

CHROM. 8666

Note

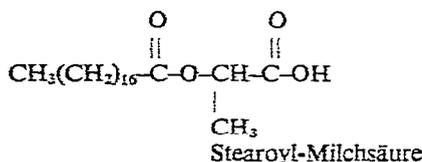
Dünnschichtchromatographischer Nachweis von Calcium- und Natrium-Stearoyllactylat neben anderen Emulgatoren in Lebensmitteln

E. REGULA

Laboratorium der Firma Ulmer Spatz, Vater und Sohn Eiselen, Gartenstrasse 36, D-791 Neu-Ulm (B.R.D.)

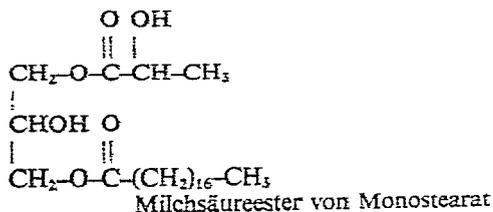
(Eingegangen am 9. Juli 1975)

Die Calcium- und Natriumsalze der Stearoyl-Milchsäure werden als Emulgatoren bei Lebensmitteln, kosmetischen und pharmazeutischen Produkten verwendet.



Die Handelsprodukte Calcium- und Natrium-Stearoyllactylat (bzw. CSL und NSL) enthalten ausser Stearoyl- und Palmitoyllactat wechselnde Anteile von Estern der Lactylmilchsäure und höherer Milchsäurepolymeren. Die Stearoyllactylate sind nicht in allen Ländern für Lebensmittel zugelassen, daher besteht Interesse an einem spezifischen Nachweis neben anderen Emulgatoren und Lebensmittelbestandteilen.

Der Nachweis von CSL und NSL wird vor allem durch die Verwechslungsmöglichkeit mit Lactoglyceriden (Milchsäureester von Mono- und Diglyceriden) erschwert.



Es gibt nur wenige Arbeiten, die sich mit der Analytik der Stearoyllactylate beschäftigen. Im *Food Chemicals Codex* wird für den Nachweis und die Bestimmung der Bestandteile von Fettsäurelactylestern ein dünnschichtchromatographisches (DC) und ein gaschromatographisches (GC) Verfahren angegeben¹, die Bestimmungsmethoden für Calcium-Stearoyllactylat beruhen auf der Ermittlung von Esterzahl, Calcium- und Milchsäuregehalt². Jurriens *et al.*³ verwenden gaschromatographische und titrimetrische Methoden zur Analyse von Calciumstearoyllactylat. Im *Food Additives Analytical Manual* wird ein sehr umständliches säulenchromatographisches Verfahren

für die Auftrennung von Fettsäurelactylestern beschrieben⁴. Kröller⁵ weist die Bestandteile Stearinsäure und Milchsäure nach saurer Verseifung des Emulgators durch Umkehrphasen-Papierchromatographie nach. Alle genannten Methoden sind zum Nachweis von Stearoyllactylaten neben anderen Emulgatoren wenig geeignet.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Ausarbeitung einer DC-Methode für den qualitativen Nachweis von Stearoyllactylaten neben anderen Emulgatoren.

METHODIK UND MATERIAL

Extraktion des Emulgators

Aus pulverförmigen und pastenförmigen Produkten, z.B. Backmitteln, kann der Emulgator mit Dichlormethan extrahiert werden. Man extrahiert mehrmals und dampft das Lösungsmittel im Rotationsverdampfer ab. Wenn der Dichlormethanextrakt 10% oder mehr Stearoyllactylat enthält, kann er direkt zum DC-Nachweis verwendet werden. Wenn wenig Emulgator neben viel Fett vorhanden ist, wird eine Anreicherung nötig, z.B. durch präparative Säulenchromatographie auf Kieselgel⁶.

DC-Arbeitsbedingungen

Die DC-Arbeitsbedingungen waren wie folgt.

Schicht: Kieselgel G nach Stahl, Schichtdicke 0.25 mm auf Glasplatten, 20 × 20 cm.

Fliessmittel: *n*-Hexan-Aceton-Eisessig (92:4:4); Kammersättigung; Zweifachentwicklung mit *ca.* 5 min Zwischentrocknung bei Raumtemperatur.

Sprühreagenz 1: 150 mg Dichlorfluorescein gelöst in 100 ml Äthanol (96%).

Sprühreagenz 2: 40 mg Bromkresolgrün gelöst in 100 ml Äthanol (96%) und versetzt mit 0.1 *N* NaOH bis zur Blaufärbung.

Untersuchungslösungen: 5%ig in Dichlormethan bei reinen Emulgatoren; 5–10 μ l werden bandförmig aufgetragen, bei Lebensmittel-Extrakten entsprechend mehr, je nach Emulgatorgehalt.

Vergleichslösung: 5%ige Lösung von Calciumstearoyllactylat; 5 μ l werden bandförmig aufgetragen.

Es ist zweckmässig, die Platte in zwei Hälften einzuteilen und auf beide Seiten die gleichen Probe- und Vergleichslösungen aufzutragen. Nach dem zweiten Lauf wird so lange mit Warmluft (Fön) getrocknet, bis kein Essigsäuregeruch mehr wahrnehmbar ist. Man kann die Platten auch über Nacht in säurefreier Atmosphäre liegen lassen. Eine Hälfte des Chromatogramms wird mit Dichlorfluorescein, die andere mit Bromkresolgrün besprüht. Mit Reagenz 1 werden alle Lipide durch Fluoreszenz im UV sichtbar, Reagenz 2 gibt gelbe Flecken mit allen sauren Substanzen.

Untersuchte Emulgatoren

Die untersuchten Emulgatoren waren: Calciumstearoyllactylat (2 Muster, CSL A und CSL C); Natriumstearoyllactylat (2 Muster, NSL B und NSL C); Lactoglyceride (3 Muster, LG C 1, LG C 2 und LG D); acetylierte Mono-Diglyceride (AG); Diacetylweinsäureester von Mono- und Diglyceriden (AWG); Zitronensäureester von Mono- und Diglyceriden (ZG); Destilliertes 90%iges Monoglycerid (MG); Handelslecithin aus Soja (HL); Dichlormethanextrakte aus Backmitteln (2 Muster, BM 1 und BM 2).

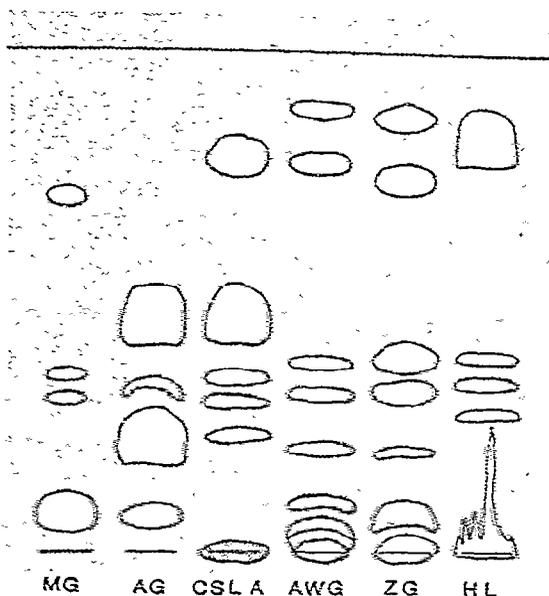


Fig. 1. DC verschiedener Emulgatoren, Sprühreagens Dichlorfluorescein. MG = Monoglycerid; AG = Acetoglycerid; CSL A = Calciumstearoyllactylat; AWG = Diacetylweinsäureester; ZG = Zitronensäureglyceride; HL = Handelslecithin.

ERGEBNISSE

Unter den oben beschriebenen DC-Arbeitsbedingungen (modifiziert nach Lit. 1) erhält man von allen untersuchten Emulgatoren charakteristische Chromatogramme. Mit unspezifischen Lipid-Reagenzien wie Dichlorfluorescein (Fig. 1, 2 und 3b) ist es nicht zweifelsfrei möglich, Acetoglyceride und Stearoyllactylate zu unterscheiden, besonders wenn daneben noch Fruchtsäureester von Mono- und Diglyceriden vorliegen. Erst durch Verwendung von Säure-Base-Indikatoren als Sprühreagenzien wird es möglich, die Stearoyllactylate ganz eindeutig neben allen anderen Emulgatoren zu erkennen. Bromkresolgrün ist dafür nach unseren Erfahrungen am besten geeignet (Fig. 3a, 4 und 5). Alle sauren Emulgatorbestandteile geben deutlich sichtbare gelbe Flecken auf blauem Grund. Stearoyllactylate zeigen folgende Fleckenverteilung (von oben nach unten): Der oberste Fleck entspricht den freien Fettsäuren (Stearinsäure und Palmitinsäure); Stearoylmilchsäure erscheint als starker Fleck in der Mitte des Chromatogramms, darunter eine Reihe von Flecken mit gegen den Start zu abnehmender Grösse: Ester der Stearinsäure mit Polymeren der Milchsäure; knapp über dem Start ist freie Milchsäure als gelber Fleck sichtbar, die Calcium- und Natriumionen bleiben als Acetate am Start (blauer Fleck). In einem Natriumstearoyllactylat-Muster (NSL B) fehlen die Stearinsäureester der Milchsäurepolymeren, in zwei Mustern (NSL C und CSL C) ist keine freie Milchsäure nachweisbar (Fig. 5). Keiner der anderen untersuchten Emulgatoren zeigte mit Bromkresolgrün saure Bestandteile in Höhe des Stearoylmilchsäureflecks (Fig. 4). Nur bei einem Lactoglyceridmuster (LG D) trat ein schwacher gelber Fleck an dieser Stelle auf (Fig. 5). Es ist zu vermuten, dass dieses Produkt tatsächlich etwas Stearoylmilchsäure enthält.

Fig. 3 zeigt ein Beispiel für die Anwendung der Methode bei der Analyse von

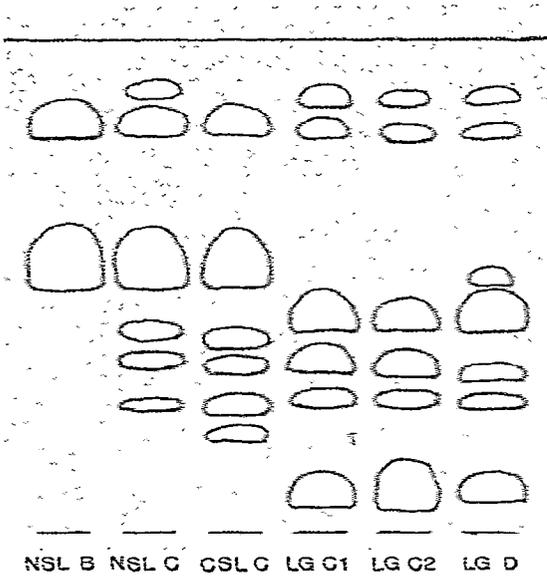


Fig. 2. Stearoyllactylate und Lactoglyceride; Sprühreagens, Dichlorfluorescein. NSL B und NSL C = 2 Muster Natriumstearoyllactylat; CSL C = Calciumstearoyllactylat; LG C 1, LG C 2 und LG D = 3 Muster Lactoglyceride.

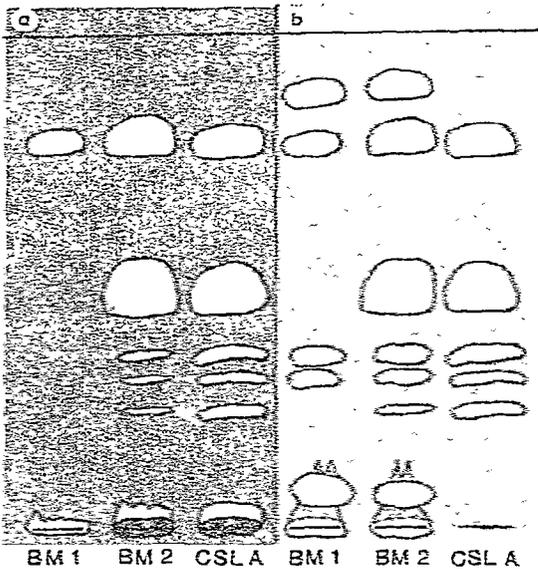


Fig. 3. Untersuchung von Dichlormethanextrakten aus Backmitteln (BM 1 und BM 2) mit Calciumstearoyllactylat (CSL A) als Vergleichssubstanz. Sprühreagenzien, (a), Bromkresolgrün und (b), Dichlorfluorescein.

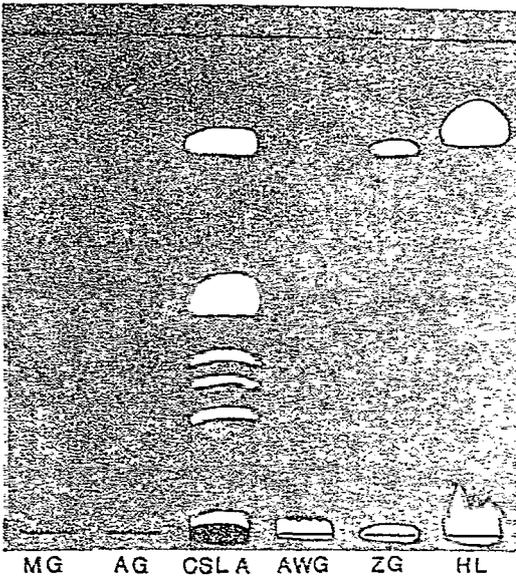


Fig. 4. Anordnung und Menge der Emulgatoren wie bei Fig. 1; Sprühreagens, Bromkresolgrün.

Backmitteln. Aufgetragen wurden die Dichlormethanextrakte von zwei Backmitteln (BM 1 und BM 2). Beide Produkte enthielten Handelslecithin und vermutlich Mono- und Diglyceride. In beiden Proben wurde nach Verseifung Milchsäure nachgewiesen, allerdings in BM 2 wesentlich mehr als in BM 1. Das Chromatogramm zeigt deutlich, dass nur BM 2 Stearoyllactylat enthält.

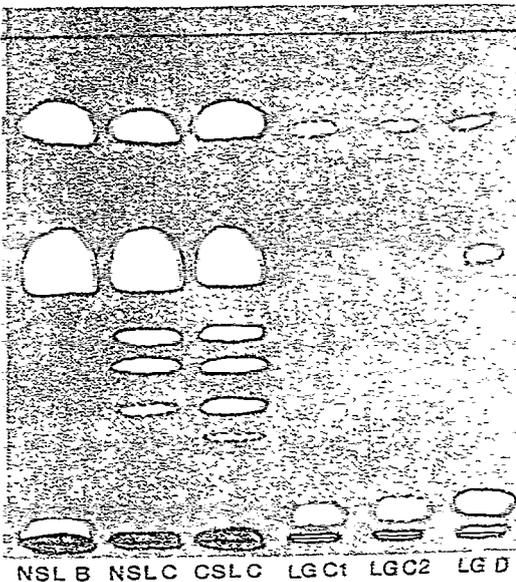


Fig. 5. Anordnung und Menge der Emulgatoren wie bei Fig. 2; Sprühreagens, Bromkresolgrün.

DANK

Für die wertvolle Hilfe bei der Ausarbeitung der Methode danke ich Frau K. Speh.

LITERATUR

- 1 *Food Chemicals Codex*, National Academy of Sciences, National Research Council, Washington, D.C., 1. Aufl. 1966, S. 365.
- 2 *2nd Supplement to the Food Chemicals Codex*, National Academy of Sciences, National Research Council, Washington, D.C., 1. Aufl. 1968, S. 2.
- 3 G. Jurriens, J. H. Recourt und N. H. Klootwijk, *Cereal Chem.*, 43 (1966) 669.
- 4 *Food Additives Analytical Manual, Food Additives Reg. 121.1048, Lactylic Esters of Fatty Acids*, U.S. Department of Health, Education and Welfare, Food and Drug Administration, Washington D.C., 1973.
- 5 E. Kröller, *Fette, Seifen, Anstrichm.*, 71 (1969) 896.
- 6 S. Srebrnik-Friszman und C. Charon, *Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg.*, 61 (1970) 220.