

KVANTITATÍVNE STANOVENIE A SLEDOVANIE KYSELINY IZOOLEJOVEJ POČAS STUŽOVANIA SLNEČNICOVÉHO OLEJA METÓDOU PAPIEROVEJ CHROMATOGRAFIE (II) RÁDIOMETRICKÉ VYHODNOTENIE POMOCOU ¹³¹J

V. KOMAN, E. KOMANOVÁ

Katedra technickej mikrobiológie a biochémie Slovenskej vysokej školy technickej
v Bratislave

Vývojové pracovisko, n. p. Palma, Bratislava

Podobne ako sme uviedli v prechádzajúcej práci [1], pri stanovení kyseliny izoolejovej (*trans*- $\Delta^{9:10}$ -oktadecénová kyselina) metódou rozdeľovacej papierovej chromatografie sa vychádzalo z predpokladu, že táto na základe svojho vyššieho bodu topenia (44,7 °C) zostane v priebehu vyvíjania chromatogramov za zníženej teploty v mieste nanosenia. Avšak v dôsledku zachovanej dvojitej väzby v refazci je kyselina izoolejová naďalej schopná adovať jód. Ak sa na tento účel použije rádioizotopom ¹³¹J označený jód, možno kyselinu izoolejovú rovnako ako všetky ostatné nenasýtené kyseliny rozdelené na chromatograme stanoviť rádiometricky (A. Z. Budziński [2]).

Experimentálna časť

Použili sa vzorky stuženého slnečnicového oleja, ktorých prípravu a konštanty sme uviedli v predchádzajúcej práci [1].

Podmienky pre chromatografiu

Oddelenie mastných kyselín jednotlivých vzoriek metódou rozdeľovacej papierovej chromatografie sa urobilo za rovnakých podmienok ako v práci [1]. Paralelne sa pripravili vždy dva chromatogramy, z ktorých jeden sa ozrejnil roztokom kyseliny rubeanovdíkovej a jeden nedetegovaný sa použil na adíciu jódu.

Podmienky adície

Chromatogramy nastrihané na 3 cm pásy sa ponorili do roztoku 0,0022 M-NaJ a 0,044 M-NaJO₃. Potom sa pridalo toľko ¹³¹J vo forme jodidu, aby rádioaktivita roztoku bola 5 μ c/ml. Tento roztok sa pripravil v 0,025 M kyseline sírovej, ktorá je potrebná na uvoľnenie jódu. V tomto roztoku sa ponechali chromatografické pásy 150 minút. Nadbytok ¹³¹J sa odstránil 12 hodinovým sušením pri teplote miestnosti. Na takto pripravených chromatografických pásoch sa zmerala rádioaktivita.

Opis zariadenia

Na meranie rádioaktivity sa použilo zariadenie zostavené tak, že do oloveného ochranného puzdra opatreného štrbinou sa vložila Geiger—Müllerova trubica typu 16/60 B, ktorá sa spojila s nukleárnym počítačom Tesla TM 791.

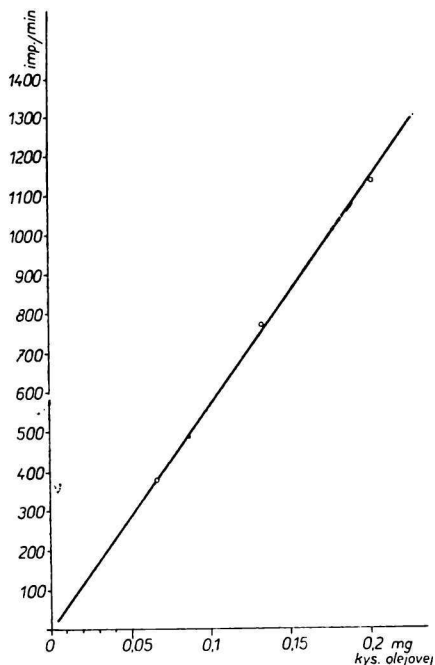
Postup merania

Chromatografický pás sa od štartu po čelo posuoval na podložke z polymetakrylátu pod štrbinou ochranného puzdra. Štrbina mala šírku 5 mm a slúžila na to, aby sa uplatňovala rádioaktivita iba tej časti chromatografického pásu, ktorý sa nachádza pod ňou,

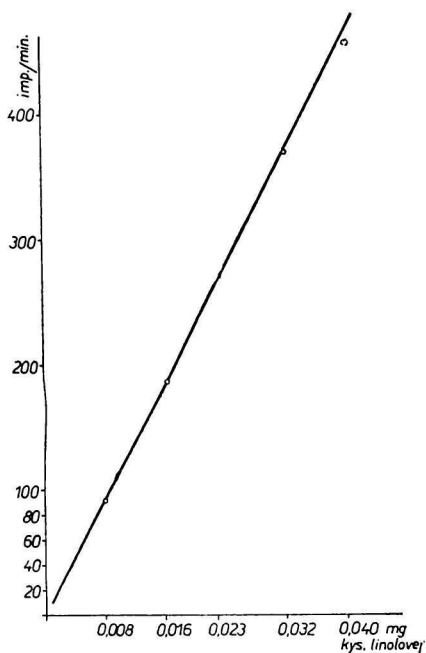
a aby sa zamedzil rušivý vplyv susedných úsekov. Posunom pása sa získal rad hodnôt, ktoré jasne ukazovali miesta odpovedajúce oddeleným škvrnám mastných kyselín. Týmto spôsobom sa zistilo, že dobre definovateľné maximá rádioaktivity (imp./min.) sa prejavili iba pri chromatogramoch, ktoré neboli pred adíciou ^{131}J detegované. Pri chromatogramoch detegovaných kyselinou rubeanovodíkovou bolo možné iba veľmi ťažko rozlíšiť rádioaktivity škvrn mastných kyselín od pozadia chromatografického papiera.

Na kvantitatívne vyhodnotenie vzoriek stuženého slnečnicového oleja bolo potrebné zostrojiť kalibračnú krivku. Na tento účel sa ako štandard použila kyselina olejová. Už kvantitatívnym optickým vyhodnotením pomocou mikrofotometra (pozri [1]) a zhodne i rádiometricky sa zistilo, že použitý štandard kyseliny olejovej obsahoval 16,1 % kyseliny linolovej. Na základe toho bolo možné súčasne popri kyseline olejovej stanoviť z nameraných hodnôt rádioaktivity i hodnoty pre kalibračnú krivku kyseliny linolovej.

Hodnoty pre kalibračnú krivku kyseliny olejovej uvádzame v tab. 1, ich grafické znázornenie je na obr. 1.



Obr. 1. Kalibračná krivka 1.



Obr. 2. Kalibračná krivka 2.

Tabuľka 1

Hodnoty rádioaktivít pre kalibračnú krivku kyseliny olejovej

Imp./min.	285	578	856	1148	1417
mg kyseliny olejovej	0,05	0,10	0,15	0,20	0,25

Hodnoty pre kalibračnú krivku kyseliny linolovej sú v tab. 2, ich grafické znázornenie je na obr. 2.

Tabuľka 2
Hodnoty rádioaktivít pre kalibračnú krivku kyseliny linolovej

Imp./min.	92	186	275	370	456
mg kyseliny linolovej	0,008	0,016	0,023	0,032	0,040

Výsledky a diskusia

Vo vzorkách stuženého slnečnicového oleja sa pomocou kalibračnej krivky a hodnôt rádioaktivity nameraných na chromatogramoch stanovilo množstvo kyseliny *izoolejovej*:

1. priamo — z chromatogramov vyvíjaných pri teplote -30°C ,
2. nepriamo — z rozdielu rádioaktivity kyseliny olejovej nameranej na chromatogramoch vyvíjaných pri teplote $+25^{\circ}\text{C}$ a -30°C .

Obidva spôsoby stanovenia kyseliny *izoolejovej* a nenasýtených mastných kyselín vo vzorkách stuženého slnečnicového oleja sú uvedené a porovnané v tab. 3.

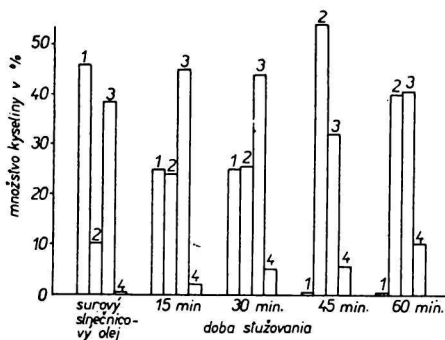
Tabuľka 3

Kvantitatívne stanovenie kyseliny *izoolejovej* a nenasýtených mastných kyselín rádiometricky

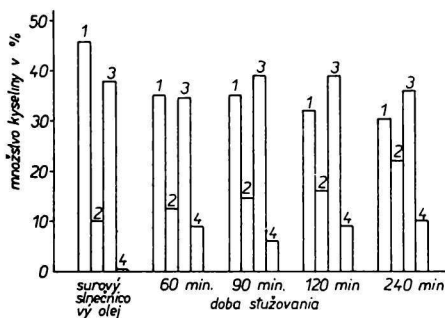
Vzorka číslo	Doba stužovania (min.)	% mastných kyselín					
		kyselina linolová stanovená pri		kyselina olejová stanovená pri		kyselina <i>izoolejová</i> stanovená	
		+ 25 °C	- 30 °C	+ 25 °C	- 30 °C	nepriamo	pri - 30 °C priamo
2	15	25,1	25,1	47,1	43,18	3,56	—
3	30	24,0	26,45	46,37	42,15	5,066	5,06
4	45	—	—	36,1	28,49	5,142	5,10
5	60	—	—	40,43	40,4	10,16	10,10
6	60	42,0	28,5	44,0	35,0	9,00	9,05
7	90	40,9	29,5	44,93	38,76	6,18	6,0
8	120	37,4	26,5	47,5	38,60	8,84	8,96
9	240	33,9	27,58	46,31	35,64	10,2	10,11
slnečnicový olej	—	46,0	46,4	38,1	39,0	—	—

Grafické znázornenie kvantitatívnych zmien kyseliny *izoolejovej* a nenasýtených mastných kyselín vo vzorkách slnečnicového oleja stužovaného za selektívnych podmienok je na obr. 3 a stužovaného za neselektívnych podmienok je na obr. 4. Hodnoty kyseliny stearovej sú pre dokreslenie celkového obrazu o priebehu stužovania prevzaté z výsledkov kvantitatívneho merania pomocou mikrofotometra.

Zo štatistických výpočtov [3] vyplýva, že pri stanovení kyseliny izoolejovej a ostatných nenasýtených mastných kyselín pomocou ^{131}J možno sa dopustiť chyby v hodnote smerodajnej odchýlky: $\bar{x}_2 \pm \Sigma x_2 = 249,5 \pm 16,6$.



Obr. 3.



Obr. 4.

Obr. 3. Zmeny obsahu kyseliny izoolejovej a nenasýtených mastných kyselín počas služovania slnečnicového oleja za selektívnych podmienok.

1. kyselina linolová, 2. kyselina stearová, 3. kyselina olejová, 4. kyselina izoolejová.

Obr. 4. Zmeny obsahu kyseliny izoolejovej a nenasýtených mastných kyselín počas služovania slnečnicového oleja za neselektívnych podmienok. (Označenie ako na obr. 3.)

Vypočítaná citlivosť metódy potom je $\pm 5,8\%$, čo poukazuje na väčšiu presnosť kvantitatívneho stanovenia pomocou mikrofotometra. K uvedeným výpočtom treba pripomenúť, že sa neeliminovali kladné a záporné extrémne hodnoty od hodnôt aritmetického priemeru.

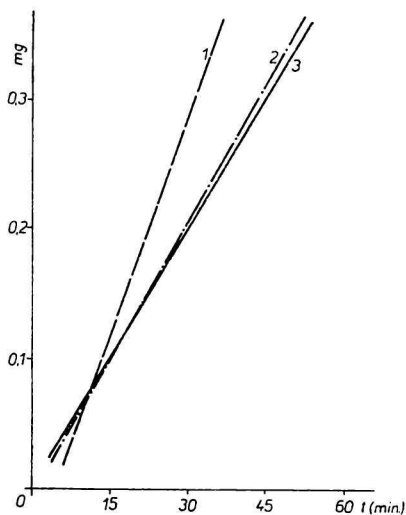
Opísané kvantitatívne stanovenie kyseliny izoolejovej pomocou rádioizotopu ^{131}J metódou rozdeľovacej papierovej chromatografie je pomerne rýchle, presné a reprodukovateľné. S ohľadom na prácu s rádioaktívnou látkou vyžaduje sa špeciálnejšie zariadenie, čo je jedinou nevýhodou opísanej metódy.

Väčší počet zhodných výsledkov získaných chromatografickou metódou umožňuje uzatvárať, že stanovenie kyseliny izoolejovej metódou rozdeľovacej papierovej chromatografie v porovnaní s Twitschelovou metódou olovnatých solí je značne presnejšie. Jednotlivé metódy použité na kvantitatívne stanovenie kyseliny izoolejovej sú uvedené a porovnané v tab. 4 a graficky znázornené na obr. 5.

Z vypracovaných a opísaných možností kvantitatívneho stanovenia a sledovania kyseliny izoolejovej v stuženom slnečnicovom oleji metódou rozdeľovacej papierovej chromatografie sa pre prevádzkové účely javí najprístupnejším a najnenáročnejším spôsobom stanovenia po detekcii 1 % roztokom KMnO_4 a nasledujúcim optickým vyhodnotením. Pre kvantitatívne závery treba však ešte tento spôsob stanovenia podložiť väčším počtom experimentálnych meraní.

Tabuľka 4
Porovnanie metód kvantitatívneho stanovenia kyseliny izoolejovej

Vzorka číslo	Doba stužovania (min.)	Percentuálne množstvo kyseliny izoolejovej			
		stanovené olovnatými solami	fotometricky	rádiochromatograficky	po detekcii s KMnO_4
2	15	4,95	3,6	3,56	2,7
3	30	11,84	5,0	5,066	6,27
4	45	18,17	5,6	5,14	6,86
5	60	20,4	9,8	10,16	8,35
6	60	0,69	8,8	9,00	5,32
7	90	1,85	5,9	6,18	2,02
8	120	2,62	8,4	8,84	1,68
9	240	3,41	10,2	10,2	9,2



Obr. 5. Porovnanie metód kvantitatívneho stanovenia kyseliny izoolejovej.
1. metódou olovnatých solí, 2. mikrofotometrom, 3. označeným jódom.

Ďakujeme inž. J. Tölgyessy mu C. Sc. za umožnenie a praktické rady pri rádiometrických meraniach na Oddelení rádiochémie pri Katedre fyzikálnej chémie Slovenskej vysokej školy technickej v Bratislave a inž. E. Porgesovi za poskytnutie označeného jódu a za pripomienky k práci.

Súhrn

Vypracoval sa spôsob stanovenia kyseliny izoolejovej metódou rozdeľovacej papierovej chromatografie s nasledujúcim kvantitatívnym vyhodnotením pomocou rádioizotopu ^{131}J . Týmto spôsobom sa sledovala kyselina izoolejová, ktorá vzniká v slnečnicovom oleji za laboratórnych podmienok selektívne

a neselektivne vedenej katalytickej hydrogenizácie. Získané výsledky sa v práci porovnávajú s výsledkami kvantitatívneho stanovenia pomocou mikrofotometra a s výsledkami bežne používanej Twitschelovej metódy olovnatých solí na stanovenie kyseliny izoolejovej. Chromatografická metóda dovoľuje súčasne sledovať zmeny nenasýtených mastných kyselín v slnečnicovom oleji. Z výsledkov získaných za podmienok opísaných v práci vyplýva, že pri stanovení pomocou ^{131}J vzniká chyba v rozmedzí $\pm 5,8\%$.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ И ИССЛЕДОВАНИЕ
ИЗОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ В ТЕЧЕНИИ УПЛОТНЕНИЯ
ПОДСОЛНЕЧНОГО МАСЛА МЕТОДОМ ХРОМАТОГРАФИИ
НА БУМАГЕ (II)
РАДИОМЕТРИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПОМОЩЮ ^{131}J

В. КОМАН, Е. КОМАНОВА

Кафедра технической микробиологии и биохимии Словацкой высшей технической школы
в Bratislave

Лаборатория г. и. Пальма в Bratislave

Выводы

Была выработана и описана возможность определения *изомаляной* кислоты методом распределяющей хроматографии на бумаге, и количественная оценка помощью радиоизотопа ^{131}J . Этим способом наблюдалась *изомаляная* кислота, возникающая в подсолнечном масле при лабораторных условиях селективно и неспецифично веденой каталитической гидрогенизации. В работе сравниваются приобретенные результаты с результатами количественного определения помощью микрофотометра и с результатами обычно применяемым методом Твичела Рb-солей для определения *изомаляной* кислоты. Хроматографический метод одновременно позволяет наблюдение изменений ненасыщенных жирных кислот подсолнечного масла. Из результатов, приобретенных при условиях, описанных в работе, явствует, что при определении помощью ^{131}J получается ошибка $\pm 5,8\%$.

Поступило в редакцию 23. 5. 1960 г.

QUANTITATIVE BESTIMMUNG UND UNTERSUCHUNG
DER ISOÖLSÄURE WÄHREND DES HÄRTUNGSPROZESSES VON
SONNENBLUMENKERNÖL MITTELS DER METHODE DER PAPIER-
CHROMATOGRAPHIE (II)
RADIOMETRISCHE AUSWERTUNG MITTELS ^{131}J

V. KOMAN, E. KOMANOVÁ

Lehrstuhl für technische Mikrobiologie und Biochemie an der Slowakischen Technischen
Hochschule in Bratislava

Entwicklungsarbeitsstätte des Nationalunternehmens Palma in Bratislava

Zusammenfassung

Es wurde die Möglichkeit beschrieben und gleichzeitig eine Methode ausgearbeitet, um Isoölsäure mittels der Trennungspapierchromatographie mit nachfolgender quantitativer Auswertung mit Hilfe des Radioisotops ^{131}J zu bestimmen. Auf diese Weise wurde

die Isoölsäure untersucht, welche sich im Sonnenblumenkernöl unter Laboratoriumsbedingungen einer selektiv und nicht selektiv geführten katalytischen Hydrogenierung bildet. Die erhaltenen Ergebnisse werden in dieser Arbeit mit den Ergebnissen einer quantitativen Bestimmung mittels des Mikrophotometers und mit den Ergebnissen der gewöhnlich angewendeten Twitchelschen Methode der Pb-Salze für die Bestimmung der Isoölsäure verglichen. Die chromatographische Methode erlaubt zugleich die Untersuchung der Veränderungen der ungesättigten Fettsäuren des Sonnenblumenkernöls. Aus den Ergebnissen, welche unter den in dieser Arbeit beschriebenen Bedingungen erhalten wurden, geht hervor, dass bei der Bestimmung mittels ^{131}J ein Fehler im Bereich von $\pm 5,8\%$ auftreten kann.

In die Redaktion eingelangt den 23. 5. 1960

LITERATÚRA

1. Koman V., Komanová E., Chem. zvesti 14, 690 (1960). — 2. Budziński A. Z., Zubrzycki Z. J., Campbell I. G., Nature 182, 178 (1958). — 3. Lokvenc F. A., Štatistické vyhodnotenie v knihe: A. Kocková-Kratochvílová, Praktikum technické mikrobiologie, Praha 1954.

Do redakcie došlo 23. 5. 1960

Adresa autorov:

Inž. Václav Koman, Bratislava, Kollárovo nám. 2, Chemický pavilón SVŠT.

Inž. Eva Komanová, Bratislava, ul. Februárového víťazstva, Vývojové pracovisko, n. p. Palma.