

CHROM. 579I

Dünnschichtchromatographisch-enzymatische Bestimmung von Mono-, Di- und Triglyceriden in Glycerid-Gemischen

Es wird eine Methode zur spezifischen Bestimmung von Mono-, Di- und Triglyceriden in Glycerid-Gemischen beschrieben.

Das Glycerid-Gemisch wird dünnschichtchromatographisch in Mono-, Di- und Triglycerid-Zonen aufgetrennt. Die Zonen werden von der DC-Platte abgekratzt, die Glyceride in Gegenwart des Trägermaterials verseift und das entstandene Glycerin enzymatisch^{1,2} bestimmt. Damit wird die in Lit. 3 dargestellte Methode zur Mono-, Di- und Triglycerid-Bestimmung hinsichtlich Genauigkeit und Reproduzierbarkeit verbessert.

Experimentelles

Etwa 50–100 mg der zu untersuchenden Probe löst man in 10.0 ml Chloroform p.A. Mit 0.5 ml dieser Lösung, die in ca. 3 cm langen Banden aufgetragen wird, führt man die dünnschichtchromatographische Trennung durch.

Laufmittel: Petroläther (SP 40–60°C)–Essigsäureäthylester (70:30). Sorbent: Kieselgel F₂₅₄ (PSC-Fertigplatten der Fa. Merck). Indikatorreagenz: s. Lit. 3.

Die Mono-, Di- und Triglycerid-Zonen werden von der DC-Platte abgekratzt. Mit 8.0 bis 10.0 ml einer 0.5 N äthanolischen Kalilauge werden die Glyceride, in Gegenwart des Trägermaterials, unter Schütteln oder Rühren bei 70° innerhalb von 70 min verseift. Anschliessend wird das Reaktionsgefäss zum Abkühlen in ein Eisbad gestellt. Der Rückstand wird abgenutscht. Das Filtrat versetzt man mit einigen Tropfen einer 1%igen äthanolischen Phenolphthalein-Lösung und mit 2.5 N Perchlorsäure bis zur Neutralisation. Das Verseifungsgefäss bleibt für ca. 30 min im Eisbad.

TABELLE I

MONO-, DI- UND TRIGLYCERID-BESTIMMUNG IM GLYCERID-GEMISCH

Bezugssubstanzen: Monopalmitat (99.9%), Glycerindicaprylat (99.8%) und Glycerinmonostearoyldicapronat (99.6%), dünnschichtchromatographisch rein. Freies Glycerin ist nicht nachweisbar.

| Lfd. Nr. der Analysen | Glycerid-Gemisch bestehend aus | | | | | | | | |
|-----------------------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------------|--------------------|--------------|--------------------------------------|--------------------------------|--------------|--------------------------------------|
| | Monopalmitat | | | Glycerindicaprylat | | | Glycerinmonostearoyldicapronat | | |
| | Einwaage (mg) | Gef. (mg) | Wieder- findungs- quote (%) | Einwaage (mg) | Gef. (mg) | Wieder- findungs- quote (%) | Einwaage (mg) | Gef. (mg) | Wieder- findungs- quote (%) |
| 1 | 151.73 | 156.0 | 102.8 | 248.1 | 244.98 | 98.7 | 398.2 | 399.98 | 100.4 |
| 2 | 151.73 | 151.0 | 99.5 | 248.1 | 246.09 | 99.2 | 398.2 | 399.98 | 100.4 |
| 3 | 151.73 | 154.0 | 101.4 | 248.1 | 240.50 | 96.9 | 398.2 | 387.37 | 97.2 |
| 4 | 151.73 | 151.0 | 99.5 | 248.1 | 243.86 | 98.3 | 398.2 | 396.37 | 99.5 |
| 5 | 151.73 | 151.0 | 99.5 | 248.1 | 246.09 | 99.2 | 398.2 | 398.18 | 99.9 |
| Mittel- werte | | 152.6 ^a | 100.5 ^a | | 244.30 | 98.5 ^a | | 396.37 | 99.5 ^a |
| Srel. | | 1.5% | | | 0.95% | | | 1.32% | |

^a Auf- bzw. abgerundet.

Danach wird abfiltriert oder zentrifugiert, der Rückstand mit *ca.* 10.0 bis 20.0 ml Wasser gewaschen, die Filtrate vereinigt und diese mit Pufferlösung^{1,2} auf 100.0 ml aufgefüllt. Sollte eine kolloidale Lösung vorliegen, so muss ein aliquoter Teil dieser Lösung zentrifugiert werden.

Mit 0.5 ml der Lösung wird die enzymatische Analyse nach Lit. 2 durchgeführt.

Ergebnisse

Trotz der zusätzlichen dünnschichtchromatographischen Trennung und der Verseifung der von der DC-Platte abgekratzten Glyceride in Gegenwart des Trägermaterials sind die Werte mit denen der direkten Glycerid-Bestimmung^{1,2} von reinen Mono-, Di- und Triglyceriden vergleichbar.

Bei einer Einwaage eines Glycerid-Gemisches und jeweils Fünffach-Bestimmungen der abgetrennten Glyceride wurden im Mittel Abweichungen vom tatsächlichen Wert in Höhe von 0.5, -1.5 und -0.5% gefunden. Die relativen Standardabweichungen (s_{rel}) der gefundenen Werte betragen für die Monoglycerid-Bestimmung 1.5%, für die des Diglycerides 0.95% und für die des Triglycerides 1.32% (Tabelle I).

Ein Vergleich der Werte in Lit. 3 mit denen in Tabelle I zeigt, dass die direkte Verseifung der Glyceride in Gegenwart des Trägermaterials besser reproduzierbare und genauere Werte liefert.

*Unilever Forschungsgesellschaft mbH,
Behringstrasse 154,
2 Hamburg 50 (B.R.D.)*

G. BERNER

1 G. BERNER UND G. GUHR, *Fette Seifen Anstrichm.*, 71 (1969) 459.

2 G. BERNER, *Milchwiss.*, 24 (1969) 284.

3 G. BERNER, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 141 (1969) 318.

Eingegangen am 31. August 1971

J. Chromatogr., 64 (1972) 388-389