraforgómetilészterek különböző elszappanosodási fokú mintáit alkalmaztuk.



4. ábra

A napraforgóolaj átészterezési és elszappanosodási folyamatának diagramja 2,5%-os lúg koncentráció mellett



5. ábra

A napraforgóolaj átészterezési és elszappanosodási folyamatának diagramja 5%-os lúg koncentráció mellett

Az eredményeket az 1. táblázat szemlélteti.

1. táblázat

Különböző fokú elszappanosodás után vett napraforgómetilészterek zsírsavösszetétele

Minta	Elszappanosodási idő, megszakítva	Zsírsavösszetétel %			
		Palmitin	Sztearin	Olaj	Linol
1 sz.	1 perc	4,9	3,9	19,3	71,9
3 sz.	30 perc	5,3	3,9	19,3	72,2
6 sz.	2 óra	5,—	4,—	19,6	71,4
9 sz.	10 óra	4,7	4,4	19,7	71,2
10 sz.	20 óra	4,7	4,—	19,4	71,9

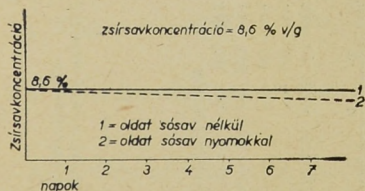
A táblázat adataiból megállapíthatjuk, hogy az elszappanosodás előrehaladásával a metilészter zsírsavjai százalékos arányuknak megfelelően szappanosodnak el, azaz a különböző lánc hosszúságú és telítetlenségű zsírsavak hidrolízise terén nem volt tapasztalható szelektivitás.

A téma második részében a már ismertetett Henriques elv alapján hidegűton előállított szabad zsírsavaknak a metilészterekké történő közvetlen észterezésével foglalkoztunk.

Mint említettük, a hideg elszappanosítás alkoholos közegben órák alatt kvantitatíve végbemegy. Ha az elszappanosodott zsíradék alkohol-etiléteres oldatát vízzel felhígítjuk (legmegfelelőbb az 1:1 arányú hígítás), úgy a vizes metanolos zsírsavszappan rétegtől az éteres rész külön válik és ebben a rétegben maradnak oldva a természetes zsíradékok el nem szappanosítható alkotórészei (szterinek, vitaminok, lipokromok, szénhidrogének stb). Ha tehát a teljes elszappanosodás után ezt a réteget leemeljük és a visszamaradt vizes metanolos

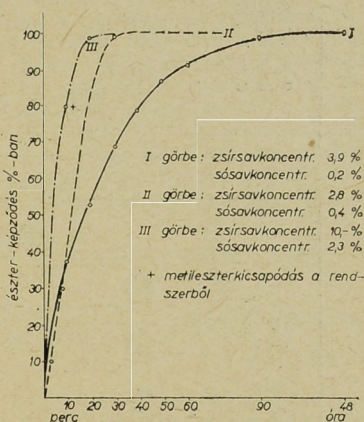
szappanoldatot még egyszer elegendő petroléterrel kirázzuk, úgy nagy tisztaságú zsírsavakat nyerhetünk a szappanoldatból. A szappanoldatból való zsírsavfelszabadítás és kinyerés ismert módszereit alkalmaztuk és végeredményben hideg úton kiméletes körülmények mellett állítottuk elő a szabad zsírsavakat. Kiindulási zsíradékunk ez esetben is frissen sajtolt, vagy hidegen extrahált napraforgóolaj volt.

Elképzelésünk az volt, hogy a kiméletes körülmények mellett előállított zsírsavakat a továbbiakban hideg úton észterezzük metilészterré és ennek a folyamatnak a mechanizmusát vizsgáljuk közelebbről. Kísérleteinket egy régebbi észlelésünk alapján végeztük, amely szerint a tiszta zsírsavak metanolban vagy etanolban jól oldódnak. Ha azonban egy ilyen stabil zsírsavoldathoz sósavat vagy kénsavat adunk, úgy ezeknek már egészen kis mennyisége katalitikus reakciót indít el és már szobahőmérsékleten megindul a zsírsav és alkohol között az észterképződés.



6. ábra

Sósav nyomokat tartalmazó metanol-zsírsav oldat észterezési görbéje



7. ábra

Sósavas metanol-zsírsav oldatok észterezési görbéi az idő függvényében

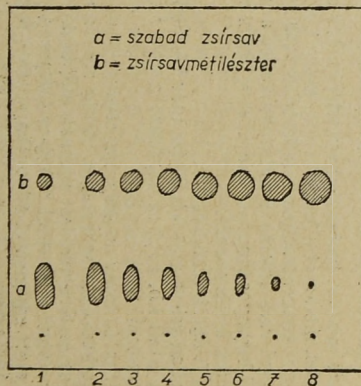
E megfigyelésünkből kiindulva növeltük az alkoholos zsírsavoldat sósavkoncentrációját és azt tapasztaltuk, hogy ezáltal az észterezési reakció gyorsul.

A tiszta zsírsavak oldásához általában abs. metanolt használtunk és a sósavkoncentráció változtatásához olyan abs. metanolt alkalmaztunk, melyet előzőleg száraz sósavgázzal telítettünk. Az ismert koncentrációra beállított oldatok aliquot részeiben 0,1 norm. metanos káliúggal való titrálással határoztuk meg a szabad zsírsav mennyiségének csökkenését bizonyos időközökben, illetve ebből számítottuk a képződött zsírsavmetilészterek mennyiségét.

Kísérleti eredményeinket a 6. és 7. ábrák szemléltetik.

A 6. ábrából látható, hogy a szabad zsírsavnak kb. 5%-a már két nap alatt metilészterré alakul és 7 nap alatt az érték kb. 15%-ra nő, tehát a sósav katalitikus hatása már nyomokban is érvényesül.

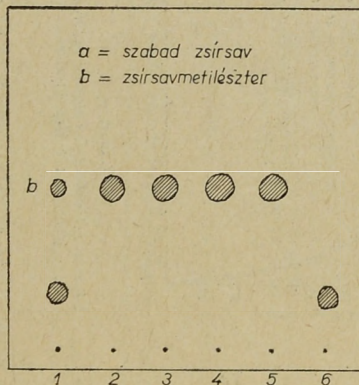
A 7. ábra görbéiből megállapítható, hogy a sósavkoncentráció növelése szinte ugrásszerűen fokozza az észterképződés sebességét. Amíg sósavnyomok még napok múlva is csak 10–15%-os észterképződést idéznek elő, addig 0,2% sósavtartalom a folyamatot másfél óra alatt már közel 100%-os észterképződésig viszi előre, 0,42% sósav már fél óra alatt egyensúlyi állapotba hozza a reakciót, míg 2,3% sósavtartalom a folyamat időtartamát 20 percre csökkenti.



1 = észterezési idő 10 perc
2 = -"- -"- 20 -"-
3 = -"- -"- 30 -"-
4 = -"- -"- 40 -"-
5 = -"- -"- 50 -"-
6 = -"- -"- 60 -"-
7 = -"- -"- 90 -"-
8 = -"- -"- 24 óra

8. ábra

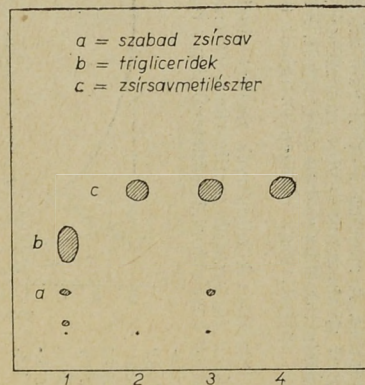
A 7. ábra I. görbéjéhez tartozó vékonyrétegű lapkromatográfiás kép



1 = észterezés ideje 10 perc
2 = -"- -"- 30 -"-
3 = -"- -"- 90 -"-
4 = -"- -"- 180 -"-
5 = -"- -"- 24 óra
6 = zsírsavmetilészter

9. ábra

A 7. ábra II. görbéjéhez tartozó vékonyrétegű lapkromatográfiás kép



1 = napraforgóolaj
2 = olajos kicsapódás 10 perc után
3 = tiszta metanolos oldat, az olajos rész kiválása után
4 = zsírsavmetilészter

10. ábra

A 7. ábra III. görbéjéhez tartozó vékonyrétegű lapkromatográfiás kép

A 7. ábra egyes görbéihez tartozó vékonyrétegű lapkromatografiás képek szintén jól szemléltetik a reakció időbeli lefolyásának menetét (I. görbéhez a 8. ábra, II. görbéhez a 9. ábra és a III. görbéhez a 10. ábra tartozik).

Megbeszélés

A kísérleti rész eredményei alapján a napraforgóolajnak alacsony hőmérsékleten alkoholos közegben lúgok hatására végbemenő hidrolízis-mechanizmusra lehet következtetni.

Fortini, Anderson és Brown az előbbieken már említett azon megállapítása, hogy „alkoholos alkáliakkal történő zsiradék-hidrolízisnél közbülső terméként mindig keletkeznek zsírsav-etil vagy metil-észterek”, valóban helyesnek bizonyult, de ki kell egészíteni a megállapításaikat azzal, hogy a zsiradék-hidrolízis kizárólag zsírsavészter-képződésen keresztül történik, azaz az alkoholos lúgos közegben és homogén fázisban a zsiradékot alkotó trigliceridek szinte pillanatok alatt kvantitatíve átésztereződnek zsírsav-metil- vagy etil-észterre (1. ábra) és a továbbiakban ez a primier termék szappanosodik el lúgos közeg hatására. Ezzel is magyarázható az a régi megfigyelés, hogy alkoholos közegben az elszappanosodás lényegesen gyorsabban megy végbe, mint vizes közegben, ugyanis a zsírsav-észterek könnyebben szappanosodnak, mint a trigliceridek (forralással már szódaoldat is elszappanosítólag hat). A folyamat tehát két szakaszban megy végbe:

1. Triglicerid + alkohol + KOH $\xrightarrow[20 \text{ fok C}]{\text{homogén fázis}}$ Zsírsavészter + glicerin
2. Alkoholos zsírsavészter + KOH $\xrightarrow[20 \text{ fok C}]{\text{homogén fázis}}$ Zsírsavas káliumsó +
+ alkohol.

Az 1. fázisnál a lúg tehát csak mint átészterező katalizátor hat, és szinte pillanatok alatt észtereződik át a triglicerid, úgy, hogy közbülső terméként még di- és mono-gliceridek átmeneti képződését sem sikerült kimutatni.

A reakció 2. szakaszában történik azután a zsírsavak alkoholos észtereinek feles lúg hatására a hidrolízise, amely egyszerű biner reakció. Ez a második szakasz 20 fok C-nál homogén fázisban már hosszabb lefolyású (4. és 5. ábra). A napraforgóolaj átészterező reakciójának időbeli lefolyását a kísérleteknél használt két különböző lúgkoncentráció azonos módon katalizálta, mindkét esetben pillanatok alatt ment végbe a metilészterre történő átalakulás. Ez a felismerés tette lehetővé, hogy a természetes zsiradékból kiméletes körülmények között hideg úton percek alatt metilészterek készíthetők és felhasználhatók pl. zsírsavak gázkromatografiás vizsgálataihoz, vagy preparatív célokra.

A kísérleti részben közölt metodika egyúttal alkalmasnak látszott annak a kérdésnek az eldöntésére is, hogy a metilészter-keverékben jelen levő palmitin-, sztearin-, olaj- és linolsav-metilészter elszappanosodása szelektíve, vagy pedig az alkotó zsírsavak százalékos megoszlásának arányában megy e végbe. Erre vonatkozó adatokat az 1. táblázat szemlélteti, ezekből megállapítható, hogy a kezdeti átészterezési stádiumból eredő napraforgómetilészter és az elszappanosodás különböző állapotában vett metilészter minták zsírsavösszetétele között nincs szignifikáns különbség, tehát a napraforgózsírsav-metilészterek alkoholos közegben, homogén fázisban, szobahőmérsékleten végbemenő elszappanosodása nem szelektíve megy végbe, azaz az elszappanosodás az eredeti zsírsavösszetételnek megfelelően halad előre egészen a teljes hidrolízisig. Tehát a vizsgált esetben a négy különböző zsírsav %-os egyensúlya a hidrolízis folyamán nem változott meg.

A téma második részében vizsgáltuk a nagy tisztaságban, hideg úton előállított napraforgózsírsavak metanollal való észterezésének a mechanizmusát. Itt azt tapasztaltuk, hogy a metanol a zsírsavaknak jó oldószere, ellenben ha a metanol ásványi savak nyomait tartalmazza (sósav, kénsav stb.), úgy az ilyen metanol már nem tekinthető csak oldószernek, hanem reakciós közegnek, amennyiben az ásványi savak katalitikus hatására a metanol és szabad zsírsavak között észterezési reakció indul meg.

Úgy találtuk, hogy a reakció sebességét és teljes lefolyását a metanol sósav tartalmának növelésével nagy mértékben lehet növelni. Amíg sósav nyomok még napok múlva is csak kb. 15–20%-os metilészterképződést katalizálnak, addig 0,42% sósav tartalom már fél óra alatt egyensúlyi állapotba hozza a reakciót, közel 100%-os lefolyásban. Érdekes, hogy 10% zsírsavat és 2,3% sósavat tartalmazó metanolban a frissen tisztá oldat néhány perc alatt erősen megzavarosodik, olajos kicsapódás tapasztalható, amely tiszta zsírsavmetilészternek bizonyult. Ezt a jelenséget szemlélteti a 10. ábra.

A szabad zsírsavaknak hideg úton való metanolos észterezésénél szintén vizsgáltuk a különböző fázisokból eredő metilészterek zsírsavösszetételét. Itt ugyanazokat az eredményeket kaptuk, mint az átészterezésnél, ill. részleges hidrolízis után nyert metilészterek esetében. Tehát az észterezés sem történik szelektíve, hanem az eredeti zsírsavösszetétel arányában.

Ez a felismerés a gyakorlat szempontjából is fontos, ugyanis a zsírsavak metanolos észterezésének a teljes lefolyását nem is kell megvárni, hanem pl. nagy sósav koncentráció mellett (pl. 1–2% sósav g/v) a folyamat fél óra után már megszakítható és a képződött zsírsavmetilészter gázkromatografias célokra felhasználható. A gázkromatografias célokra történő hidegúti zsírsav-észterezési reakció különösen olyan esetekben előnyös, midőn a vizsgált lipid anyagok nagy mennyiségű el nem szappanosítható részt tartalmaznak (pl. koleszterint, lipokromokat, szénhidrogéneket stb.), ezek ugyanis teljesen eliminálódnak, továbbá akkor, amidőn érzékeny, nagy telítetlenségű zsírsavak vizsgálatáról van szó (orvosi, klinikai, biológiai lipid vizsgálatok).

Abban az esetben, ha a vizsgált zsiradék el nem szappanosítható része elhanyagolható mennyiségben van jelen (1–5% körül), úgy gázkromatografias célokra előnyösebb a tanulmány első részében ismertetett lúgos átészterezési metodikát alkalmazni.

Meg kell emlékezni Szabó Rózsa és Pálos Lilla közvetlen munkatársaimról, akik a téma kidolgozásához szükséges adatokat szolgáltatták, értékes közreműködésüket e helyről megköszönöm.

IRODALOM

- [1] Seifen Öle Fette Wachse 21, 1950.
- [2] Grün A.: Lunge—Berl: Chem. Tech. Untersuchungsmethoden III. 532.
- [3] U. S. Patent: 2271619 és 2360844.
- [4] Tyutyunykov—Markmann—Juchnovszkij: Technologija pererabotki zsirov 469, 1950.
- [5] Széplaky M.: Növényolaj és Szappanipari Kutató Intézet évkönyve (NOSZIKI) 148—153 Budapest 1951—52.
- [6] Jáky M.: NOSZIKI évkönyv, 154—166, Budapest 1951—52.
- [7] Roper R.: Microchem. J? 245, 1957.
- [8] Stoffel W., Ahrens E. H., Chu F.: Anal. Chem. 37, 307, 1959.
- [9] Horsttein I., Alford J. A., Elliott L. E., Crowe P. F.: Anal. Chem. 32, 540, 1960.
- [10] Rogozinski M.: J. of Gaschrom. 2. 136, 1954.
- [11] Rogozinski M.: J. of Gaschrom. 2. 328, 1964.
- [12] Metcalfe L. D., Schmitz A. A.: Anal. Chem. 33, 363, 1961.
- [13] Szöke K., Kramer M., Lindner K.: Fette Seifen Anstrichmittel 67, 257, 1965.
- [14] Henriques R.: Zeitschr. Angew. Chemie 721, 1895.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА РЕАКЦИИ ОБРАЗОВАНИЯ МЕТИЛОВОГО ЭФИРА ЖИРНОЙ КИСЛОТЫ

(Быстрый способ метилирования для целей хроматографии)

М. Яки,

Автор при испытаниях механизма гидролизом жира подтвердил, что установление Фортиния, Андерсона и Брауна, на основании которого, влиянием метанольных щелочей при низких температурах при гидролизе жиров всегда образуется, в качестве промежуточного продукта, метиловый эфир жирной кислоты. На основании экспериментальных результатов возможно установить и то, что в условиях испытания гидролиз жира происходит исключительно посредством образования метилового эфира жирной кислоты, то есть в метаноловой щелочной среде, в гомогенной фазе, триглицериды составляющие жир моментально переэтерифицируются в метиловый эфир а в дальнейшем происходит его омыление.

Испытуя процессы эстерификации в метаноловых растворах жирных кислот, автор установил, что в то время когда метанол, являющийся растворителем жирной кислоты, содержит следы минеральных кислот (соляную —; серную — кислоту и т.д.) то метанол не может считаться растворителем, а является партнером реакции и — если и медленно — не происходит реакция эстерификации между жирной кислотой и метанолом. В дальнейшем было доказано, что повышая содержание минеральной кислоты метанола, и при низких температурах быстро будет протекать реакция эстерификации.

Автор в процессе гидролиза жиров и эстерификации жирных кислот в условиях испытания исследовал, что двусторонняя, реакция протекает соответственно отношению компонентов жирных кислот, или селективно. Испытаниями проводимых газовой хроматографией было установлено, что даже в конечной фазе реакции не изменилось соотношение жирных кислот эфиров и свободных жирных кислот. С точки зрения практики важные результаты были получены при испытаниях механизма переэтерификации жиров и эстерификации жирных кислот, так как на основании этих удалось разработать два быстрые метода получения метилового — эфира, такие методы подходящие тогда, когда идет реч о метилировании и газохроматографическом испытании высоконасыщенных жирных кислот. Если неомыляемая часть испытываемых жирных кислот не значительная (около 1%), то успешно применяется метод холодной переэтерификации метанольным раствором едкого калия. Если испытываемый жир содержит большое количество неомыляемой части (напр. при биологических испытаниях органические жиры), то целесообразно применять метод холодной переэтерификации. В статье автор ознакомляет несколько альтернатив применения обоих методов.

ÜBER DEN REAKTIONSMEECHANISMUS BEI DER BILDUNG VON FETTSÄUREMETHYLESTERN

(Rasche Methylierungsverfahren für gaschromatographische Zwecke)

М. Jáky

Der Verfasser bestätigte durch Prüfung des Mechanismus der Fettstoffhydrolyse die Richtigkeit der Feststellung von *Fortini, Anderson und Braun* nach welcher durch Einwirkung von in Methanol gelösten Laugen während der Fettstoffhydrolyse bei niederen Temperaturen als Zwischenprodukt Fettsäure-

methylester immer entsteht. Aufgrund der Versuchsergebnisse jedoch konnte auch festgestellt werden, dass die Fettstoffhydrolyse unter den geprüften Umständen ausschliesslich durch Bildung der Methylester von Fettsäuren erfolgt, in dem alkalischen Methanol-Medium, in homogener Phase erfolgt die Umesterifikation der Fette bildenden Triglyceride zu Methylestern nahezu in Sekunden und dieselben werden dann weiter verseift.

Bei der Prüfung der Esterifikationsvorgänge der Fettsäuren in Methanol-Lösungen stellte der Verfasser fest, dass, falls das Methanol als Lösungsmittel der Fettsäuren Spuren von Mineralsäuren (Salzsäure, Schwefelsäure usw.) enthält, dasselbe nicht mehr als reines Lösungsmittel, sondern als Reaktionspartner zu betrachten ist und die Esterifikationsreaktion zwischen Fettsäure und Methanol wenn auch langsam, dennoch einsetzt. Ferner liess sich erweisen, dass im Falle der Zunahme des Mineralsäuregehaltes im Methanol die Esterifikationsreaktion auch bei niedriger Temperatur rasch verläuft.

Unter den geprüften Bedingungen, im Laufe der Fettstoffhydrolyse und Esterifikation der Fettsäuren, untersuchte der Verfasser auch ob die in zwei Richtungen verlaufende Reaktion dem Verhältnis der verschiedenen Fettsäurekomponenten entsprechend oder aber selektiv vor sich geht. Durch gaschromatographische Versuche wurde ermittelt, dass selbst im Endstadium der Reaktion keine Änderung im Fettsäure-Verhältnis der Ester und freien Fettsäuren erfolgte. Die Mechanismenprüfungen von Umesterifikationsreaktionen der Fettstoffe, sowie der Esterifikationsreaktionen der Fettsäuren lieferten auch für die Praxis wertvolle Resultate, es gelang nämlich aufgrund derselben zwei rasche und schonungsvolle Darstellungsmethoden für Methylester auszuarbeiten, welche besonders in solchen Fällen Hilfe leisten, wo es sich um Methylierung und gaschromatographische Untersuchung von hoch ungesättigten Fettsäuren handelt. Kann der unverseifbare Teil des geprüften Fettstoffes vernachlässigt werden (cca 1%) ist die Umesterifikationsmethode mit Methanol-Kalilauge auf kaltem Wege sehr erfolgreich anwendbar. Enthält aber der zu prüfende Fettstoff viel Unverseifbares (z. B. Organ-Fettstoffe bei biologischen Untersuchungen), ist die Umesterifikation auf kaltem Wege zweckdienlich. Die Arbeit gibt für beide Methoden mehrere Alternativen an.

INVESTIGATION OF THE REACTION MECHANISM OF THE FORMATION OF THE METHYLESTERS OF FATTY ACIDS

M. Jáky

On investigating the mechanism of hydrolysis of fats, the correctness of the observations of Fortini, Anderson and Braun, according to which methylesters of fatty acids are always formed as intermediates in the hydrolysis of fats by methanol-containing alkalies at low temperature, was confirmed by the author. However, the experimental results proved also at the same time that under the conditions applied, the hydrolysis of fats takes place exclusively through the formation of the methylesters of fatty acids. The triglycerides as main fat components are being transesterified instantaneously by these methylesters in the methanol-containing alkaline medium, in a homogeneous phase, and in the later steps, the esterified product is undergoing saponification.

By the investigation of the esterification processes of fatty acids in methanolic solutions the author proved that when even traces of mineral acids (such as hydrochloric, sulphuric acid etc.) are present in methanol serving as fat solvent, methanol becomes, in addition to being a simple solvent, also a reaction partner

and an esterification reaction starts between fatty acid and methanol, though at a rather slow rate. It was found in further experiments that the esterification reaction becomes much quicker even at low temperature when the mineral acid content of methanol is raised.

Under the applied experimental conditions, the author examined whether the bilateral reaction takes place according to the ratio of the various fatty acid components or in a selective way, during the hydrolysis of fats and the esterification of fatty acids. Gas chromatographic investigations showed that the proportion of fatty acids in free fatty acids and esters did not change even in the last period of reaction, either. The investigations of the mechanism of the transesterification of fats and of the esterification of fatty acids gave results of prominent importance also for industrial practice. Namely, on the basis of the experimental results, it was possible to evolve two quick and mild methods for the production of methylesters which are of particularly great advantage when highly unsaturated fatty acids must be methylated or examined by gas chromatography. When the non-saponifiable portion of the examined fat is negligible (about 1%), cold transesterification with methanol-containing potassium hydroxide can be applied. In presence of higher contents of non-saponifiable components (e.g. in case of fats of organs in biological investigations), esterification in cold is suggested.

Alternative techniques for both methods are described.

ÉTUDE SUR LE MÉCANISME DE RÉACTION DE LA FORMATION DES ESTERS MÉTHYLIQUES DES ACIDES GRAS. (PROCÉDÉS RAPIDES DE MÉTHYLATION POUR LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE)

M. Jáky

L'auteur a, lors de ses études sur le mécanisme de l'hydrolyse des matières grasses, prouvé la pertinence de la thèse émise par Fortini, Anderson et Braun. Selon celle-ci, au cours de l'hydrolyse des matières grasses, il se forme, sous l'influence des lessives à méthanol, aux températures basses, toujours des esters méthyliques des acides gras, comme produits intermédiaires. A la base des résultats des expériences on a pu, cependant, constater de même, que l'hydrolyse des matières grasses se déroule, entre les conditions de l'examen, exclusivement par voie de formation des esters méthyliques des acides gras. C'est que dans le milieu alcalin au méthanol, dans une phase homogène, les triglycérides composant la graisse se transforment, pour ainsi dire, à l'instant même en esters méthyliques et ce sont ces derniers qui se saponifient ensuite.

En étudiant les processus d'esterification des acides gras dans des solutions au méthanol, l'auteur a établi que dès que le méthanol en tant que solvant des acides gras contient des traces d'acides minéraux (acides chlorhydrique, sulfurique etc.), il ne peut plus être considéré comme simple solvant, mais comme partenaire de la réaction et — bien que lentement — l'esterification entre l'acide gras et l'alcool méthylique commence. Par la suite il s'est avéré, qu'en augmentant la teneur en acide minéral du méthanol, le déroulement de l'esterification s'accélère aussi à basse température.

L'auteur a étudié, si lors de la hydrolyse des matières grasses et l'esterification des acides gras entre les conditions de l'examen, la réaction à deux directions se déroule conformément à la proportion des différents composés d'acides gras, ou bien selectivement. L'examen à chromatographie en phase gazeuse a révélé, que la proportion des esters et des acides gras libres n'a, même dans

l'étape finale de la réaction, pas changé. L'étude du mécanisme des réactions de trans-esterification des graisses et de l'esterification des acides gras libres ont apporté des résultats importants aussi pour la pratique, étant donné, qu'on a, à la base de ces réactions, développé deux méthodes rapides et modérées pour obtenir des esters méthyliques. Ces méthodes sont utiles en particulier quand il s'agit de méthyler et de soumettre à l'analyse chromatographique en phase gazeuse des acides gras fortement insaturés. Si la partie non saponifiable de la matière grasse soumise à l'examen est négligeable (environ 1%), la trans-esterification à froid avec de la lessive de potasse au méthanol est très efficace. Si, par contre, la matière grasse en question contient une grande quantité de substance insaponifiable (p.e. les graisses des organes dans les examens biologiques), l'esterification à froid est plus convenable. L'étude décrit plusieurs alternatives par rapport à toutes les deux méthodes.

SILANO, V. – D'ERRICO, AM. –
MICCO, C. – MUNTONI, F.:

**Tészta tojástartalma: a tojás jellegzetes
fehérjéinek meghatározásával**

(Egg Content of Noodles by Quantitative
Analysis of Characteristic Proteins of
Egg.)

J. A. O. A. C. 51, 1213 (1968.)

Az elterjedt szterin mérés módszer kiegészítésére javasolják a géloszlop-elektroforézist. Előkészítés: 1 g porított tészta 5 ml 0,15 M NaCl oldatban rázatják 3 óráig, a szuszpenziót centrifugálják, 20 μ l tisztá extraktumot 11%-os szaharóz oldattal készített akrilamid (7,5%) gél-oszlop tetejére rétegeznek. Nyomjelző: Br-fenolkék, pH: 9,5; oszloponként 5 mA áramerősség, idő: 75 perc. Színezés anilin-kékes-feketével 7,5%-os ecetsavban, felesleg eltávolítása elfő-val (12,5 mA).

Égész-tojás ferogramja alapján az $M = 0,21$ rel. mozgékonyaságú (Br-fenolkék $M = 1$) fehérje alkalmas mennyiségi értékelésre. A legintenzívebb sávot adó $M = 0,72$ fehérje a búzafehérjével kapcsolódik s oldhatósága csökken. A denzitométeres összefüggés lineáris 0–200 g tojás/kg tészta tartományban. A ferogram elárulja a sárgája-fehérje arányt, továbbá tájékozathat a tészta előállítás körülményeiről is (denaturálódásra céloznak a szerzők, ref. megj.)

Kismarton K. (Miskolc)

COFFIN, D. E.:

Néhány alkotórész töménységének összefüggése narancslében

(Correlation of the Levels of Several
Constituents of Commercial Orange
Juices.)

J. A. O. A. C. 51, 1199 (1968.)

A gyümölcslevet szárazanyag tartalom és összes titrálható sav alapján ellenőrzik – mindkettőt műveleti úton be lehet állítani. A valódi narancslé minősítésére az összes aminosav (formol titer), az összes polifenol, a betain, a hamu K_2O , vagy P_2O_5 -tartalmának mérését javasolták. Valamennyi adat erősen ingadozik, ezért csak több vegyületcsoport egybehangzó mérési eredménye bizonyít.

A szerző 32 narancslé fenti adatait meghatározta. (Aminosav $1,9 \pm 0,41$ m. ekv./100 ml; polifenol abszorpció $0,577 \pm 0,108$; betain $55 \pm 13,6$; hamu $0,394 \pm 0,050$; P_2O_5 $0,029 \pm 0,006$ g/100 ml; összes sav $12,4 \pm 1,2$ m. ekv./100 ml). Szoros összefüggést talált ($r > 0,9$) az aminosav-hamu adatsor között, jelentőset ($r > 0,8$) az aminosav-betain, aminosav-polifenol, aminosav- P_2O_5 között, lazábbat ($r > 0,6$) a betain-hamu, betain-polifenol, betain- P_2O_5 , polifenol-hamu között, és nem szignifikáns a polifenol többi korrelációja. Nincs összefüggés az összes titrálható sav és a többi analitikai mérőszám között.

Kismarton K. (Miskolc)