

Overenie štruktúrnej analýzy triacylglycerolových tukov a olejov použitím Grignardovho činidla

VÁCLAV KOMAN — JARMILA HOJEROVÁ — MIROSLAV ZÁHORANSKÝ

Súhrn. Sleduje sa stereospecificky a materiálovo priaznivejšia štruktúrna analýza triacylglycerolových molekúl prírodných i preesterifikáciou pozmenených vzoriek tukov a olejov, a z toho potom vyplývajúce korelácie výsledných fyzikálnych, chemických i biologických vlastností. K tomu sa overovala a upravovala tá časť metodických nadväzností, ktorá je určujúcou čo do stereospecificity distribúcie mastných kyselín na jednotlivých polohách triacylglycerolových molekúl.

Využil, overil a upravil sa spôsob hydrolýzy triacylglycerolových tukov a olejov s Grignardovým činidlom a porovnal sa s doteraz bežne používanou stereospecifickou hydrolýzou s pankreatickou lipázou.

Na porovnanie oboch hydrolyzujúcich činidiel sa neriadeným spôsobom preesterifikačnej reakcie pripravila sada vzoriek zmesi hovädzieho loja a slnečnicového oleja. Ukázalo sa, že limitujúcou podmienkou aplikácie Grignardovho činidla pri štruktúrnej analýze triacylglycerolov je reprodukovateľné rozlíšenie 1,3-monoacylglycerolov a 2-monoacylglycerolov vzniknutých hydrolýzou pôvodných vzoriek triacylglycerolov.

Teoretická časť

Triacylglycerolové tuky a oleje (TAG) sú neodmysliteľnou súčasťou každodennej výživy človeka.

Pri priemyselnej výrobe jedlých tukov jedným z najperspektívnejších, technologicky i ekonomicky prijateľných procesov sa javí proces medzimolekulárnej preesterifikácie (MPE) [1].

Reakcia MPE v dôsledku jednoduchého a energeticky nenáročného preusporiadania, resp. redistribúcie mastných kyselín (MK) v molekulách TAG má za následok ďalekosiahle zmeny fyzikálnych vlastností. V porovnaní s parciálnou katalytickou hydrogenáciou zmena vlastného finálneho produktu prebieha bez tvorby nežiadúcich sekundárnych transizomérov nenasýtených MK [2, 3].

Východiskovým podkladom na riešenie možných funkčných závislostí pre hľada-

Doc. Ing. Václav Koman, CSc., Ing. Jarmila Hojerová, Ing. Miroslav Záhoranský, Katedra technickej mikrobiológie a biochémie, Chemickotechnologická fakulta SVŠT, Jánska 1, 812 37 Bratislava.

nie korelácií reakčných podmienok MPE sa môžu stať iba presne definované štruktúry molekúl TAG.

Celkový postup na určovanie všetkých typov štruktúr molekúl TAG sa vypracoval a schematicky znázornil v práci [4].

K popredným a v súčasnosti najčastejšie používaným metódam určovania stereošpecifickej distribúcie MK v molekulách TAG patrí metóda enzymatickej hydrolýzy s pankreatickou lipázou.

Podľa výsledkov viacerých autorov [5—7] je pankreatická lipáza stereošpecifická na polohu C-1 a C-3 sumárne. Produktmi tejto hydrolýzy potom sú 2-monoacylglyceroly (MAG), 1,2-diacylglycerol, resp. 2,3-diacylglycerol (DAG) a voľné MK prevažne z polohy C-1 a C-3 sumárne.

Pri štúdiu štruktúry tukov využitie pankreatickej lipázy nezávisle od seba navrhli Vander Wal [8] a Coleman [9].

V súčasnosti najčastejšie používanou metodikou na určovanie distribúcie MK na jednotlivých polohách molekúl TAG je stereošpecifická hydrolýza, ktorú vypracoval Luddy a Barford [10]. Jej aplikácie pri štúdiu redistribúcie MK v procesoch zušľachtovania rastlinných olejov pri výrobe jedlých tukov uvádzajú práce [4, 11, 12].

Podľa novších výsledkov niektorých prác [13—15] je pôsobenie pankreatickej lipázy na jednotlivé polohy MK v molekulách TAG iba obmedzene stereošpecifické, pretože polynenasýtené a krátkoreťazcové MK v porovnaní s nasýtenými a dlhoreťazcovými MK hydrolyzujú prednostne, v dôsledku čoho je určovanie štruktúry tukov a olejov zafažené určitou chybou.

Vzhľadom na množstvo faktorov ovplyvňujúcich stereošpecificitu hydrolýzy tukov s pankreatickou lipázou bola pôvodná Luddyho [10] metodika z viacerých hľadísk spresnená v práci Bezákovej [6] a Hojerovej [16].

Možnosť nahradiť stereošpecifickú hydrolýzu TAG pankreatickou lipázou pri určovaní štruktúr molekúl TAG tukov a olejov chemickou hydrolýzou s Grignardovým činidlom naznačili Franzke a spol. [17, 18] a Kuksis a spol. [19].

Ako reakčné produkty hydrolýzy s Grignardovým činidlom uvádzajú Hollstein a spol. [20] 1-MAG, 1,2-DAG, 2-MAG a 2,3-DAG a terciálne alkoholáty s mastnými kyselinami uvoľnenými hydrolýzou.

Cieľom predloženej práce bolo overiť Grignardovo činidlo ako novú súčasť celkového postupu pri štruktúrnej analýze TAG molekúl tukov a olejov a porovnať chemickú hydrolýzu TAG s Grignardovým činidlom s doteraz používanou metódou stereošpecifickej hydrolýzy s pankreatickou lipázou.

Experimentálna časť

Na overenie možnosti aplikácie Grignardovho činidla pri určovaní štruktúry molekúl TAG sa volili tuky a oleje; ktorým sa určilo jódové číslo (JČ), číslo zmydelnenia (ČZ) [21] a teplota topenia t. top.) [22].

Použité vzorky tukov a olejov:

Snečnicový olej (SO): JČ = 130,3, ČZ = 188, t. top. = -16 °C,

Hovädzí loj (HL): JČ = 49,9, ČZ = 198, t. top. = 42,6 °C.

Pripravili a sledovali sa tieto kombinácie pomerov:

SO:HL = 1:1, pôvodný, JČ = 97,8, ČZ = 193, t. top. = 37,5 °C

SO:HL = 1:1, preest., JČ = 97,6, ČZ = 193, t. top. = 32,9 °C

SO:HL = 1:2, pôvodný, JČ = 83,8, ČZ = 194, t. top. = 39,7 °C

SO:HL = 1:2, preest., JČ = 83,9, ČZ = 193, t. top. = 34,9 °C

Preesterifikácia sa uskutočnila v celosklennej laboratórnej aparatúre s metanolom sodným ako katalyzátorom za podmienok: teplota = 140 °C, tlak = $= 1,067 \cdot 10^3$ Pa, množstvo katalyzátora = 0,5 hmotn. %, reakčný čas = 0,5 h, atmosféra = dusík.

Distribúcia MK na jednotlivých polohách molekúl TAG pôvodných a preesterifikovaných vzoriek tukov sa určila dvoma spôsobmi:

- metódou enzymatickej hydrolýzy s pankreatickou lipázou, postupom, ktorý je opísaný v [2, 4, 10],
- metódou chemickej hydrolýzy s Grignardovým činidlom [17, 18] doplnenej vlastnými úpravami:

K čerstvému etylmagnéziumbromidu pripravenému pre každú vzorku [23, 24] sa osobitne v sklennej aparatúre priamo za súčasného spustenia miešania pridala vzorka tuku rozpusteného v suchom éteri. Po 45 s sa pridala kyselina octová a po ďalších 45 s sa hydrolýza prerušila prídavkom vody. Éterová vrstva sa postupne premývala vodou a hydrogénuhlíčitánom sodným a vysušila cez bezvodý síran sodný.

Rozdeľovanie a izolácia produktov chemickej a enzymatickej hydrolýzy

Na rozdeľovanie produktov chemickej a enzymatickej hydrolýzy sa aplikovala technika adsorpčnej chromatografie na tenkej vrstve silikagélu (TLC).

Pripravené silikagélové platne sa aktivovali termicky 30 min pri 110 °C a po nanesení hydrolyzovanej vzorky v páse sa vrstvy TLC vyvíjali vzostupným spôsobom v sklených kyvetách.

Vyvíjajúcim činidlom bola zmes petroléter—dietyléter—kyselina octová = 80:17:3. Po detekcii parami jódu sa jednotlivé zóny — produkty hydrolýzy vyškrabali a vyextrahovali do zmesi chloroform—metanol = 2:1.

Po enzymatickej hydrolýze TAG s pankreatickou lipázou sa frakcia voľných MK C-1,3 a MK z frakcie 2-MAG použili priamo na prípravu metylesterov MK a ich GLC analýzu. Po chemickej hydrolýze s Grignardovým činidlom sa frakcia MAG znovu rozdelila technikou TLC na vrstve silikagélu impregnovaného kyselinou boritou [18, 19]. Ďalší postup — aktivácia, vyvíjanie a detekcia TLC bol obdobný, ako je už uvedené.

Rozdeľovacia plynová chromatografia mastných kyselín

K tomu sa frakcia voľných MK z C-1,3 polôh a MK frakcie 2-MAG po enzymatickej hydrolýze s pankreatickou lipázou i MK frakcie MAG po chemickej hydrolýze s Grignardovým činidlom upravili na metylestery podľa Christophersona a Glassa [25].

Analýza metylesteroz MK, produktov enzymatickej a chemickej hydrolýzy pôvodných a preesterifikovaných vzoriek tukov sa uskutočnila rozdeľovacou plynovou chromatografiou (GLC) za rovnakých podmienok ako v práci [2].

Výsledky a diskusia

Výsledky aplikácie Grignardovho činidla pri štruktúrnej analýze tukov a olejov potvrdzujú, že reakčnými produktmi chemickej hydrolýzy TAG sú:

a) monoacylglyceroly, ktoré podľa [17—19] obsahujú okrem 2-MAG i určité množstvo 1-MAG,

b) diacylglyceroly, ktoré sú zmesou 1,2-DAG a 2,3-DAG, resp. aj 1,3-DAG,

c) terciálne alkoholáty s mastnými kyselinami uvoľnenými hydrolýzou.

Rozdelenie zmesi izomérov 1-MAG a 2-MAG Franzkeho technikou na TLC vrstve silikagélu impregnovaného kyselinou boritou sa doteraz nepodarilo reprodukovat'. V dôsledku toho sa na GLC analýzu MK použila celková frakcia MAG bez bližšieho rozlíšenia 1-izomérnych a 2-izomérnych foriem MAG.

Výsledky GLC analýzy MK frakcie MAG po chemickej hydrolýze s Grignardovým činidlom a MK frakcie MAG po stereospecifickej hydrolýze s pankreatickou lipázou uvádzajú tabuľky 1—4. Z ich porovnania vyplýva, že obsah izomérnych foriem 2-MAG po chemickej hydrolýze s Grignardovým činidlom je výrazne vyšší ako obsah izomérnych foriem 2-MAG po hydrolýze s pankreatickou lipázou. To potvrdzuje, že stereospecificita pankreatickej lipázy je menšia, ako sa predpokladá [13—15].

Tabuľka 1. Zastúpenie mastných kyselín v reakčných produktoch chemickej a enzymatickej hydrolýzy vzorky SO:HL = 1:1, pôvodná

Table 1. Percentage of fat acids in reactive products of chemical and enzymatic hydrolysis of the sample SO:HL = 1:1, original

Frakcia	Typ hydrolýzy	Mastné kyseliny [hmotn. %]					Σ %	Σ S	Σ U
		C _{14:0}	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}			
TAG		0,3	17,0	11,0	32,7	39,2	100,2	28,3	71,9
MAG	chemická	0,1	19,7	20,8	27,3	32,0	99,9	40,6	59,3
MAG	enzymatická	2,0	30,1	10,1	32,0	25,8	100,0	42,2	57,8
VMK	enzymatická	1,2	26,8	14,0	33,0	24,7	99,7	42,0	57,7

Tabuľka 2. Zastúpenie mastných kyselín v reakčných produktoch chemickej a enzymatickej hydrolyzy vzorky SO:HL = 1:1, preesterifikovaná

Table 2. Percentage of fat acids in reactive products of chemical and enzymatic hydrolysis of the sample SO:HL = 1:1, preesterified

Frakcia	Typ hydrolyzy	Mastné kyseliny [hmotn. %]					Σ %	Σ S	Σ U
		C _{14:0}	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}			
TAG		1,4	17,0	9,9	32,0	39,9	100,5	28,3	71,9
MAG	chemická	3,1	20,3	10,0	30,4	35,9	99,7	33,4	66,3
MAG	enzymatická	2,5	23,2	5,8	22,1	46,5	100,1	31,5	68,6
VMK	enzymatická	1,3	20,0	8,2	33,4	37,1	100,0	29,5	70,5

Tabuľka 3. Zastúpenie mastných kyselín v reakčných produktoch chemickej a enzymatickej hydrolyzy vzorky SO:HL = 1:2, pôvodná

Table 3. Percentage of fat acids in resctive products of chemical and enzymatic hydrolysis of the sample SO:HL = 1:2, original

Frakcia	Typ hydrolyzy	Mastné kyseliny [hmotn. %]					Σ %	Σ S	Σ U
		C _{14:0}	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}			
TAG		1,8	24,3	11,5	30,3	32,4	100,3	37,6	62,7
MAG	chemická	3,3	20,2	15,9	34,0	26,7	100,1	39,4	60,7
MAG	enzymatická	5,0	23,6	12,2	35,6	23,2	99,6	40,8	58,8
VMK	enzymatická	1,2	28,0	13,3	42,3	15,5	100,3	42,5	57,8

Tabuľka 4. Zastúpenie mastných kyselín v reakčných produktoch chemickej a enzymatickej hydrolyzy vzorky SO:HL = 1:2, preesterifikovaná

Table 4. Percentage of fat acids in reactive products of chemical and enzymatic hydrolysis of the sample SO:HL = 1:2, preesterified

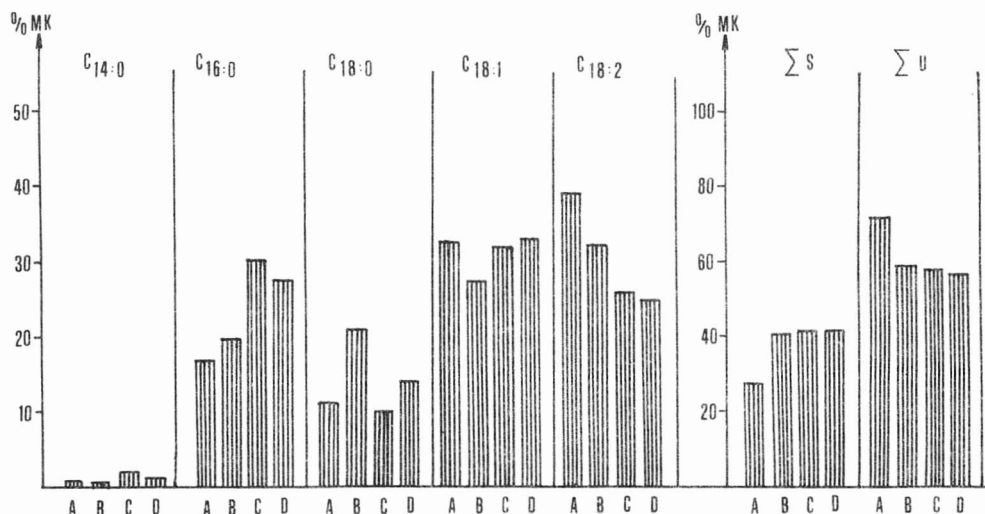
Frakcia	Typ hydrolyzy	Mastné kyseliny [hmotn. %]					Σ %	Σ S	Σ U
		C _{14:0}	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}			
TAG		1,9	24,2	11,7	30,3	32,0	100,1	37,8	62,3
MAG	chemická	3,6	17,3	15,1	33,1	31,0	100,1	36,0	64,1
MAG	enzymatická	5,0	27,2	11,2	36,0	20,6	100,0	43,4	56,6
VMK	enzymatická	2,4	26,3	12,9	35,3	23,0	99,9	41,6	58,3

Vzhľadom na reprodukovateľnosť hydrolyzy s Grignardovým činidlom a celkové porovnanie metódy chemickej a enzymatickej hydrolyzy TAG tukov možno podľa výsledkov práce uviesť, že chemickú hydrolyzu TAG treba uskutočňovať vždy s čerstvým Grignardovým činidlom. Vlastná príprava činidla je pomerne práčna

a časovo náročná. Po fázu nanášania hydrolyzovanej vzorky na TLC vrstvy trvá chemická hydrolyza s Grignardovým činidlom asi 3,5 h (vrátane prípravy Grignardovho činidla), kým enzymatická hydrolyza s pankreatickou lipázou len 0,75 h.

Napriek menej priaznivým časovým reláciám je výhodou chemickej hydrolyzy, že vždy čerstvo pripravené Grignardovo činidlo dáva reprodukovateľné výsledky a nie je viazané na potrebu úzkoprofilových chemikálií z dovozu. Naproti tomu pankreatická lipáza, používaná pri enzymatickej hydrolyze, je pomerne ťažko dostupná a prevažne importovaná (napr. fy. Reanal Finomvegyszergyár, Budapešť) a jej aktivita i stereospecificita sa skladovaním výrazne mení v neprospech požadovanej analýzy. Keby sa dodržiavala požiadavka overovania aktivity pankreatickej lipázy pri každom jej použití, jej relatívne priaznivé časové relácie proti hydrolyze s Grignardovým činidlom by sa eliminovali.

Skutočnosť, že výsledky enzymatickej hydrolyzy molekúl TAG sú ovplyvnené chybou, ktorá vyplýva z ľahšej hydrolyzovateľnosti polynenasýtených MK a krátkoreťazcových MK v porovnaní s ostatnými MK, potvrdzujú okrem iných aj výsledky chemickej a enzymatickej hydrolyzy, ktoré sa porovnávajú v tabuľkách 1—4 a znázorňuje ich obr. 1. Z nich vyplýva, že po stereospecifickej hydrolyze vzoriek TAG s pankreatickou lipázou zastúpenie polynenasýtených MK (reprezentované kyselinou linolovou $C_{18:2}$), ako aj zastúpenie nasýtených MK (najmä kyseliny



Obr. 1. Grafické znázornenie zastúpenia mastných kyselín v jednotlivých frakciách chemickej a enzymatickej hydrolyzy SO:HL = 1:1, pôv. (podľa tab. 1). A — TAG pôvodnej nehydrolyzovanej vzorky, B — MAG frakcie chemickej hydrolyzy, C — MAG frakcie enzymatickej hydrolyzy, D — VMK frakcie enzymatickej hydrolyzy.

Fig. 1. A graphic representation of fat acids' percentage (% MK) in individual fractions of chemical and enzymatic hydrolysis SO:HL = 1:1, original (according to Table 1). A — TAG of an original nonhydrolyzed sample, B — MAG of chemical hydrolysis fraction, C — MAG of enzymatic hydrolysis fraction, D — VMK of enzymatic hydrolysis fraction.

palmitovej $C_{16:0}$), frakcie voľných MK (predpokladáme z polohy C-1 a C-3 sumárne) a MK z frakcie MAG (predpokladáme 2-MAG) je takmer totožné. To nezodpovedá teórii 1,3-náhodilej a 2-náhodilej distribúcie týchto MK kyselín v prírodných tukoch a olejoch.

Na základe uvádzaných výsledkov možno pre štúdium definovaných štruktúr TAG pôvodných a preesterifikovaných tukov chemickú hydrolýzu TAG molekúl s Grignardovým činidlom odporúčať ako vhodnú alternatívnu metódu hydrolýzy s pankreatickou lipázou. Aby sa dosiahla väčšia presnosť v definovaní distribúcie MK v TAG molekulách v C-2 polohe osobitne a C-1 a C-3 polohe sumárne, zostáva ešte spresniť rozlíšenie izomérnych foriem 1-MAG a 2-MAG na tenkých vrstvách silikagélu modifikovaného kyselinou boritou. Tým sa štúdium štruktúr TAG molekúl tukov a olejov dostáva do celkove priaznivejších analytických relácií.

Zoznam použitých skratiek

TAG	— triacylglycerol
DAG	— diacylglycerol
MAG	— monoacylglycerol
MK	— masné kyseliny
MPE	— medzimolekulová preesterifikácia
SO	— slnečnicový olej
HL	— hovädzí loj
JČ	— jódové číslo
ČZ	— číslo zmydelnenia
t. top.	— teplota topenia
TLC	— tenkovrstvová adsorpčná chromatografia
GLC	— rozdeľovacia plynová chromatografia
$C_{14:0}$	— kyselina myristová
$C_{16:0}$	— kyselina palmitová
$C_{18:0}$	— kyselina stearová
$C_{18:1}$	— kyselina olejová
$C_{18:2}$	— kyselina linolová
$\Sigma \%$	— súčet percent
ΣS	— súčet nasýtených masných kyselín [%]
ΣU	— súčet nenasýtených masných kyselín [%]

Literatúra

1. GANDER, K. J.: J. Amer. Oil Chem. Soc., 53, 1976, s. 417.
2. KOMAN, V.: Bull. potrav. výskumu, XXI (I), 1982, č. 1, s. 19.
3. KOMAN, V. — CSICSAYOVÁ, M.: Bull. potrav. výskumu, XXI (I), 1982, č. 2, s. 5.
4. KOMAN, V. a spol.: Lipidy, štúdium ich prírodných zmesí a štruktúr. Záverečná správa výskumnej úlohy. Bratislava, Chemickotechnologická fakulta SVŠT 1971.
5. WILLIS, E. D.: Lipase. In: Advances in Lipid Research, II. New York, Academic Press 1965.
6. BEZÁKOVÁ, L.: Štúdium aktivity a distribúcie lipázy (E. C. 3.1.1.3), Kandidátska dizertačná práca. Bratislava, Farmaceutická fakulta UK 1978.
7. GEGIOU, D. — GERGIOLU, M.: J. Amer. Oil Chem. Soc., 57, 1980, s. 313.

8. WANDER WALL: Triglyceride structure. In: R. Paoletti — D. Kritchevsky (Eds): *Advances in Lipid Research*. Vol. III. New York, Academic Press 1965.
9. COLEMAN, M. H.: The structural investigation of natural fats. In: *Advances in Lipid Research*, I. New York, Academic Press 1963.
10. LUDDY, F. E. — BARFORD, R. A.: *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 41, 1964, s. 693.
11. SLÁDEK, J.: Sledovanie štruktúrnych zmien triacylglycerolov v procesoch priemyselného zušľachťovania slnečnicového oleja. Kandidátska dizertačná práca. Bratislava, Chemickotechnologická fakulta SVŠT 1977.
12. LACKOVÁ, A.: Štúdium štruktúrnych zmien lipidov v rôznych podmienkach preesterifikácie. Kandidátska dizertačná práca. Bratislava, Chemickotechnologická fakulta SVŠT 1978.
13. YOURKOWSKI, M. — BROCKERHOFF, H.: *Biochim. biophys. Acta*, 125, 1966, s. 55.
14. FRANZKE, C. — HOLLSTEIN, E. — WOLF, R.: *Fette, Seifen, Anstrichm.*, 75, 1973, s. 93.
15. KROLL, J. — FRANZKE, C.: *Fette, Seifen, Anstrichm.*, 76, 1974, s. 385.
16. HOJEROVÁ, J.: Štúdium závislostí štruktúr a vlastností preesterifikovaných tukov a olejov. Kandidátska dizertačná práca. Bratislava, Chemickotechnologická fakulta SVŠT 1982.
17. FRANZKE, C. — HOLLSTEIN, E. — KROLL, J. — NOSKE, H.: *Fette, Seifen, Anstrichm.*, 75, 1973, s. 365.
18. FRANZKE, C. — HOLLSTEIN, E. — KROLL, J. — NOSKE, H.: *Fette, Seifen, Anstrichm.*, 75, 1973, s. 515.
19. KUKSIS, A. — MARAI, L. — MYHER, J. J.: *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 50, 1973, s. 193.
20. HOLLSTEIN, E. — FRANZKE, C. — WOLF, R.: *Nahrung*, 17, 1973, s. 93.
21. ČSN 58 0101: Metódy zkoušení tuků a olejů, 1965.
22. ČSN 67 7062: Metódy zkoušení tuků a olejů, 1965.
23. JURAŠEK, A.: *Základy organické syntézy*. Bratislava, Alfa 1978.
24. Osobné oznámenie pracovníkov Katedry organickej chémie, Chemickotechnologická fakulta SVŠT, Bratislava 1982.
25. CHRISTOPHERSON, E. — GLASS, K.: *J. Dairy Sci.*, 52, 1978, s. 1289.

Проверка структурного анализа триацилглицериновых жиров и масел с применением реактива Гриньяра

Резюме

Рассматривается более благоприятный в стереоспецифическом и материальном отношении структурный анализ триацилглицериновых молекул природных и измененных перэтерификацией образцов жиров и масел и вытекающие из этого корреляции полученных физических, химических и биологических свойств. Для этого проверялась и приспособлялась та часть методических последовательностей, которая является определяющей в отношении стереоспецифичности распределения жирных кислот по отдельным положениям триацилглицериновых молекул.

Был использован, проверен и приспособлен способ гидролиза триацилглицериновых жиров и масел с реактивом Гриньяра и проведено сравнение с обычно применявшимся стереоспецифическим гидролизом с липазой поджелудочной железы.

Для сравнения обоих гидролизующих реактивов был изготовлен набор образцов неуправляемым способом реакции перэтерификации из смеси говяжьего жира и подсолнечного масла. Оказалось, что лимитирующим условием для применения реактива Гриньяра при структурном анализе триацилглицеринов является воспроизводимое различие 1,3-моноацилглицеринов и 2-моноацилглицеринов, возникших в результате гидролиза исходных образцов триацилглицеринов.

A verification of the structural analysis of triacylglycerol fats and oils by utilization of the Grignard reagent

Summary

The present work deals with the possibility of using stereospecifically and materially more favourable structural analysis of triacylglycerol molecules of natural and by preesterification changed fat and oil samples as well as with resulting correlation of physical, chemical and biological properties obtained. Further, a verification and also a modification were made of that part of methodic linkings that is determinant as to stereospecification of distribution of fat acids in individual positions of triacylglycerol molecules. The method of hydrolysis of triacylglycerols, using the Grignard reagent had been tested and modified and then it was compared with the hitherto commonly applied stereospecific hydrolysis using pancreatic lipase.

To make the comparison of these two hydrolyzing reagents possible, a set of samples of beef tallow and sunflower oil mixtures was prepared by an uncontrolled method using preesterifying reaction.

It has been stated that a limiting condition of the Grignard reagent application in structural analysis of triacylglycerols is the reproducible differentiation of 1,3- and 2-monoacylglycerols dehydrolyzed from original triacylglycerols.