

## **Sledovanie procesu interesterifikácie tukov metódou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie**

SILVIA HURTOVÁ - JAROSLAV ZEMANOVIČ -  
STANISLAV SEKRETÁR - ŠTEFAN SCHMIDT

**Súhrn.** V práci sa overila možnosť využitia metódy vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie na obrátených fázach RP-HPLC na sledovanie procesu neriadenej interesterifikácie s bázičými katalyzátormi. Experimentálne stanovené hodnoty sú v dobrej zhode s teoreticky vypočítanými hodnotami podľa 1, 2, 3-náhodnej distribúcie. Metóda RP-HPLC bola použitá aj na porovnanie katalytického účinku vodného roztoku NaOH s metanolicým roztokom metoxidu sodného a na zistenie vedľajších produktov interesterifikácie pri týchto katalyzátoroch.

Modifikácia prírodných tukov a olejov je predmetom intenzívneho výskumu už niekoľko desaťročí [1 - 4]. Interesterifikáciou prírodných tukov a olejov, t.j zmenou ich triacylglycerolovej štruktúry, je možné pripraviť tuky a oleje s novými fyzikálnymi, nutritívnymi a úžitkovými vlastnosťami. Tento proces samotný, resp. v kombinácii s hydrogenáciou alebo frakcionáciou, rozširuje možnosti využitia prírodných tukov a olejov v rôznych potravinárskych produktoch [4 - 7].

Interesterifikáciou totálne hydrogenovaných tukov a prírodných olejov sa dajú pripraviť tukové zmesi s požadovanou textúrou i žiadanými biologickými vlastnosťami [8]. Možnosti využitia procesu chemickej interesterifikácie tukov a olejov, chemizmus interesterifikačných reakcií, účinnosť použitých katalyzátorov a najmä aplikačné možnosti pri-

---

Ing. Silvia Hurtová, Ing. Jaroslav Zemanovič, CSc., Ing. Stanislav Sekretár, CSc.,  
Ing. Štefan Schmidt, CSc., Katedra mlieka, tukov a hygieny potravín,  
Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

pravených tukov s požadovanými úžitkovými vlastnosťami, sú predmetom predchádzajúceho prehľadného článku [1]. V tomto článku sme sa zamerali na možnosť sledovania procesu neriadenej interesterifikácie.

Popri sledovaní zmien konzistenčných vlastností triacylglycerolov (TAG) sa hlavná pozornosť sústreďuje na skúmanie chemických zmien TAG štruktúr interesterifikovaných tukov a olejov. Sledovanie procesu interesterifikácie z hľadiska týchto zmien nie je jednoduché. Prírodné tuky a oleje sú zložené priemerne z 5 až 10 majoritných mastných kyselín, ktoré môžu tvoriť tisíce rôznych kombinácií TAG štruktúr. Analýza takýchto komplexných zmesí je úspešná iba kombináciou rôznych, najmä chromatografických metód. Pre riadenie procesu interesterifikácie je potrebné vedieť, či reakcia prebehla za daných podmienok (pracovná teplota a tlak, reakčný čas, typ, forma a koncentrácia použitého katalyzátora) do rovnováhy. Za tým účelom je potrebné nájsť pomerne rýchlu, nenáročnú a dostatočne spoľahlivú metódu, ktorá umožňuje sledovať proces neriadenej interesterifikácie tzv. randomizácie. Sledovanie štrukturálnych zmien tukov pre tieto účely vyhovuje.

Na sledovanie zmien štruktúr TAG tried v procese randomizácie za použitia bázičných katalyzátorov sme použili metódu vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie na obrátených fázach (RP-HPLC). Túto metódu sme použili aj na porovnanie katalytického interesterifikačného účinku vodného roztoku NaOH s klasicky používaným metanolickým roztokom metoxidu sodného (MeONa) [8].

## Experimentálna časť

### Materiál a metódy

#### *Suroviny použité na randomizáciu*

Rafinovaný palmový olej (PO) a rafinovaný slnečnicový olej (SO) boli odobrané z výrobného závodu. Rafinovaný rastlinný olej I (RO 1, zmes slnečnica - repka I) a rafinovaný rastlinný olej II (RO 2, zmes slnečnica - repka II) boli odobrané z toho istého priemyselného zdroja.

Totálne stužený slnečnicový olej (TSSO) a totálne stužený rastlinný olej (TSRO) boli pripravené zo slnečnicového oleja alebo rastlinného oleja laboratórnou hydrogenáciou.

Základné fyzikálne a chemické parametre surovín, včítane profilu ich mastných kyselín, sú uvedené v tabuľke 1.

## Pracovné metódy

### 1. *Príprava interesterifikačného katalyzátora*

20 % metanolickej roztok MeONa bol pripravený rozpustením malých kúskov kovového sodíka v bezvodom metanole a hydroxid sodný bol pripravený vo forme 30 % vodného roztoku.

### 2. *Randomizačný proces*

120 g vzorky rastlinného oleja s totálne stuženým rastlinným olejom v rôznych hmotnostných pomeroch (w/w) boli interesterifikované do rovnováhy s 20 %-ným MeONa (0,5 hm.% katalyzátora na hmotnosť tukovej zmesi) alebo s 30 %-ným NaOH (1 hm.% katalyzátora na hmotnosť tukovej zmesi). Každá tuková zmes bola pred prídavkom katalyzátora zahrievaná 30 min pri 90 °C v atmosfére dusíka pri zníženom tlaku. Potom bola teplota zvýšená na 120 °C a bol pridaný katalyzátor NaOH po kvapkách v čase 5 - 7 minút. Reakčný čas pri zníženom tlaku bol 60 minút. Malý prívod dusíka cez kapiláru zabezpečil inertnú atmosféru a miešanie reaktantov. V prípade MeONa, ako preesterifikačného katalyzátora, bola randomizácia uskutočnená pri teplote 90 °C za 30 min. Vznik tmavého sfarbenia po pridaní katalyzátora (v prípade MeONa je to už do 5 min, pri katalyzátore NaOH je to v intervale 5 - 10 min) indikuje tvorbu aktívneho katalyzátora (reakčný komplex medzi katalyzátorom a triacylglycerolmi). Proces interesterifikácie bol ukončený prídavkom 100 ml horúcej destilovanej vody s 10 %-ným nadbytkom  $\text{H}_3\text{PO}_4$  vzhľadom na množstvo katalyzátora. Randomizované zmesi boli premyté s horúcou destilovanou vodou do neutrálnej reakcie a sušené filtráciou cez bezvodý  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  v sušiarňi pri teplote okolo 80 °C.

### 3. *Laboratórna hydrogenácia*

Laboratórna hydrogenácia bola uskutočnená v Parr 4563 Mini hydrogenačnom reaktore (USA) so 400 g rastlinného oleja. Pracovná teplota bola 180 °C a tlak vodíka 200 kPa pri otáčkach 1000 min<sup>-1</sup> za použitia Ni katalyzátora KE-NF 20 (Süd-Chemie) v množstve 0,5 %

na hmotnosť oleja. Zmes totálne stuženého oleja a katalyzátora bola filtrovaná cez bieliacu hlinku (Istrochema Bratislava). Totálne stužený olej bol použitý na prípravu tukových zmesí pre randomizáciu.

#### *4. Analýza mastných kyselín triacylglycerolov metódou GLC*

Zloženie mastných kyselín (MK) bolo stanovené analýzou ich metylesterov, pripravených podľa Christophersonovej a Glassa [9] na plynovom chromatografe Hewlett-Packard 7620A s FID. Na analýzu bola použitá sklená náplňová kolóna so stacionárnou fázou Chromaton N-AW-DMCS so zakotvenou fázou 10 % DEGJ a ako nosný plyn bol použitý dusík pri prietoku 15 ml/min. Analýza bola uskutočnená za izotermických podmienok pri teplote kolóny 180 °C, injekčnej teplote a teplote detektora 250 °C. Zloženie mastných kyselín bolo výpočítané (ako hm.%) z plochy píkov integrátorom Hewlett-Packard HP 3380.

#### *5. Analýza tried triacylglycerolov metódou RP-HPLC*

Zmeny TAG tried pri randomizácii boli sledované metódou vysokoúčinnej kvapalinovej chromatografie na obrátených fázach. Za podmienok uvedených v práci [10] sme vzorky TAG analyzovali na kvapalinovom chromatografe Laboratorní přístroje Praha na kolóne Separon SGX C18 (150 x 3mm, veľkosť častíc 5 µm) s mobilnou fázou acetón-acetonitril (65 : 35, v/v) pri prietoku 0,5 ml/min a za použitia RI detektora (RIDK 101). 5 % roztoky tukových vzoriek v acetóne boli injektované v množstve 20 µl (Rheodyne loop injector Model 7010, USA). Rozpúšťadlá použité pre prípravu mobilných fáz a tukových vzoriek (čistoty p.a.) boli pred použitím destilované a odvzdušnené.

## **Výsledky a diskusia**

Základné fyzikálne a chemické parametre surovín, rastlinných olejov a totálne stužených rastlinných olejov, vrátane profilu mastných kyselín, sú uvedené v tabulke 1.

Z uvedených surovín boli pripravené nasledovné zmesi, ktoré boli podrobené randomizácii s báziickými katalyzátormi:

- PO : TSSO v hmotnostných pomeroch 5:1, 7:1, 9:1 a 11:1 randomizované s NaOH,

Tabuľka 1. Základné chemické a fyzikálne parametre surovín.  
Table 1. Basic chemical and physical parameters of raw-material.

Mastná kyselina <sup>1</sup> [hm.%]	Vzorka <sup>2</sup>					
	PO	SO	RO1	RO2	TSSO	TSRO
14 : 0	0,7	0	0	0	0	0
16 : 0	42,5	6,6	6,4	5,5	7,2	7,8
18 : 0	2,5	4,2	1,9	1,5	92,8	92,2
18 : 1	40,8	27,1	34,2	55,5	0	0
18 : 2	13,5	61,5	55,1	27,8	0	0
18 : 3	0	0,6	2,4	10,5	0	0
JČ [g I <sub>2</sub> /g] <sup>a</sup>	59	126	124,4	120,5	1,7	1,3
ČK [mg KOH/g] <sup>b</sup>	0,55	0,13	0,13	0,13	1,09	0,69
T.topenia [°C] <sup>c</sup>	pod 10	pod 10	pod 10	pod 10	67,3	67,9

PO - palmový olej, SO - slnečnicový olej, RO1 - rastlinný olej I (zmes slnečnica-repka I), RO2 - rastlinný olej II (zmes slnečnica - repka II), TSSO - totálne stužený slnečnicový olej, TSRO - totálne stužený rastlinný olej, 14:0 - kyselina myristová, 16:0 - kyselina palmitová, 18:0 - kyselina stearová, 18:1 - kyselina olejová, 18:2 - kyselina linolová, 18:3 - kyselina linolénová, a - JČ - jódové číslo (podľa Hanuša, ČSN 58 01 01), b - ČK - číslo kyslosti (ČSN 58 01 30), c - T.topenia - teplota topenia stanovená kapilárnou metódou (ČSN 58 01 01).

1 - fatty acid, 2 - sample, PO - palm oil, SO - sunflower oil, RO1 - vegetable oil I (mixture of sunflower-rapeseed I), RO2 - vegetable oil II (mixture of sunflower-rapeseed II), TSSO - totally hardened sunflower oil, TSRO - totally hardened vegetable oil, a - iodine number, b - acid number, c - pour point.

- SO : TSSO v hmotnostných pomeroch 1:1, 3:1, 5:1 a 7:1 randomizované s NaOH i MeONa,
- RO1 : TSRO v hmotnostných pomeroch 2:1 randomizované s NaOH i MeONa a 2,6:1, 2,2:1 a 3:1 randomizované s NaOH,
- RO2 : TSRO v hmotnostných pomeroch 2:1, 2,2:1, 2,6:1 a 3:1 randomizované s MeONa.

Na základe hypotézy distribúcie mastných kyselín spôsobom 1, 2, 3 -náhodne [11, 12] bolo počítačom určené teoretické zloženie štruktúr TAG molekúl uvedených tukových zmesí po ich randomizácii v stave rovnováhy. Zmeny zloženia TAG tried tukových zmesí po randomizácii boli sledované metódou RP-HPLC. Vzorky týchto randomizovaných tukových zmesí boli rozdelené do tried TAG podľa tzv. ECN hodnôt [13,

14]. Identifikácia a priradenie ECN hodnôt príslušným TAG triedam boli urobené na základe porovnania s retenčnými časmi separovaných čistých TAG, ako aj s ohľadom na známe zastúpenie mastných kyselín tvoriacich molekuly TAG tukových zmesí za súčasného porovnania s literárnymi údajmi [14]. V tabulkách 2., 5., 7. a 9. sú uvedené počítačom vypočítané TAG štruktúry príslušných randomizovaných tukových zmesí, zoradených podľa ECN hodnôt do TAG tried. Ako podklad pre výpočet boli použité vstupné údaje o zložení MK príslušných pôvodných tukových zmesí, získaných analýzou metódou GLC.

Randomizované produkty, analyzované RP-HPLC, boli porovnané so zložením tried TAG vypočítaných podľa náhodnej distribúcie. Výsledky ukázali dobrú zhodu v štruktúre TAG tried zistených experimentálne i výpočtom podľa náhodnej distribúcie (tabulky 3., 6., 8. a 10.).

### 1. Randomizácia tukových zmesí PO s TSSO v rôznych pomeroch

Tukové zmesi palmového oleja s totálne stuženým slnečnicovým olejom v hmotnostných pomeroch 5:1, 7:1, 9:1 a 11:1 boli randomizované za katalytického účinku 30 % vodného roztoku NaOH. Randomizované produkty týchto tukových zmesí boli analyzované metódou RP-HPLC. Za podmienok analýzy metódou RP-HPLC bola možná separácia tukových zmesí podľa ECN hodnôt do TAG tried. Zloženie tried TAG randomizovaných produktov bolo porovnané so zložením tried TAG vypočítaným podľa náhodnej distribúcie (tabuľka 3.). Vzhľadom na presnosť samotnej analytickej metódy, pre porovnanie experimentálne nameraných hodnôt s vypočítanými hodnotami, sú uvádzané iba TAG triedy zoradené podľa ECN hodnôt, ktoré tvoria celkove viac ako 1,5 %. Triedy TAG s najnižšou a najvyššou ECN hodnotou boli vylúčené. Vylúčenie týchto hodnôt je oprávnené aj z ďalšieho dôvodu. V prípade nameraných hodnôt zastúpenia tried TAG randomizovaných produktov s najnižšou ECN hodnotou nie je možné vylúčiť skreslenie výsledku, spôsobené elúciou štiepných produktov (diacylglycerolov, DAG) v jednom píkú spolu s triedou TAG s najnižšou hodnotou ECN. V prípade tristearínu (ECN = 54), dá sa predpokladať, že za daných podmienok analýzy nemusí eluovať z kolóny úplne a tým nameraná hodnota môže byť opäť skreslená. Zastúpenie týchto TAG tried nepre-

Tabuľka 2. TAG štruktúry randomizovaných tukových zmesí PO s TSSO zoradené podľa ECN hodnôt.

Table 2. TAG structures of randomized fatty mixtures of PO and TSSO arranged according to ECN values.

ECN	TAG štruktúry <sup>1</sup>	PO : TSSO [w/w]			
		5 : 1	7 : 1	9 : 1	11 : 1
		[mol. %] <sup>a</sup>			
42	LLL, LLM	0,2	0,2	0,2	0,2
44	MMP, MMO, LLP, LLO, MPL, MOL	2,9	3,3	3,6	4,0
46	PPM, PPL, OOM, OOL, LLSt, MPO, MStL, POL	19,0	20,9	22,6	24,5
48	PPP, OOO, PPO, OOP, MPSt, MStO, PStL, StOL	46,6	49,4	51,0	52,9
50	PPSt, StStM, StStL, PStO	25,6	22,3	19,7	16,5
52	StStP, StStO	5,3	3,7	2,8	1,8
54	StStSt	0,4	0,2	0,1	0,1

a - mol. % - mólové percentá tried TAG ako suma mólových percent jednotlivých TAG štruktúr príslušnej TAG triedy, ktoré sú vypočítané podľa náhodnej distribúcie, L - kyselina linolová, M - kyselina myristová, P - kyselina palmitová, O - kyselina olejová, St - kyselina stearová, PO - palmový olej, TSSO - totálne stužený slnečnicový olej.

a - mol % of TAG classes as a sum of mol percentages of individual TAG structures of respective TAG class, calculated according to random distribution, L - linolic acid, M - myristic acid, P - palmitic acid, O - oleic acid, St - stearic acid, PO - palm oil, TSSO - totally hardened sunflower oil, 1 - TAG structures.

sahuje 2 % (ako vyplýva z teoretického výpočtu podľa náhodnej distribúcie), a preto je možné tieto namerané údaje vylúčiť. V tabuľke 2. sú uvedené všetky TAG štruktúry randomizovaných tukových zmesí, zoradených podľa ECN hodnôt, ktoré majú pre dané tukové zmesi nenulovú hodnotu. Tieto údaje, vzhľadom na časovú náročnosť, boli spracované počítačom.

Experimentálne namerané hodnoty (v hmot. %) v tabuľke 3. sú v dobrej zhode s vypočítanými hodnotami podľa náhodnej distribúcie (v mol. %). Mólové percentá, vypočítané pre randomizované zmesi podľa náhodnej distribúcie, a z nich vypočítané hmotnostné percentá sa líšia menej ako o 2 % (tabuľka 4.), preto prepočet mólových percent na hmotnostné percentá, s ohľadom aj na presnosť samotnej analytickej metódy, nie je účelný. Súčasne by sa týmto prepočtom predĺžil výpočet a hlavne výpis TAG štruktúr randomizovaných zmesí.

Tabuľka 3. Porovnanie zloženia tried TAG tukových zmesí PO : TSSO v rôznych pomeroch, randomizovaných s NaOH, ktoré boli analyzované RP-HPLC a vypočítaných podľa náhodnej distribúcie.  
Table 3. Comparison of class composition of TAG fatty mixtures PO : TSSO in various rates, randomized with NaOH, RP-HPLC analysed and calculated according to random distribution.

ECN	PO : TSSO [w/w]							
	5 : 1		7 : 1		9 : 1		11 : 1	
	exp.	teor.	exp.	teor.	exp.	teor.	exp.	teor.
44	3,0	3,1	3,6	3,3	3,8	3,6	4,9	4,1
46	19,1	19,9	19,3	21,0	21,2	22,7	23,6	24,4
48	46,9	47,7	49,9	49,6	51,9	51,1	52,4	53,0
50	25,7	24,6	23,6	22,4	20,0	19,8	17,1	16,6
52	5,3	4,7	3,6	3,7	3,1	2,8	2,0	1,9

exp. - zloženie TAG tried randomizovaných tukových zmesí analyzovaných metódou RP-HPLC [hmot. %], teor. - zloženie TAG tried randomizovaných tukových zmesí vypočítaných podľa náhodnej distribúcie [mol. %].

exp. - composition of randomized fatty mixtures TAG classes analysed by RP-HPLC method [weight %], teor. - composition of randomized fatty mixtures TAG classes calculated according random distribution [mol %].

Tabuľka 4. Porovnanie mólových a z nich vypočítaných hmotnostných percent TAG tried vybraných tukových zmesí.

Table 4. Comparison of mole percentages and calculated from them weight percentages of TAG classes of selected fatty mixtures.

ECN	PO : TSSO		SO : TSSO		RO1 : TSRO	
	7 : 1 [w/w]		3 : 1 [w/w]		3 : 1 [w/w]	
	[mol. %]	[hmot. %]	[mol. %]	[hmot. %]	[mol. %]	[hmot. %]
38	0	0	0	0	0,1	0,1
40	0	0	0	0	1,0	1,1
42	0,2	0,2	11,2	11,4	8,9	9,0
44	3,3	3,4	21,1	21,4	19,0	19,0
46	20,9	18,8	28,3	27,3	26,7	25,8
48	49,4	50,4	21,6	21,9	23,2	23,5
50	22,3	23,1	12,6	12,8	14,4	14,7
52	3,7	3,9	4,2	4,3	5,4	5,5
54	0,2	0,2	1,0	1,0	1,3	1,3

PO - palmový olej, TSSO - totálne stužený slnečnicový olej, SO - slnečnicový olej, RO1 - rastlinný olej I (zmes slnečnica-repka), TSRO - totálne stužený rastlinný olej.

PO - palm oil, TSSO - totally hardened sunflower oil, SO - sunflower oil, RO1 - vegetable oil I (mixture of sunflower-rapeseed I), TSRO - totally hardened vegetable oil.



## 2. Randomizácia tukových zmesí SO s TSSO v rôznych pomeroch

Tukové zmesi slnečnicového oleja s totálne stuženým slnečnicovým olejom v hmotnostných pomeroch 3:1, 5:1, 7:1 a 9:1 boli randomizované s 30 % vodným roztokom NaOH a 20 % metanolíckym roztokom MeONa. V tabuľke 5. sú všetky TAG štruktúry týchto štyroch randomizovaných tukových zmesí, zoradených do TAG tried podľa ECN hodnôt, ktoré majú nenulovú hodnotu (spracované PC). HPLC získané experimentálne hodnoty tried TAG s ECN = 42 - 52 u uvedených tukových zmesí slnečnicového oleja s totálne stuženým slnečnicovým olejom sú v tabuľke 6. Pre porovnanie je uvedené aj zloženie TAG tried randomizovaných tukových zmesí vypočítaných podľa náhodnej distribúcie (v mol. %).

Tabuľka 5. TAG štruktúry randomizovaných tukových zmesí SO s TSSO  
zoradené podľa ECN hodnôt.

Table 5. TAG structures of randomized fatty mixtures of SO with TSSO  
arranged according to ECN values.

ECN	TAG štruktúry <sup>1</sup>	SO : TSSO [w/w]			
		3 : 1	5 : 1	7 : 1	9 : 1
		[mol. %] <sup>a</sup>			
42	LLL	11,2	16,8	17,8	21,0
44	LLP, LLO	21,1	28,0	30,2	33,7
46	PPL, OOL, LLSt, POL	28,3	28,5	28,4	27,3
48	PPP, OOO, PPO, OOP, PSiL, SiOL	21,6	17,3	16,0	13,1
50	PPSt, StStL, OOST, PSiO	12,6	7,3	6,4	4,0
52	StStP, StStO	4,2	1,9	1,4	0,7
54	StStSt	1,0	0,3	0,2	0,1

a - mol. % - mólové percentá tried TAG ako suma mólových percent jednotlivých TAG štruktúr príslušnej TAG triedy, ktoré sú vypočítané podľa náhodnej distribúcie, L - kyselina linolová, M - kyselina myristová, P - kyselina palmitová, O - kyselina olejová, St - kyselina stearová.

a - mol % of TAG classes as a sum of mol percentages of individual TAG structures of respective TAG class, calculated according to random distribution, L - linolic acid, M - myristic acid, P - palmitic acid, O - oleic acid, St - stearic acid, 1 - TAG structures.

Tabuľka 6. Porovnanie zloženia TAG tried tukových zmesí SO : TSSO v rôznych pomeroch, randomizovaných s NaOH a MeONa, ktoré boli analyzované RP-HPLC a vypočítaných podľa náhodnej distribúcie.

Table 6. Comparison of TAG classes composition of fatty mixtures of SO : TSSO in various rates, randomized with NaOH and MeONa, that were RP-HPLC analysed and calculated according to random distribution.

ECN	SO : TSSO [w/w]											
	3 : 1			5 : 1			7 : 1			9 : 1		
	exp.1	exp.2	teor.	exp.1	exp.2	teor.	exp.1	exp.2	teor.	exp.1	exp.2	teor.
42	11,7	11,2	11,3	15,9	16,0	16,8	16,2	17,9	17,9	19,0	19,8	21,0
44	21,1	21,2	21,4	26,9	27,3	28,1	28,9	30,1	30,2	32,0	32,1	33,8
46	27,7	27,4	28,6	27,9	28,2	28,6	28,2	28,8	28,4	26,7	27,0	27,3
48	21,7	21,9	21,8	18,1	16,7	17,3	17,7	16,1	16,0	15,0	13,6	13,2
50	13,3	13,4	12,7	8,1	8,6	7,3	7,4	6,4	6,1	6,6	6,4	4,0
52	4,5	4,9	4,2	3,1	3,2	1,9	1,6	0,7	1,4	0,7	1,1	0,7

exp.1 - zloženie TAG tried tukových zmesí randomizovaných s NaOH, analyzovaných metódou RP-HPLC [hmot. %], exp.2 - zloženie TAG tried tukových zmesí randomizovaných s MeONa, analyzovaných metódou RP-HPLC [hmot. %], teor. - zloženie TAG tried randomizovaných tukových zmesí vypočítaných podľa náhodnej distribúcie [mol. %].

exp.1 - composition of fatty mixtures TAG classes randomized with NaOH, analysed by RP-HPLC method [weight %], exp.2 - composition of fatty mixtures TAG classes randomized with MeONa, analysed by RP-HPLC method [weight %], teor. - composition of randomized fatty mixtures TAG classes calculated according random distribution [mol %].

### 3. Randomizácia tukových zmesí RO1 s TSRO v rôznych pomeroch

Tukové zmesi RO1 s TSRO v hmotnostných pomeroch 2:1, 2,2:1, 2,6:1 a 3:1 boli randomizované s 30 % vodným roztokom NaOH. Randomizované produkty týchto štyroch tukových zmesí boli analyzované metódou RP-HPLC. V tabuľke 7. sú všetky TAG štruktúry týchto randomizovaných tukových zmesí, zoradených podľa ECN hodnôt, ktoré majú nenulovú hodnotu (spracované PC). HPLC získané experimentálne hodnoty tried TAG s ECN = 42 - 52 u uvedených tukových zmesí sú v tabuľke 8. Pre porovnanie je uvedené aj zloženie TAG tried randomizovaných tukových zmesí vypočítaných podľa náhodnej distribúcie (v mol. %)

Tabuľka 7. TAG štruktúry randomizovaných tukových zmesí RO1 s TSRO  
zoradené podľa ECN hodnôt.

Table 7. TAG structures of randomized fatty mixtures of RO1 with TSRO  
arranged according to ECN values.

ECN	TAG štruktúry <sup>1</sup>	RO1 : TSRO [w/w]			
		2 : 1	2,2 : 1	2,6 : 1	3 : 1
		[mol. %] <sup>a</sup>			
38	LnLnL	0,05	0,05	0,05	0,1
40	LLLn, LnLnP, LnLnO	0,5	0,7	1,0	1,0
42	LLL, LnLnSt, PLLn, OLLn	6,7	7,0	8,35	8,9
44	PPLn, OOLn, LLP, LLO, POLn, StLLn	14,9	15,9	17,5	19,0
46	PPL, OOL, LLSt, PStLn, POL, StOLn	24,55	25,25	25,9	26,7
48	PPP, OOO, PPO, StStLn, OOP, PStL, StOL	24,2	24,2	23,3	23,2
50	PPSt, StStL, OOST, PStO	18,5	17,4	15,8	14,4
52	StStP, StStO	8,1	7,3	6,3	5,4
54	StStSt	2,5	2,1	1,7	1,3

a - mol. % - mólové percentá TAG tried ako suma mólových percent všetkých TAG štruktúr príslušnej TAG triedy, ktoré sú vypočítané podľa náhodnej distribúcie, L - kyselina linolová, M - kyselina myristová, P - kyselina palmitová, O - kyselina olejová, St - kyselina stearová, Ln - kyselina linolénová.

a - mol % of TAG classes as a sum of mol percentages of all TAG structures of respective TAG class, calculated according to random distribution, L - linolic acid, M - myristic acid, P - palmitic acid, O - oleic acid, St - stearic acid, Ln - linolenic acid, 1 - TAG structures.

Tabuľka 8. Porovnanie zloženia TAG tried tukových zmesí RO1 : TSSO v rôznych pomeroch, randomizovaných s NaOH, ktoré boli analyzované RP-HPLC a vypočítaných podľa náhodnej distribúcie.

Table 8. Comparison of of TAG classes composition of fatty mixtures of RO1 : TSSO in various rates, randomized with NaOH, that were RP-HPLC analysed and calculated according to random distribution.

ECN	RO1 : TSRO [w/w]							
	2 : 1		2,2 : 1		2,6 : 1		3 : 1	
	exp.	teor.	exp.	teor.	exp.	teor.	exp.	teor.
42	7,9	6,9	8,1	7,2	8,8	8,6	9,0	9,3
44	15,2	15,4	15,7	16,4	17,4	18,0	19,7	19,5
46	25,4	25,3	26,6	26,0	25,7	26,6	28,2	26,5
48	25,0	25,0	24,3	24,9	24,2	24,0	24,3	24,1
50	19,1	19,0	18,1	17,9	17,0	16,3	14,3	15,0
52	7,4	8,4	7,2	7,5	6,9	6,5	4,5	5,6

exp. - zloženie TAG tried randomizovaných tukových zmesí s NaOH, analyzovaných metódou RP-HPLC [hmot. %], teor.- zloženie TAG tried randomizovaných tukových zmesí vypočítaných podľa náhodnej distribúcie [mol. %].

exp. - composition of fatty mixtures TAG classes randomized with NaOH, analysed by RP-HPLC method [weight %], teor. - composition of randomized fatty mixtures TAG classes calculated according random distribution [mol %].

#### 4. Randomizácia tukových zmesí RO2 s TSRO v rôznych pomeroch

Tukové zmesi RO2 s TSRO v hmotnostných pomeroch 2:1, 2,2:1, 2,6:1 a 3:1 boli randomizované s 20 % metanolickým roztokom MeONa. V tabuľke 9. sú všetky TAG štruktúry týchto 4 randomizovaných tukových zmesí, zoradených podľa ECN hodnôt, ktoré majú nenulovú hodnotu (spracované PC). HPLC získané experimentálne hodnoty tried TAG s ECN = 42 - 52 u uvedených tukových zmesí sú v tabuľke 10. Pre porovnanie je uvedené aj zloženie TAG tried randomizovaných tukových zmesí vypočítaných podľa náhodnej distribúcie (v mol. %)

Tabuľka 9. TAG štruktúry randomizovaných tukových zmesí RO2 s TSRO zoradené podľa ECN hodnôt.

Table 9. TAG structures of randomized fatty mixtures of RO2 with TSRO arranged according to ECN values.

ECN	TAG štruktúry <sup>1</sup>	RO2 : TSSO [w/w]			
		2 : 1	2,2 : 1	2,6 : 1	3 : 1
		[mol. %] <sup>a</sup>			
36	LnLnLn	0,05	0,05	0,05	0,1
38	LnLnL	0,3	0,3	0,3	0,4
40	LLLn, LnLnP, LnLnO	1,4	1,6	1,7	1,9
42	LLL, LnLnSt, PLLn, OLLn	4,4	4,9	5,05	5,5
44	PPLn, OOLn, LLP, LLO, POLn, StLLn	11,05	12,0	12,9	13,6
46	PPL, OOL, LLSt, PStLn, POL, StOLn	19,4	20,35	21,3	22,1
48	PPP, OOO, PPO, StStLn, OOP, PStL, StOL	26,1	26,4	26,8	27,6
50	PPSt, StStL, OOST, PStO	23,6	22,5	21,6	20,4
52	StStP, StStO	11,5	10,1	8,9	7,4
54	StStSt	2,2	1,8	1,4	1,0

a - mol. % - mólové percentá TAG tried ako suma mólových percent všetkých TAG štruktúr príslušnej TAG triedy, ktoré sú vypočítané podľa náhodnej distribúcie, L - kyselina linolová, M - kyselina myristová, P - kyselina palmitová, O - kyselina olejová, St - kyselina stearová, Ln - kyselina linolénová.

a - mol % of TAG classes as a sum of mol percentages of all TAG structures of respective TAG class, calculated according to random distribution, L - linolic acid, M - myristic acid, P - palmitic acid, O - oleic acid, St - stearic acid, Ln - Linolenic acid, 1 - TAG structures.

Tabuľka 10. Porovnanie zloženia TAG tried tukových zmesí RO2 : TSSO v rôznych pomeroch, randomizovaných s MeONa, ktoré boli analyzované RP-HPLC a vypočítaných podľa náhodnej distribúcie.

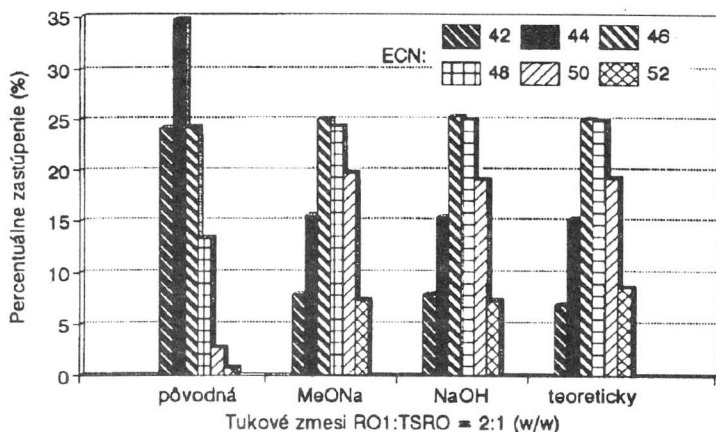
Table 10. Comparison of TAG classes composition of fatty mixtures of RO2 : TSSO in various rates, randomized with MeONa, that were RP-HPLC analysed and calculated according to random distribution.

ECN	RO2 : TSRO [w/w]							
	2 : 1		2,2 : 1		2,6 : 1		3 : 1	
	exp.	teor.	exp.	teor.	exp.	teor.	exp.	teor.
42	4,9	4,6	5,0	5,1	5,3	5,2	6,0	5,8
44	11,1	11,5	11,2	12,5	12,8	13,4	13,8	14,1
46	20,0	20,2	20,8	21,1	21,9	22,0	23,4	22,9
48	27,0	27,2	27,8	27,4	27,9	27,8	28,9	28,5
50	24,8	24,5	24,2	23,4	21,9	22,4	20,5	21,1
52	12,2	12,0	11,0	10,5	10,2	9,2	7,4	7,6

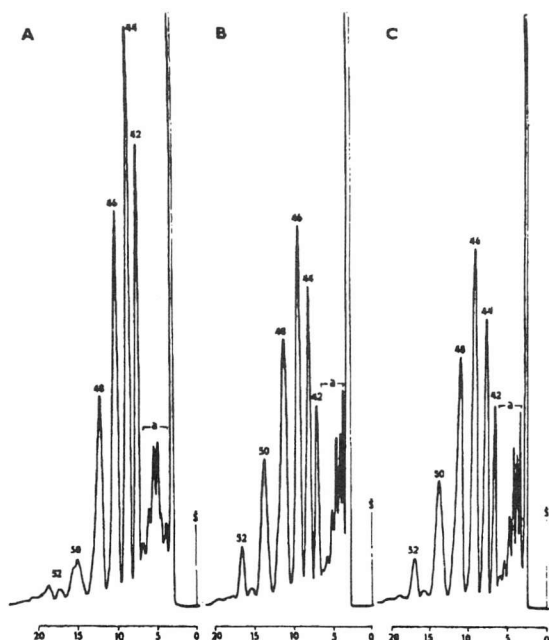
exp. - zloženie TAG tried randomizovaných tukových zmesí s MeONa, analyzovaných metódou RP-HPLC [hmot. %], teor.- zloženie TAG tried randomizovaných tukových zmesí vypočítaných podľa náhodnej distribúcie [mol. %].

exp. - composition of fatty mixtures TAG classes randomized with MeONa, analysed by RP-HPLC method [weight %], teor. - composition of randomized fatty mixtures TAG classes calculated according random distribution [mol %].

Vo všetkých uvedených prípadoch sa ukázala dobrá zhoda medzi experimentálne nameranými hodnotami randomizovaných tukových zmesí analyzovaných RP-HPLC a hodnotami vypočítanými podľa 1, 2, 3-náhodnej distribúcie. Na obrázku 1. je znázornené zloženie tried TAG podľa ECN hodnôt tukovej zmesi RO1 : TSRO = 2:1, pôvodnej a randomizovanej s vodným NaOH a metanolickým MeONa, ktoré je porovnané so zložením tried TAG vypočítaným podľa náhodnej distribúcie. Ako metóda, ktorá je vhodná pre sledovanie procesu neriadenej preesterifikácie, sa ukázala vysokoúčinná kvapalinová chromatografia na obrátených fázach v kombinácii s GLC. Túto metódu je možné použiť aj na sledovanie tvorby vedľajších produktov. Na chromatografickom zázname (obrázok 2.) je znázornená separácia TAG tried vybranej tukovej zmesi RO1 : TSRO v pomere 3:1, randomizovanej s vodným NaOH a metanolickým MeONa, ako aj tvorba uvedených vedľajších produktov.



Obr.1. Zloženie TAG tried tukovej zmesi RO1 : TSRO (2:1) [w/w] pred a po randomizácii s MeONa a NaOH, určené HPLC metódou a vypočítané podľa 1, 2, 3-náhodnej distribúcie.  
Fig.1. Composition of TAG classes of fatty mixture of RO1 : TSRO (2:1) [w/w] before and after randomization with MeONa and NaOH, determined by HPLC method and calculated according to 1, 2, 3-random distribution.



Obr.2. HPLC záznam separácie tried TAG pôvodnej tukovej zmesi RO1 : TSRO v pomere 3 : 1 (A) a po jej randomizácii s MeONa (B) a NaOH (C).  
a - oxidované a hydrolyzované formy (VMK, MAG, DAG a v prípade MeONa aj MeMK).  
Fig.2. HPLC separation record of TAG classes of original fatty mixture of RO1 : TSRO in ratio 3 : 1 (A) and after it randomization with MeONa (B) and NaOH (C).

Dosiahnuté výsledky potvrdili vhodnosť použitia vodného roztoku NaOH ako preesterifikačného katalyzátora v porovnaní s klasicky používaným metanolickým roztokom MeONa. Výhodou NaOH je, že sa bežne používa v priemysle tukov a olejov, je dostupnejší, lacnejší, ľahko pripraviteľný aj skladovateľný. Kým pri použití metanolickeho MeONa sa tvoria ako vedľajšie produkty hlavne metylestery mastných kyselín (MeMK), v prípade vodného roztoku NaOH vznikajú vo zvýšenej miere najmä voľné mastné kyseliny (VMK), príp. diacylglyceroly (DAG) a monoacylglyceroly (MAG), ako produkty hydrolýzy. Tieto látky sú netoxické. VMK sa jednoducho odstraňujú v rafinačnom procese a parciálne acylglyceroly sú základným komponentom emulgátorov používaných pri výrobe emulgovaných tukov.

## Záver

Metódou vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie na obrátených fázach je možné sledovať proces randomizácie z dvoch hľadísk:

1. Z hľadiska toho, či prebehla neriadená interesterifikácia pri daných reakčných podmienkach (pracovná teplota a čas, typ, forma a koncentrácia použitého katalyzátora) do rovnováhy. Kritériom je porovnanie s hodnotami získanými výpočtom podľa hypotézy 1, 2, 3-náhodnej distribúcie.
2. Z hľadiska tvorby vedľajších produktov, najmä parciálnych acylglycerolov (DAG a MAG), oxidovaných foriem acylglycerolov, VMK, príp. MeMK.

## Podakovanie

Za technickú pomoc autori ďakujú pani V. Grmanovej.

## Literatúra

1. HURTOVÁ, S. - SCHMIDT, Š. - ZEMANOVIČ, J.: Bulletin PV, 32 (12), 1993, s. 275.
2. HURTOVÁ, S. - ZEMANOVIČ, J. - SCHMIDT, Š.: Bulletin PV, 32, (12), 1993, s. 81.
3. KONISHI, H. - NEFF, W.E. - MOUNTS, T.L.: J. Amer. Oil Chem. Soc., 70, 1993, s. 411.
4. ZEITOUN, M.A.M. a kol.: J. Amer. Oil Chem. Soc., 70, 1993, s. 467.
5. YOUNG, F.V.K.: J. Amer. Oil Chem. Soc., 62, 1985, s. 378.
6. WIEDERMANN, L.H.: J. Amer. Oil Chem. Soc., 55, 1978, s. 823.
7. SONNTAG, N.O.V.: In: Baileys Industrial Oil and Fat Products, Vol. 2, 4. vydanie, ed. D. Swern, J. Wiley and Sons, New York, 1982, s. 147.
8. SREENIVASAN, B.: J. Amer. Oil Chem. Soc., 55, 1978, s. 796.
9. CHRISTOPHERSON, S.W. - GLASS, R.: J. Dairy Sci., 52, 1970, s. 1289.
10. HURTOVÁ, S. - SCHMIDT, Š. : Sborník přednášek z XXX. semináře z technologie a analytiky tuků. Seč 1992, s. 118.
11. HUSTEDT, H.H.: J. Amer. Oil Chem. Soc., 53, 1976, s. 390.
12. SCHMIDT, Š.: Bulletin PV, 27 (7), 1988, s. 75.
13. WADA, S. - KOIZUMI, C. - NONAKA, I.: Yukagaku, 26, 1977, s. 92.
14. SCHMIDT, Š. - HURTOVÁ, S. : Bulletin PV, 31 (11), 1992, s. 187.

Do redakcie došlo 6.7.1994.

### Observing of interesterification process by HPLC

#### Summary

Possibility of RP-HPLC method utilization for uncontrolled interesterification with basic catalyst observation was verified in the work. Experimentally determined values are in good accord with theoretically calculated values according to 1, 2, 3-random distribution. The RP-HPLC method was also used for comparison of catalytic effect of water solution of NaOH with methanol solution of natrium methoxide as well as for determination of interesterification by-products with these catalysts.