

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 49 (1958)

Heft: 4

Artikel: Die Radialpapierchromatographie auf dem Gebiet der Fette und Lipide : die höheren Fettsäuren

Autor: Sulser, H.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982539>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 08.02.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Die Radialpapierchromatographie auf dem Gebiet der Fette und Lipide: Die höheren Fettsäuren

Von *H. Sulser*

(Laboratorium des Eidg. Gesundheitsamtes, Bern)

Vor kurzem wurde in dieser Zeitschrift eine Methode beschrieben (*Sulser und Högl 1957*) (vgl. auch *Riemersma und Stoutjesdijk 1958*), mit Hilfe der Umkehrphasenpapierchromatographie das Cholesterin von den Phytosterinen und letztere weitgehend voneinander zu trennen. Dabei imprägniert man das Papier, welches einen speziellen Zuschnitt aufweist (Radialtechnik) (*Sulser 1956, 1957*), mit einer Lösung von Paraffin subliquidum in Benzin und verwendet 85%ige wässrige Essigsäure als Fliessmittel.

Es zeigte sich, dass die prinzipiell gleiche Technik ohne weiteres auch geeignet ist, um die Gemische höherer Fettsäuren, wie sie in den Nahrungsfetten des Handels vorliegen, in ihre Komponenten zu zerlegen. Im Folgenden soll auf die Ausführung und Anwendung dieser Fettsäureanalyse eingegangen und auch gleichzeitig eine methodische Vereinfachung der Radialtechnik angegeben werden, welche von allgemeinem Interesse ist.

Das Gebiet der Papierchromatographie der höhern Fettsäuren wurde vor allem von *Kaufmann* und Mitarbeitern gefördert. Diese Autoren (*Kaufmann und Nitsch 1954*) lassen das Fliessmittel (90%ige Essigsäure) in der üblichen Weise aufsteigen, nachdem die Papiere mit Undecan (Kp. 195° C) imprägniert worden sind. Diese Arbeitsweise hat sich für viele Fälle bewährt. Der Vorteil des hier beschriebenen Verfahrens ist in der ausgeprägten Trennschärfe zu erblicken, welche die Chromatogramme auch für die quantitative Auswertung, sei es nach dem einen oder andern Verfahren, geeignet erscheinen lässt. Daneben ermöglicht die Kreispapierchromatographie das Anfärben derselben getrennten Substanzen mit mehreren verschiedenen Reagentien.

Methode

Bei der Isolierung der Fettsäuren geht man zuerst vor wie bei der Analyse der Sterine beschrieben. Nachdem das Unverseifbare ausgeschüttelt ist, säuert man an und extrahiert die ausgefallenen Fettsäuren ebenfalls mit Aether. Nach dem Entwässern desselben verdampft man ihn und erhält die Fettsäuren.

Zur Chromatographie löst man etwa 450 mg der isolierten Fettsäuren in 1 ml Chloroform und setzt zu der Lösung noch 1 ml Undecan hinzu. Davon bringt man 4 — 6 μ l, entsprechend 900 — 1350 γ Fettsäuregemisch, auf das Papier, welches vorher mit einer 10%igen Lösung von Paraffinöl subliquidum PhH in

Benzin, wie früher beschrieben, imprägniert wurde. Die geeigneten Papiersorten sind Nr. 2043b matt und Nr. 2040b matt von Schleicher & Schüll.

Die Radialtechnik ist im Prinzip gleich wie früher, d.h. vertikale Anordnung der grossen Papierbogen auf einer Haltevorrichtung. Dabei können 6—8 Bogen gleichzeitig chromatographiert werden, je nach der Grösse der verfügbaren Kammer. Die Papierbogen hängen auch in feuchtem Zustand parallel, es besteht keine Gefahr einer gegenseitigen Berührung. Jedoch sind wir davon abgekommen, das Fliessmittel mit Hilfe von Filtertabletten und Papierdochten zuzuführen (*Sulser 1956*), weil es oft etwas schwierig ist, einen Docht genau gleich zu wickeln wie den andern. Dies hat zur Folge, dass die Wanderungsgeschwindigkeit von Bogen zu Bogen mehr oder weniger stark wechseln kann. Ausserdem braucht es eine gewisse Geschicklichkeit, den Docht an der schmalen Papierzunge zu befestigen, ohne sie zu beschädigen.

Abbildung 1 zeigt die neue Form, wie sie sich für die Trennung sowohl der Fettsäuren als auch der Sterine bewährt hat. Die gelöste Substanz wird strichförmig auf den schmalen Papierstreifen aufgetragen, welcher die Zufuhr des Fliessmittels besorgt. Durch die Form dieses Streifens (parallel oder keilförmig), sowie seine Breite lässt sich die Dauer der Entwicklung den jeweiligen Erfordernissen anpassen. Im vorliegenden Fall betrug die Breite 2 cm, und es wurde ca. 36 Stunden lang chromatographiert. Das Ende des Streifens, dessen Länge 6—8 cm beträgt, taucht in den Trog mit dem Fliessmittel und wird dort mit einem Glasstab oder einer schmalen Glasplatte fixiert.

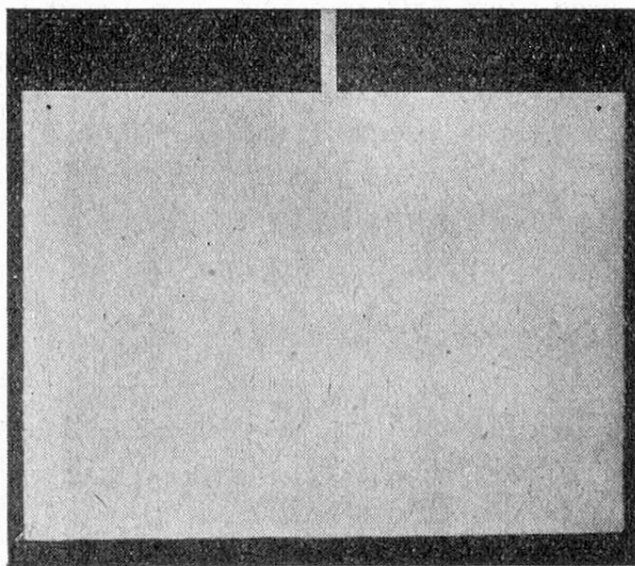


Abb. 1
Papierzuschnitt

Bezüglich der Art des Fliessmittels, der Ausführung der Chromatographie, dem Trocknen der Papiere kann auf die frühere Beschreibung verwiesen werden.

Zum Anfärben der Fettsäuren bedienten wir uns einerseits der von *Kaufmann* und *Nitsch* (1954) angegebenen Ueberführung in die Kupferseifen. Man stellt sich eine gesättigte wässrige Lösung von Kupferacetat als Stammlösung her. Von dieser werden für den Gebrauch 10 ml mit 500 ml Wasser verdünnt. Man lässt die Papiere etwa 15 Minuten in dieser Lösung und anschliessend etwa 15 Minuten in fliessendem Wasser. Zur Verstärkung der Färbung bringt man sie dann etwa 10 Minuten in eine Kaliumferrocyanidlösung (12 g $K_4Fe(CN)_6$ werden in 1 Liter Wasser gelöst), wobei rotbraunes Kupferferrocyanid entsteht, und hierauf nochmals 15 Minuten in fliessendes Wasser. Auf diese Weise treten vor allem die gesättigten Fettsäuren hervor, die ungesättigten jedoch bedeutend weniger stark. — Dagegen hat sich die von *Wolfrom* und *Miller* (1956) zum Nachweis der Kohlenhydrate auf Papierchromatogrammen vorgeschlagene Permanganat-Benzidin-Methode als sehr empfindlich und auch spezifisch für ungesättigte Fettsäuren erwiesen. Man besprüht das getrocknete Chromatogramm zuerst mit einer 1%igen wässrigen Lösung von Natriummetaperjodat und nach 3—4 Minuten mit einer frisch hergestellten 1%igen wässrigen Kaliumpermanganatlösung. Nach 5 Minuten haben sich gelbe und braune Zonen gebildet. Dann wird das überschüssige Kaliumpermanganat durch Waschen mit Wasser entfernt. Nach dem Trocknen an der Luft besprüht man das Chromatogramm mit einer Benzidinlösung (1 g Benzidin, 8 g Trichloressigsäure, 20 ml wasserfreie Essigsäure, 12 ml Wasser, 160 ml absol. Alkohol). Es treten dunkelblaue Streifen auf hellblauem Untergrund hervor. Die Färbung ist längere Zeit haltbar.

Das Anfärben nahmen wir so vor, dass die getrockneten Chromatogramme zuerst längs der Fliessrichtung entzweigeschnitten wurden (vgl. die folgenden Abbildungen). Die linke Hälfte behandelten wir nach der Kupfermethode, die rechte nach der Benzidinmethode. Beide Papierstücke wurden dann wieder zusammengeklebt. Im nächsten Abschnitt wendet man diese Methode an, um hydrierte von unhydrierten Fetten zu unterscheiden.

Die ungesättigten Fettsäuren spezifisch anzufärben ist deshalb erwünscht, weil es nicht gelingt, die Fettsäuren auf dem Papier restlos zu trennen. Die sogenannten «kritischen Paare», auf die *Kaufmann* und *Lüssling* (1956) hingewiesen haben, widerstehen vorläufig allen derartigen Versuchen. Dies sind beispielsweise Oelsäure-Palmitinsäure, Linolsäure-Myristinsäure oder Erucasäure-Arachinsäure. Davon haben wir bei unsern bisherigen Untersuchungen speziell das zuerst genannte Paar angetroffen. Würde man hier nur mit Kupferacetat/Kaliumferrocyanid anfärben, so könnte man nicht beurteilen, ob neben Palmitinsäure noch Oelsäure vorhanden ist. Mit dem spezifischen Nachweis von *Wolfrom-Miller* ist dies jedoch ohne weiteres möglich. Ob umgekehrt Oelsäure allein vorliegt oder daneben noch Palmitinsäure, lässt sich allerdings auch mit der Doppelfärbung nicht beantworten, weil das Kupferreagens nicht spezifisch für gesättigte Fettsäuren ist und Oelsäure ebenfalls, wenn auch viel schwächer, angefärbt wird. Für die vorliegenden Zwecke genügt jedoch das angegebene Verfahren.

Resultate

Unterscheidung von hydrierten und unhydrierten Fetten

a) Schweinefett

In Abbildung 2 und 3 sind die von uns erhaltenen Chromatogramme der Fettsäuren von unhydriertem und hydriertem Schweinefett wiedergegeben und die Ergebnisse in Tabelle 1 zusammengestellt.

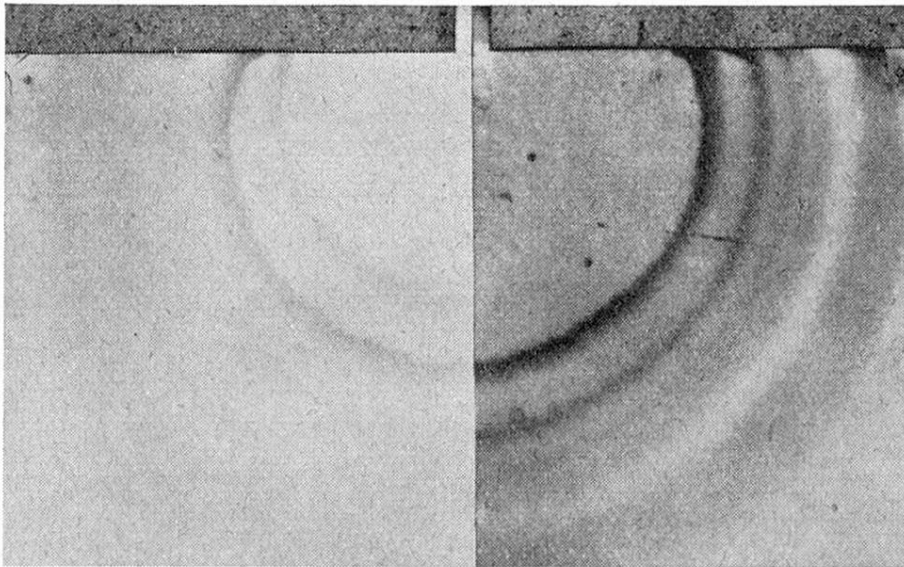


Abb. 2

Fettsäuren von unhydriertem Schweinefett

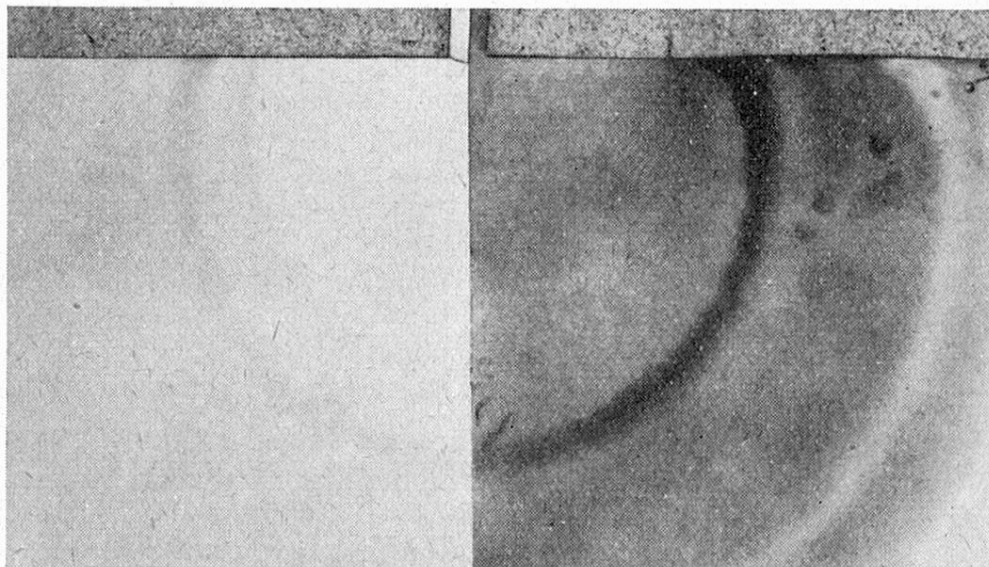


Abb. 3

Fettsäuren von hydriertem Schweinefett

Tabelle 1

	Chromatogramm linke Seite		Chromatogramm rechte Seite (ungesättigte Säuren)	
		Rf* ₁		Rf
Abb. 2	Stearinsäure	0,39	Oelsäure	0,50
	Palmitinsäure	0,50	Linolsäure	0,60
Abb. 3			Linolensäure	0,66
	Stearinsäure	0,38	Oelsäure	
	Palmitinsäure	0,50	bzw. Elaidinsäure	0,50

*) Alle Rf-Werte wurden auf den Wert von Palmitinsäure = 0,50 bezogen.

Im hydrierten Fett (Abb. 3) ist nur noch eine ungesättigte Säure vorhanden, und zwar erscheint diese Zone auffallend verbreitert. Wir vermuteten, dass es sich dabei um eine Mischung von Oelsäure und Elaidinsäure bzw. noch anderer Isoölsäuren handelte. Es wurde daher eine Probe Schweinefett-Fettsäuren mit einer Konzentration von nur 162 mg/2 ml (statt 450 mg/2 ml wie in Abb. 2 und 3), aber mit einem Zusatz von Elaidinsäure (33 mg/2 ml, entsprechend 100 γ /6 μ l) chromatographiert. Abb. 4 zeigt, dass die zugesetzte Elaidinsäure keinen

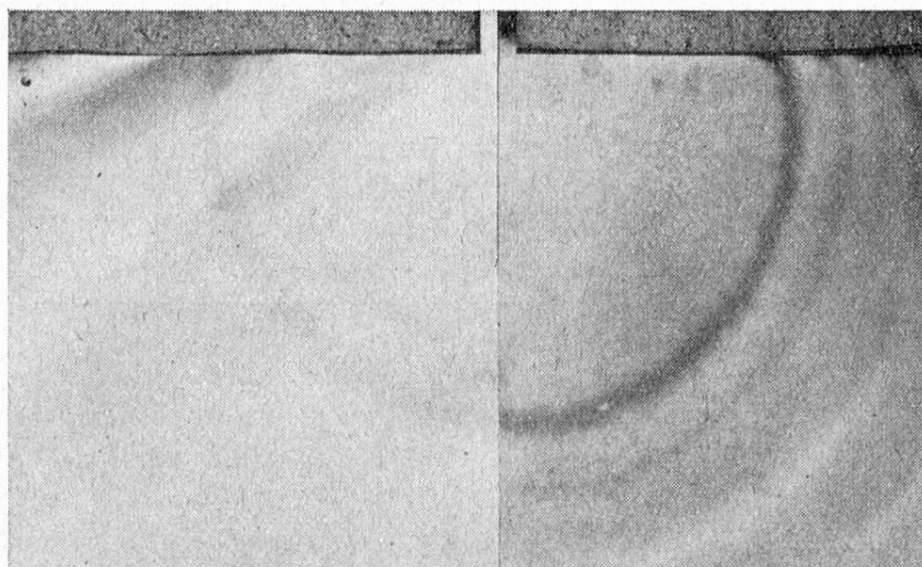


Abb. 4

Fettsäuren von unhydriertem Schweinefett mit zugesetzter Elaidinsäure

neuen Bogen hervorruft, also mit der Oelsäurezone zusammenfällt. Auch hier ist eine gewisse Verbreiterung der letzteren zu beobachten (vgl. Abb. 4 und 5). Die Cis- und Transsäure ist im R_f-Wert so ähnlich, dass an Stelle einer vollständigen Trennung nur eine gewisse Verbreiterung eintritt. Nach Kaufmann und Nitsch (1955) lassen sich cis-transisomere höhere Fettsäuren chromatographisch nicht trennen. Tabelle 2 enthält die R_f-Werte von Abbildung 4.

Tabelle 2

	Chromatogramm linke Seite	Chromatogramm rechte Seite (ungesättigte Säuren)	
Abb. 4		Rf	
	Stearinsäure	0,39	
	Palmitinsäure	0,50	
	Oelsäure bzw. Elaidinsäure	0,50	
		Linolsäure	0,60
		Linolensäure	0,66

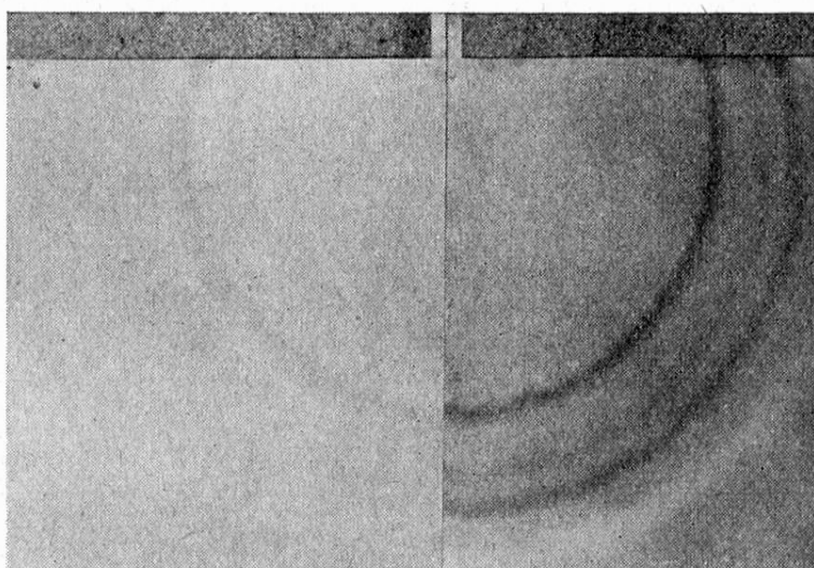


Abb. 5

Fettsäuren von unhydriertem Schweinefett mit zugesetzter Linolensäure

In bezug auf die ungesättigten Säuren in Abbildung 2 hat man angenommen, dass die Zone mit dem höchsten R_f -Wert der Linolensäure zukommt. Um dies zu beweisen, wurde auch hier ein Zusatz vorgenommen in Form reiner Linolensäure (33 mg/2 ml, zu 450 mg Fettsäuren/2 ml). Abbildung 5 zeigt, dass die zugesetzte Linolensäure keine neue Zone bildet. Die R_f -Werte sind in Tabelle 3 zusammengestellt.

Tabelle 3

	Chromatogramm linke Seite	Chromatogramm rechte Seite (ungesättigte Säuren)	
Abb. 5		Rf	
	Stearinsäure	0,39	
	Palmitinsäure	0,50	
	Oelsäure	0,50	
		Linolsäure	0,59
		Linolensäure	0,64

In der Literatur wird von den ungesättigten Fettsäuren des Schweinefettes oft nur die Oelsäure und Linolsäure angegeben, während die Anwesenheit geringer Mengen Linolensäure vielfach der Aufmerksamkeit zu entgehen scheint.

Was schliesslich die gesättigten Säuren betrifft, so geht aus Abbildung 2 und 3 hervor, dass der Gehalt an Stearinsäure im Verlauf der Hydrierung keine bemerkbaren Veränderungen erfährt.

b) Palmöl

Tabelle 4 zeigt die entsprechenden Verhältnisse bei Palmöl (entfärbt, bei Zimmertemperatur fest).

Tabelle 4

	Chromatogramm linke Seite	Chromatogramm rechte Seite (ungesättigte Säure)
	Rf	Rf
ungehärtet	Stearinsäure kaum sichtbar Palmitinsäure 0,50	Oelsäure 0,50 Linolsäure 0,61
gehärtet	Stearinsäure 0,40 Palmitinsäure 0,50	Oelsäure bzw. Elaidinsäure 0,50

Auch hier war neben dem fast vollständigen Verschwinden der Linolsäure eine gewisse Verbreiterung der Oelsäure- bzw. Elaidinsäurezone festzustellen.

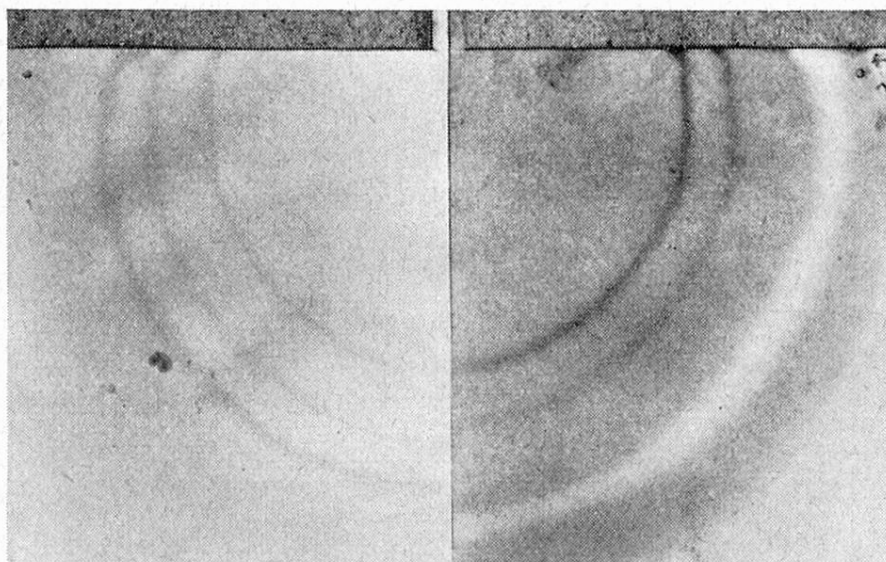


Abb. 6
Fettsäuren von unhydriertem Cocosfett

c) Cocosfett

Die Fettsäuren des Cocosfettes sind gekennzeichnet durch das Vorwiegen der niederen gesättigten, vor allem der Laurinsäure (grösster R_f -Wert), wie aus Abbildung 6 und 7, sowie Tabelle 5 hervorgeht. Auch Oelsäure und Linolsäure sind feststellbar, jedoch besonders die erstere in viel geringerer Menge als bei Schweinefett und Palmöl.

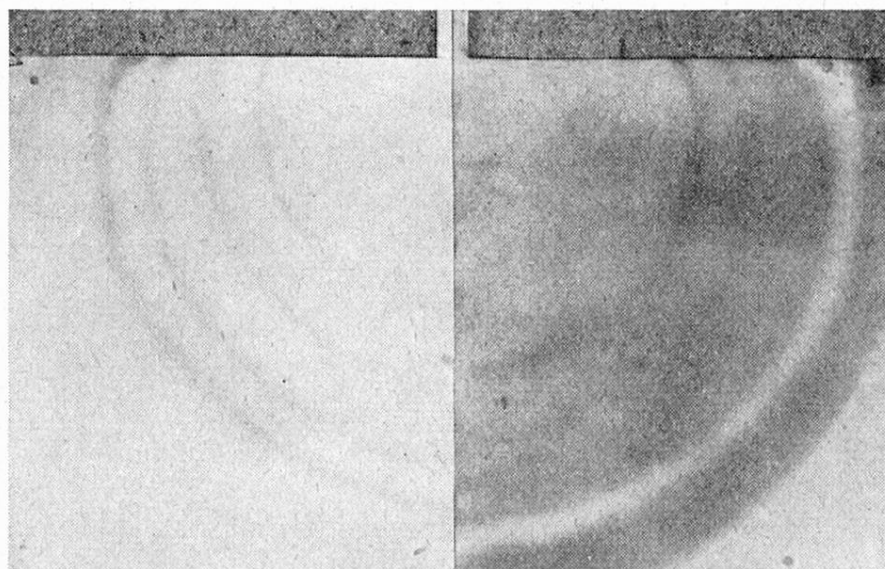


Abb. 7
Fettsäuren von hydriertem Cocosfett

Tabelle 5.

	Chromatogramm linke Seite	Chromatogramm rechte Seite (ungesättigte Säuren)
	R_f	R_t
Abb. 6	Stearinsäure kaum sichtbar Palmitinsäure 0,50 Myristinsäure 0,61 Laurinsäure 0,68	Oelsäure 0,50 Linolsäure 0,59
Abb. 7	Stearinsäure, deutlich 0,38 Palmitinsäure 0,50 Myristinsäure 0,62 Laurinsäure 0,68	Oelsäure bzw. Elaidinsäure 0,50

Infolge der im Vergleich zu Schweinefett und Palmöl geringen Mengen Oelsäure tritt die Elaidinierung als Folge der Hydrierung beim Cocosfett nicht so deutlich in Erscheinung. Gut erkennbar ist jedoch, dass der Gehalt an Oelsäure und Linolsäure abnimmt, während derjenige an Stearinsäure deutlich zugenommen hat.

Der Firma ASTRA Fett- und Oelwerke AG, Steffisburg, wird für die Ueberlassung der verschiedenen Fettmuster der beste Dank ausgesprochen.

Zusammenfassung

Der Anwendungsbereich der früher zur Analyse der Sterine verwendeten Halbkreis-papierchromatographie mit umgekehrten Phasen wird auf die höheren Fettsäuren ausgedehnt. Der Zuschnitt der Papiere ist etwas abgeändert, um eine gleichmässige Zufuhr des Fließmittels zu erreichen.

Résumé

Le domaine d'application de la méthode de chromatographie sur demi-cercles de papier avec phases inversées, décrite précédemment pour l'analyse des stérines, a été étendu aux acides gras supérieurs.

La coupe du papier a été légèrement modifiée pour permettre une alimentation en dissolvant plus régulière.

Summary

Description of the reversed phase radial paper chromatography of higher fatty acids (this method has already been used and described by the author for the separation of sterines).

The cut of the paper is slightly modified in order to allow the solvent to flow more regularly.

Literatur

- Kaufmann, H. P. und Nitsch, W. H.*, Fette und Seifen **56**, 154 (1954).
Kaufmann, H. P. und Nitsch, W. H., Fette und Seifen **57**, 473 (1955).
Riemersma, J. C. und Stoutjesdijk, W., diese Mitt. **49**, 115 (1958).
Sulser, H., diese Mitt. **47**, 149 (1956).
Sulser, H., diese Mitt. **48**, 117 (1957).
Sulser, H. und Högl, O., diese Mitt. **48**, 248 (1957).
Wolf from, M. L. und Miller, J. B., Analyt. Chemistry **28**, 1037 (1956).