

VZÁJOMNÉ ODDELOVANIE *CIS-FORIE*M A *TRANS-FORIE*M KYSELINY ERUKOVEJ A *CIS-FORIE*M A *TRANS-FORIE*M KYSELINY OLEJOVEJ METÓDOU ROZDELOVACEJ CHROMATOGRAFIE NA PAPIERI

V. KOMAN, E. KOMANOVÁ

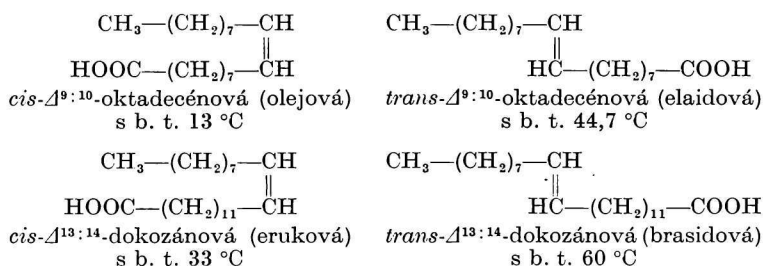
Katedra technickej mikrobiológie a biochémie Slovenskej vysokej školy technickej v Bratislave

Vývojové pracovisko, n. p. Palma, Bratislava

Z niektorých doteraz publikovaných prác vyplýva možnosť stanovenia kyseliny elaidovej (*trans-Δ^{9:10}*-oktadecénovej) vedľa jej *cis*-formy chromatograficky [1—4, 6] i infračervenou spektrofotometriou [7, 5, 14]. Použitelnosť týchto metód je však obmedzená na zmesi mastných kyselín, kde prevládajúcou zložkou je kyselina olejová. V prípade, že sú v zmesi prítomné ďalšie nenasýtené mastné kyseliny s jednou dvojitou väzbou a ich izoméry, ťažko ich rozlíšiť. Príkladom takejto zmesi mastných kyselín s rôznou geometrickou konfiguráciou môže byť stužený repkový olej, jedna z najčastejšie spracovávaných surovín v tukovom priemysle. Popri značnom množstve kyseliny olejovej (asi 30 %) prevládajúcou zložkou je tu kyselina eruková (ca 50 %).

Podľa doterajších poznatkov platia pre priestorovú izomerizáciu kyseliny erukovej — podobne ako pre všetky mastné kyseliny s jednou dvojitou väzbou — analogické reakčné podmienky ako v prípade kyseliny olejovej [12]. Počas stužovania repkového oleja vzniká vedľa kyseliny elaidovej i *trans*-izomér kyseliny erukovej, t. j. kyselina brasidová (*trans-Δ^{13:14}*-dokozánová).

Dostávame tak sústavu izomérov mastných kyselín s jednou dvojitou väzbou:



Otázku vzájomného rozlíšenia uvedených izomérov nie je možné dostatočne presne riešiť týmito spôsobmi:

1. Chemickými metódami. Použitím metódy olovnatých solí možno oddeliť len kyselinu olejovú, kým kyselina elaidová, kyselina eruková a kyselina brasidová zostanú v zmesi, pretože všetky tvoria tuhé olovnaté mydlá. Sama metóda olovnatých solí je značne nepresná [6].*

* Podobne aj adičné produkty ortuti s izomermi nenasýtených mastných kyselín reagujú pri oddeľovaní úplne rovnako [15].

2. Infračervená spektrofotometria síce v oblasti $10,33 \mu$ (976 cm^{-1}) registruje *trans*-formy, ale vzájomné rozlíšenie *trans*-foriem rozličných nenасыtených mastných kyselín je veľmi ťažké [7].

3. Ultrafialová spektrofotometria nemá v oblasti 2000—2500 Å dostatočne charakteristické rozlišovacie maximá *cis*-foriem a *trans*-foriem mastných kyselín [8].

4. Na chromatografické stanovenie *cis*-izomérov a *trans*-izomérov vedľa seba nemožno využiť pozmeňovacie metódy, ako sú napríklad oxydačné metódy [9], ďalej prevedenie na rozličné deriváty [10], kvantitatívnu hydrogenáciu [11] a pod., a to pre rovnakú reakčnú schopnosť *cis*-izomérov a *trans*-izomérov.

V tejto práci opisujeme možnosť rozdelenia zmesi kyseliny erukovej, kyseliny brasidovej, kyseliny olejovej a kyseliny elaidovej metódou rozdeľovacej chromatografie na papieri za rôznych teplôt vyvíjania, využívajúc rozdielnosť ich bodov topenia.

Experimentálna časť

Príprava kyseliny elaidovej

Pri príprave kyseliny elaidovej sa postupovalo ako v práci [6], avšak s tým rozdielom, že východiskovou surovinou bola kyselina olejová. Získaná kyselina elaidová mala j. č. 88,38, b. t. 43,6 °C, index lomu 1,4476.

Príprava kyseliny erukovej

Kyselina eruková sa izolovala podľa H. Hadorna a K. W. Biefera [13] z repkového oleja (j. č. 106,42, č. zm. 189,22). Oproti pôvodnému postupu sa zmes mastných kyselín repkového oleja prekryštalovala priamo z 80 %-ného etylalkoholu bez predchádzajúceho pretláčania medzi pórovitými fóliami. Po trojnásobnom prekryštalovaní sa získala kyselina eruková s j. č. 75,2, č. zm. 164,58, b. t. 32,3 °C.

Príprava kyseliny brasidovej

Z izolovanej kyseliny erukovej sa kyselina brasidová pripravila za rovnakých podmienok, ako uvádza práca [6] pre prípravu kyseliny elaidovej. Po trojnásobnom prekryštalovaní z absolútneho etylalkoholu sa získal produkt s j. č. 72,82, č. zm. 161,0, b. t. 59,2 °C.

Podmienky pre chromatografiu

Na chromatografické oddelenie mastných kyselín sa použil chromatografický papier Whatman 1, impregnovaný frakciou petroleja s b. v. 190—220 °C. Chromatogramy sa vyvíjali:

1. pri teplote 10; 12,5; 15; 17,5; 20; 22 a 25 °C v zmesi acetón—kyselina octová—voda v pomere 80 : 10 : 20, sýtenej undekánom. Vyvíjanie prebiehalo za prísne dodržiavanej teploty v Höpplerovom ultratermostate;

2. pri teplote —30 °C v zmesi acetón—kyselina propiónová—voda v pomere 4 : 4 : 0,5, sýtenej undekánom.

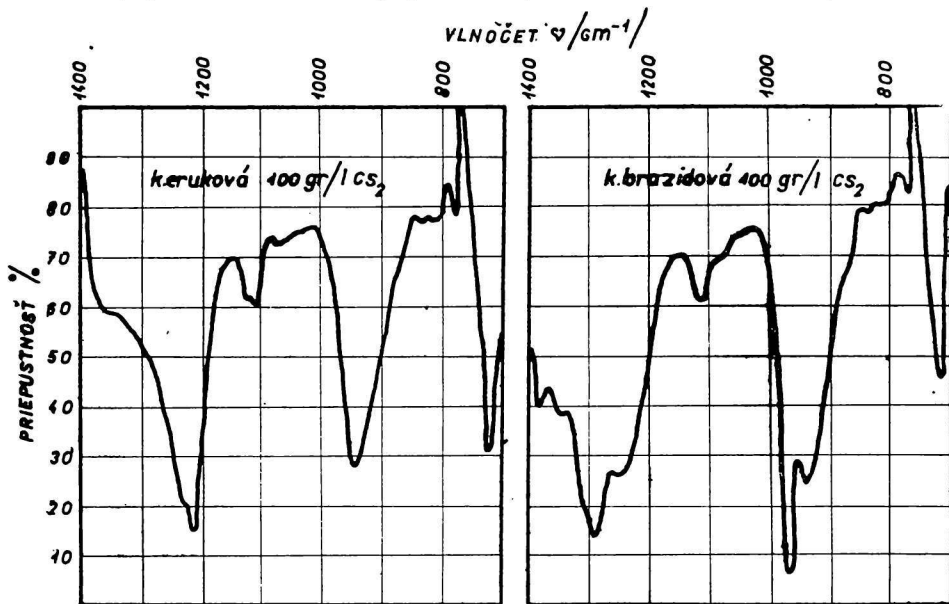
Po vyvinutí a vysušení chromatogramov sa škvrny mastných kyselín po prevedení na mednaté mydlá ozrejmlili kyselinou rubeanovodíkovou.

Podmienky pre spektrálnu analýzu

Zmerali sa infračervené absorpčné spektrá pripravených mastných kyselín. Použil sa dvojlúčový infračervený spektrofotometer UR-10, kvety o hrúbke 0,059 mm, štrbina 4, registračná rýchlosť $50 \text{ cm}^{-1}/\text{min.}$, zapisovací čas 32 sek., registračné meradlo $12 \text{ mm}/100 \text{ cm}^{-1}$, zosilňovač 5,8, šírka pásu 1, časová konštanta 2. Spektrá mastných kyselín sa zmerali v CS_2 pre oblasť $700\text{--}1400 \text{ cm}^{-1}$.

Výsledky a diskusia

V súhlase s prácami N. H. E. Ahlersa [5] a H. P. Kaufmanna [14] sa pri infračervenom spektroskopickom sledovaní a hodnotení *trans*-izomérov kyseliny erukovej a kyseliny olejovej potvrdilo, že majú špecificky spoločný absorpčný pás v oblasti $10,33 \mu$ (975 cm^{-1}), ako to vidieť na obr. 1—3. Z toho



Obr. 1. Infračervené absorpčné spektrum kyseliny erukovej a kyseliny brasidovej.

možno usúdiť, že kvalitatívne, najmä však kvantitatívne zhodnotenie takejto a viaczožkovej zmesi *trans*-izomérov rozličných vyšších nenasýtených mastných kyselín bude veľmi ťažké.

Na rozlíšenie a stanovenie geometrických izomérov kyseliny erukovej a kyseliny olejovej sa preto použila metóda rozdeľovacej chromatografie na papieri. Vychádzalo sa z poznatku rozdielnosti bodov topenia kyseliny erukovej a kyseliny brasidovej podobne ako v práci [6] pri oddeľovaní *cis*-izomérov a *trans*-izomérov kyseliny olejovej.

V závislosti od rozdielnych bodov topenia kyseliny erukovej a kyseliny

Tabuľka 1

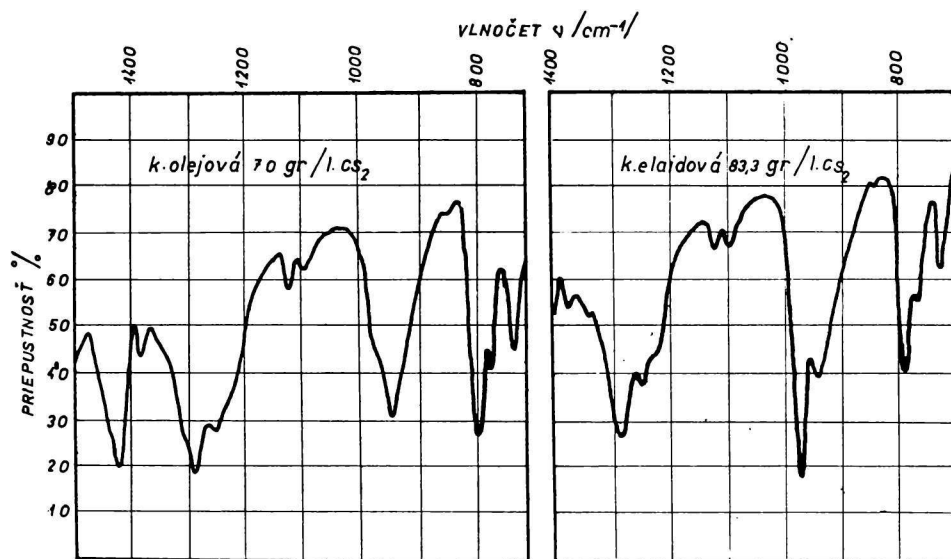
Chromatografické oddeľovanie kyseliny erukovej a kyseliny brasidovej pri rôznych teplotách vyvíjania

Teplota vyvíjania °C	Kyselina eruková	Kyselina brasidová	Kyselina eruková v zmesi	Kyselina brasidová v zmesi
10	putuje	stojí	putuje*	stojí
12,5	putuje	stojí	putuje*	stojí
15	putuje	stojí	putuje*	stojí
17,5	putuje	stojí	putuje	putuje
20	putuje	stojí	putuje	putuje
22	putuje	putuje	putuje	putuje
25	putuje	putuje	putuje	putuje
-30	putuje	stojí	putuje	stojí

* Difúzna škvrna.

brasidovej sa hľadali optimálne znížené teploty vyvíjania, pri ktorých by z tejto dvojzložkovej zmesi putovala len kyselina eruková, kým kyselina brasidová vzhľadom na svoj nižší bod topenia by zostávala v mieste nanosenia. Získané výsledky sú uvedené v tab. 1.

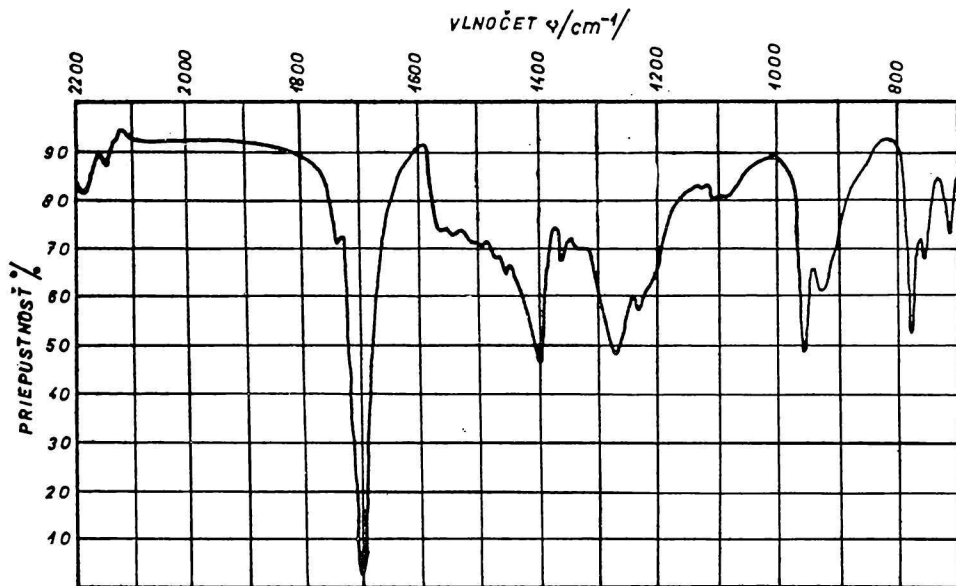
Obr. 4 znázorňuje rozdelenie zmesi kyseliny erukovej a kyseliny brasidovej za rôznych teplôt vyvíjania. Z toho vyplýva, že na kvalitatívne rozlíšenie spomínaných izomérov kyselín stačí teplota 10 °C (12,5 a 15 °C), pričom však škvrna kyseliny erukovej je silne difúzna. Ostré oddelenie kyseliny erukovej



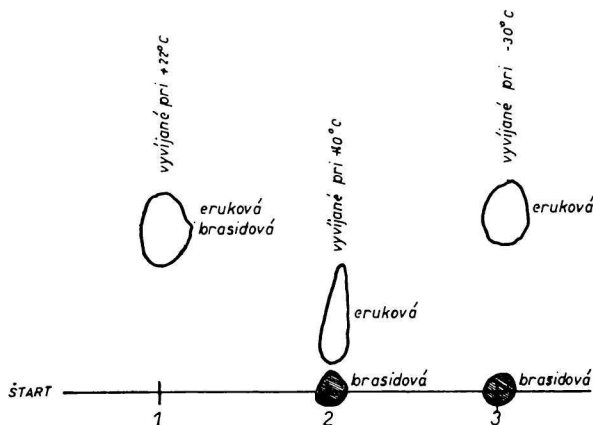
Obr. 2. Infračervené absorpčné spektrum kyseliny olejovej a kyseliny elaidovej.

a kyseliny brasidovej, potrebné na kvantitatívne vyhodnotenia, dosiahne sa až pri teplote -30°C .

Vyvíjanie chromatogramov pri teplote -30°C sa ukázalo vhodným aj na rozdelenie zmesi *cis*-foriem a *trans*-foriem kyseliny erukovej a *cis*-foriem a *trans*-foriem kyseliny olejovej, ak sa nachádzajú v zmesi. Jednotlivé zložky



Obr. 3. Infračervené absorpčné spektrum zmesi *cis*-izomérov a *trans*-izomérov kyseliny erukovej a kyseliny olejovej (konc. 25 g/l CS_2).



Obr. 4. Chromatografické oddelovanie kyseliny erukovej a kyseliny brasidovej pri rôznych teplotách vyvíjania.

tejto zmesi možno potom stanoviť jednoduchým spôsobom pomocou niektorej z metód kvantitatívneho vyhodnocovania chromatogramov.

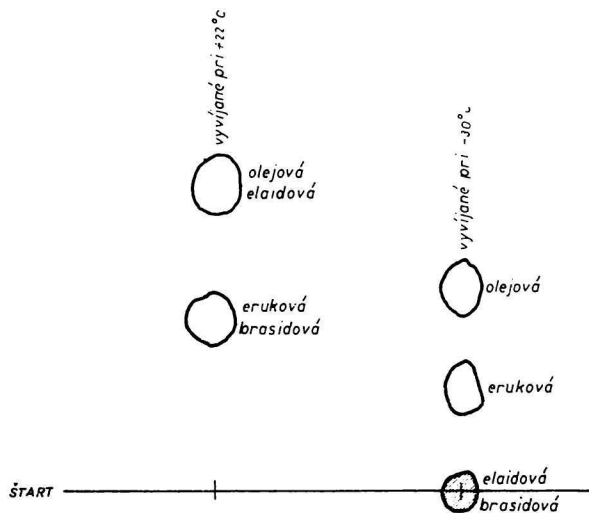
Stanovenie jednotlivých chromatograficky oddelených mastných kyselín (obr. 5) sa zakladá na tomto princípe:

$$\begin{array}{c} \text{množstvo} \\ \text{kyseliny erukovej a kyseliny brasidovej} \\ \text{pri } 22^{\circ}\text{C} \end{array} - \begin{array}{c} \text{množstvo} \\ \text{kyseliny erukovej} \\ \text{pri } -30^{\circ}\text{C} \end{array} = \begin{array}{c} \text{množstvo} \\ \text{kyseliny brasidovej} \end{array}$$

$$\begin{array}{c} \text{množstvo} \\ \text{kyseliny olejovej a kyseliny elaidovej} \\ \text{pri } 22^{\circ}\text{C} \end{array} - \begin{array}{c} \text{množstvo} \\ \text{kyseliny olejovej} \\ \text{pri } -30^{\circ}\text{C} \end{array} = \begin{array}{c} \text{množstvo} \\ \text{kyseliny elaidovej} \end{array}$$

pričom

$$\begin{array}{c} \text{množstvo} \\ \text{kyseliny elaidovej} \\ \text{vypočítané} \end{array} + \begin{array}{c} \text{množstvo} \\ \text{kyseliny brasidovej} \\ \text{vypočítané} \end{array} = \begin{array}{c} \text{množstvo} \\ \text{kyseliny elaidovej a kyseliny brasidovej} \\ \text{stanovené pri } -30^{\circ}\text{C} \end{array}$$



Obr. 5. Chromatografické odeľovanie kyseliny erukovej, brasidovej, olejovej a elaidovej pri rôznych teplotách vyvíjania.

Ďakujeme dr. inž. Š. Kováčovi, C. Sc., odbornému asistentovi Katedry organickej chémie SVŠT v Bratislave, za vyhotovenie infračervených spektier a za pripomienky.

Súhrn

Opisuje sa možnosť stanovenia kyseliny *cis*- $\Delta^{13:14}$ -dokozánovej (erukovej) a kyseliny *trans*- $\Delta^{13:14}$ -dokozánovej (brasidovej), ak sú v zmesi, a možnosť stanovenia jednotlivých zložiek zmesi kyseliny erukovej, kyseliny brasidovej,

kyseliny *cis*- $\Delta^9:10$ -oktadecénovej (olejovej) a kyseliny *trans*- $\Delta^9:10$ -oktadecénovej (elaidovej) metódou rozdeľovacej chromatografie na papieri. Využila sa rôzna teplota vyvíjania.

Súčasne sa pripravili infračervené spektroskopické záznamy. Ukázalo sa, že kým infračervená spektroskopia dáva pre obidva *trans*-izoméry spoločný pás v oblasti $10,33 \mu$ (970 cm^{-1}), možno z chromatogramov vyvíjaných za rôznych teplôt pomerne jednoduchým spôsobom určiť kvantitatívne jednotlivé *trans*-formy vedľa ich *cis*-foriem.

Metóda je dobre reprodukovateľná. Sledovanie rafinácie a hydrogenácie repkového oleja opísanou metódou uvedieme v ďalšej práci.

ВЗАИМНОЕ ДЕЛЕНИЕ *ЦИС*-, *ТРАНС*-ФОРМ ЭРУКОВОЙ КИСЛОТЫ И *ЦИС*-, *ТРАНС*-ФОРМ МАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ МЕТОДОМ РАЗДЕЛИТЕЛЬНОЙ БУМАЖНОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ

В. КОМАН, Э. КОМАНОВА

Кафедра технической микробиологии и биохимии Словацкой высшей технической школы в Bratislave

Рационализаторский отдел и. п. Пальма в Bratislave

Выводы

В работе описана возможность определения кислоты *цис*- $\Delta^{13:14}$ -докозановой (эруковой) и кислоты *транс*- $\Delta^{13:14}$ -докозановой (бразидовой) если они в смеси и возможность определения отдельных компонентов смеси эруковой, бразидовой, *цис*- $\Delta^9:10$ -октадеценовой (масляной) и *транс*- $\Delta^9:10$ -октадеценовой (элайдовой) кислот методом разделительной бумажной хроматографией. В работе используются разные температуры проявления.

Одновременно снялись инфракрасные спектры. Показалось, что пока инфракрасные спектры дают для обоих *транс*-изомеров общую полосу в области $10,33 \mu$ (970 cm^{-1}) можно из хроматограмм проявлением при различных температурах относительно простым образом количественно определить отдельные *транс*-формы возле их *цис*-форм.

Метод хорошо воспроизводим. Наблюдение за очисткой и гидрированием масла раиса описанным методом будет приведен в следующей работе.

Поступило в редакцию 4. 9. 1960 г.

GEGENSEITIGE TRENNUNG DER *CIS*-, *TRANS*-FORMEN DER ERUCASÄURE UND DER *CIS*-, *TRANS*-FORMEN DER ÖLSÄURE DURCH DIE METHODE DER PAPIERCHROMATOGRAPHIE

V. KOMAN, E. KOMANOVÁ

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

Entwicklungsarbeitsstätte des Nationalunternehmens Palma in Bratislava

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird die Möglichkeit der Bestimmung der *cis*- $\Delta^{13:14}$ -Dokosansäure (Erucasäure) und der *trans*- $\Delta^{13:14}$ -Dokosansäure (Brassidinsäure), wie sie im Gemisch vorhanden sind, und die Möglichkeit der Bestimmung der einzelnen Bestand-

teile eines Gemischs aus Erucasäure, Brassidinsäure, *cis*- $\Delta^9:10$ -Octadecensäure (Ölsäure) und *trans*- $\Delta^9:10$ -Octadecensäure (Elaidinsäure) mit Hilfe der Methode der Papierchromatographie beschrieben. Bei dieser Arbeit werden verschiedene Entwicklungstemperaturen verwendet.

Gleichzeitig wurden infrarotspektroskopische Aufnahmen hergestellt. Es hat sich gezeigt, dass falls die Infrarotspektroskopie für beide *trans*-Isomeren eine gemeinsame Zone im Gebiet $10,33 \mu$ (970 cm^{-1}) gibt, die Möglichkeit besteht, aus den bei verschiedenen Temperaturen entwickelten Chromatogrammen auf verhältnismässig einfache Weise quantitativ die einzelnen *trans*-Formen neben deren *cis*-Formen zu ermitteln.

Diese Methode ist gut reproduzierbar. Die Untersuchung der Raffination und Hydrierung von Rüböl durch die beschriebene Methode wird in einem weiteren Teil dieser Arbeit beschrieben werden.

In die Redaktion eingelangt den 4. 9. 1960

LITERATÚRA

1. Boman T. J., J. Sci. Ind. Research *13 B*, 718 (1954). — 2. Schlenck H., Gellermann I. L., Tillotson J. A., Mangold H. K., J. Am. Oil Chemists' Soc. *34*, 377 (1957). — 3. Kaufmann H. P., Mohr E., Fette u. Seifen Anstrichmittel *60*, 165 (1958). — 4. Michalec Č., Biochim. Biophys. Acta *28*, 212 (1958). — 5. Ahlers N. H. E., Brett R. A., McTaggart N. G., J. Appl. Chem. *3* (Oktober), 433 (1953). — 6. Koman V., Komanová E., Chem. zvesti *14*, 690 (1960). — 7. O'Connor R. T., J. Am. Oil Chemists' Soc. *33*, 1 (1956). — 8. Markley K. S., *Fatty acids*, New York 1957, 141. — 9. Benton F. L., Kiess A. A., Harwood H. J., J. Am. Oil Chemists' Soc. *36*, 457 (1959). — 10. Kaufmann H. P., Skiba K. J., Fette u. Seifen Anstrichmittel *60*, 261 (1958); Rasim—Tulus M., Izgi O. Y., Arch. Pharm. *289*, 127 (1956). — 11. Kaufmann H. P., Chowdhury D. K., Chem. Ber. *91*, 2117 (1958). — 12. Bailey A. E., *Industrial Oil and Fat Products*, New York 1945. — 13. Von Hadorn H., Biefer K. W., Trav. chem. alim. d'hyg. *47*, 84 (1956). — 14. Kaufmann H. P., Volbert F., Mankel G., Fette u. Seifen Anstrichmittel *61*, 643 (1959). — 15. Schilling K., Fette u. Seifen Anstrichmittel *61*, 765 (1959).

Do redakcie došlo 4. 9. 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.