

Lab. Akkerbouw

september 1980

Verslag 80.48

Pr.Nr. 6.205

Projekt: Ontwikkeling van methoden voor
de bepaling van de vetzuursamen-
stelling van oliën en vetten.

Onderwerp: Methylerings-methode volgens
Christopherson & Glass.

Lab. Akkerbouw

Datum september 1980

Verslag 80.48

Pr.nr.: 6.205

Project: Ontwikkeling van methoden voor de bepaling van de vetzuursamenstelling van oliën en vetten.

Onderwerp: Methylerings-methode volgens Christopherson & Glass

Bijlagen: 4

Doel:

Vergelijkend onderzoek naar de methyleringsmethoden van vetzuren met KOH/MeOH en NaOMe volgens Christopherson en Glass

Samenvatting:

Middels DLC en GLC werden beide methyleringsmethoden van Christopherson & Glass getoetst op een aantal produkten. Daarbij werd onderzocht welke methode het meest geschikt is bij gebruik van het automatisch injectiesysteem GLC.

Conclusie:

De hoeveelheid methyleringsreagens kan gereduceerd worden van 0,250 ml tot 0,100 ml.

Het methyleren met 2n NaOMe is niet geschikt voor gebruik in de automaat van de Varian 3700, wegens neerslag en gelvorming.

Projectleider: B.G. Muuse

Auteur: B. Rutjes

1 Inleiding:

De bereiding van methylesters uit oliën en vetten berust op het volgende principe:

De olie of het vet opgelost in hexaan wordt behandeld met een 2n methanolische oplossing van kaliumhydroxide of van natriummethoxide, waardoor de van glyceriden afkomstige vetzuren worden omgezet in methylesters.

Tot nu toe werd door ons voor het methyleren een 2n oplossing van kaliumhydroxide in methanol gebruikt.

Nu wordt beweerd dat een met kaliumhydroxide gemethyleerde oplossing na enige tijd zou gaan verzepen terwijl een met natriummethoxide gemethyleerde oplossing niet zou verzepen. Deze oplossing zou dus langer houdbaar blijven, wat in de praktijk goed van pas zou komen in verband met het analyseren van botervetten op de gaschromatograaf (automaat). In dit onderzoek werd dit op juistheid getoetst.

- 1.1 Dunnelaagchromatografie werd toegepast om na te gaan in welke mate de van glyceriden afkomstige vetzuren waren omgezet in methylesters. Ook werd daarbij nagegaan welke hoeveelheid methyleringsreagens nodig was voor een totale omzetting in methylesters.
- 1.2 Gaschromatografie werd toegepast om de vetzuursamenstelling te vergelijken van monsters botervet, margarine en raapolie, die gemethyleerd werden met:
 - a. 2n KOH in methanol, (Bijlage 3)
 - b. 2n NaOMe in methanol.

2 Materiaal:

Het onderzoek werd gedaan op monsters botervet, margarine en raapolie.

Als reagentia werden gebruikt:

- een 2n methanolische oplossing van kaliumhydroxide
- een 2n methanolische oplossing van natriummethoxide

3 Methoden:

- 3.1 De gebruikelijke omestering van glyceriden wordt door ons uitgevoerd met KOH/MeOH 2n. De methylesters van de hogere vetzuren zijn in het reactie-medium voldoende houdbaar voor gebruik in een automatisch injectiesysteem. De methylesters van de lagere vetzuren ondergaan echter een ontleding onder invloed van basisch milieu. Dit wordt ondervangen door neutralisatie met NaHSO_4 .
De variant in de methode van Christopherson en Glass is 2n NaOMe in methanol i.p.v. 2n KOH in methanol.

3.2 Dunnelaagchromatografie werd gedaan op silicagelplaten van 0,25 mm. Het loopmiddel was petroleumether: ether: azijnzuur (85:15:1 v/v).

De ontwikkelde platen werden gedetekteerd door sproeien met een 50% oplossing van zwavelzuur en daarna werd de plaat enige tijd verwarmd bij 170°C.

3.3 Gaschromatografie werd gedaan op een Varian 3700 gaschromatograaf met een vlamionisatiedetektor.

De kolommen die gebruikt werden waren gepakt met silar 5 cp en silar 9 cp. Het draaggas was stikstof. Van de monsters werd 2 µl geïnjecteerd bij een oventemperatuur van:

- voor margarine en raapolie 205°C
- voor botervet begin temperatuur 55°C geprogrammeerd naar 215°C met 3°C per minuut.

4 Bespreking van de resultaten:

- Bij de huidige methode worden alle uit glyceriden afkomstige vetzuren omgezet in methylesters. (Bijlage 1)
Ook bij vervanging van 2n KOH door 2n NaOMe wordt alles omgezet. (Bijlage 1)
- Het blijkt dat de ondergrens voor totale omzetting ligt bij 0,050 ml voor beide methyleringsreagentia. (Bijlage 2a en b)
- Bij gebruik van 2n NaOMe ontstaat een wit neerslag op de bodem. Dit neerslag is sterker naarmate er meer 2n NaOMe wordt toegevoegd.
- Na één dag staan van een oplossing gemethyleerd met 2n NaOMe ontstaat gelvorming. Dit gebeurt ook als de gemethyleerde oplossing wordt gecentrifugeerd en de bovenste laag wordt afgegoten in monsterflesjes.
- Bij directe analyse na methyleren is er geen verschil in vetzuursamenstelling tussen de beide methyleringsreagentia. (Bijlage 4)

Literatuur:

Journal of Dairy Science. Vol. 52, blz. 1289

Preparation of Milk Fat Methyl Esters by Alcoholysis in an Essentially
Nonalcoholic Solution by Susan W. Christopherson and R.L. Glass.

METHYL-
ESTERS

GLYCEROL

START

BOTERVET

2 n KOH in METHANOL

BOTERVET

2 n NaOMe in METHANOL

METHODE: 5% oplossing van botervet in hexaan
0,25 ml. 2 n KOH of NaOMe in methanol
20 seconden schudden, direkt analyseren.

BIJLAGE 2a

METHYL-
ESTERS

TRI-
GLYCERIDEN

FFA

STEROL

GLYCEROL

START

(A)

(B)

(C)

(D)

(E)

BOTERVET 5% oplossing in hexaan

gemethyleerd met (A)(B)(C)(D)(E) ml. 2n KOH in methanol.

(A) 0,200 ml.

(B) 0,100 ml.

(C) 0,050 ml.

(D) 0,020 ml.

(E) 0,010 ml.

METHYL-
ESTERS

TRI-
GLYCERIDEN

FFA

STEROL

START

(A)

(B)

(C)

(D)

(E)

BOTERVET 5% oplossing in hexaan

gemethyleerd met (A)(B)(C)(D)(E) ml. 2 n NaOMe in methanol.

(A) 0,200 ml.

(B) 0,100 ml.

(C) 0,050 ml.

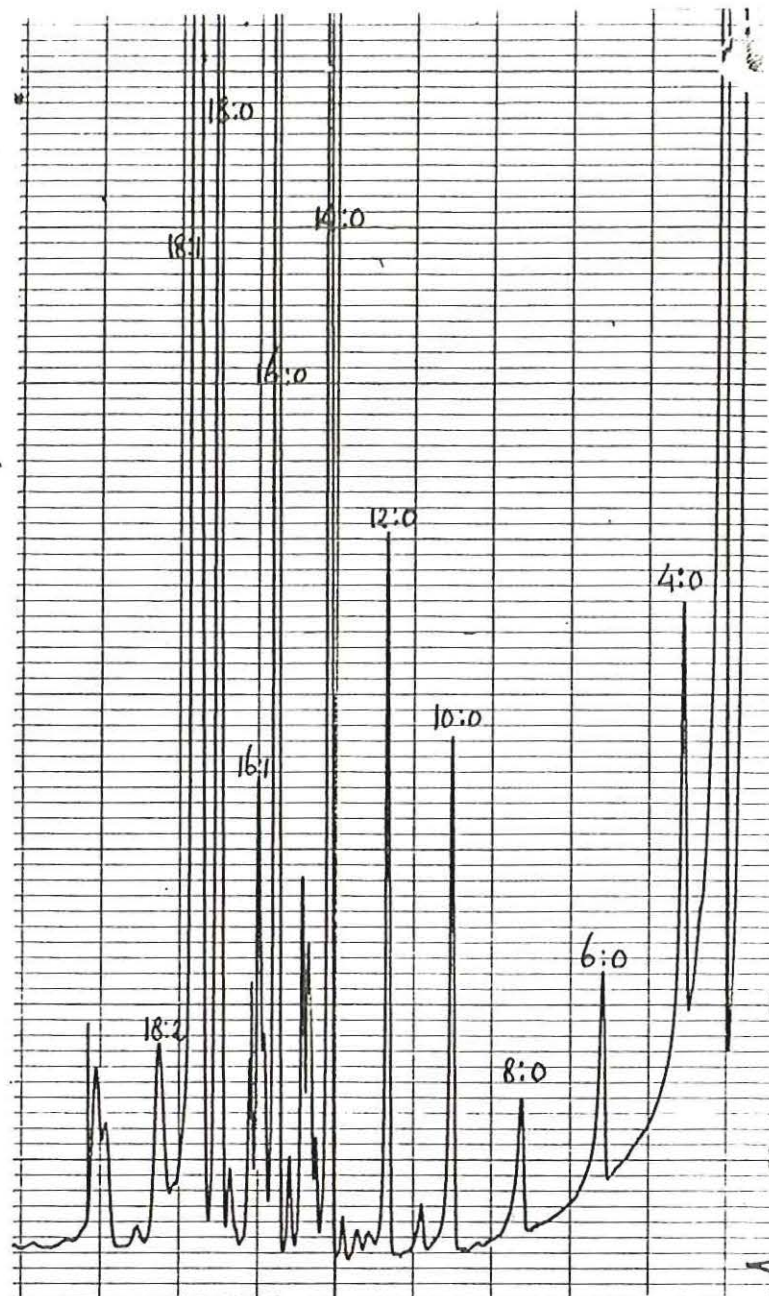
(D) 0,020 ml.

(E) 0,010 ml.

BIJLAGE 3

GASCHROMATOGRAPHISCHE

BOTERVETANALYSE



BOTERVET

1980 AUG 27 12:47:52

CHANNEL 2 RUN 1 FILE 2 METHOD 1

INDEX 1 SAMPLE METHANOLYSIS WITH 2N KOH

METHANOLYSIS OF BUTTEROIL CHRISTOPHERSON & GLASS

ON METHANOLIC BAS

C4:0	3.595	571	1844	1.43	.233
C6:0	2.209	981	1254	1.292	.401
C8:0	1.286	1347	783	1.205	.55
C10:0	2.692	1668	1959	1.008	.681
5	.262	1791	191	1.006	.732
C12:0	2.925	1953	2133	1.006	.798
7	.159	2148	120	.973	.877
C14:0	9.998	2208	7536	.973	.902
9	.314	2271	230	1	.928
10	1.912	2298	1402	1	.939
11	1.617	2328	1186	1	.951
12	.693	2385	508	1	.974
C16:0	23.01	2448	16880	1	1
14	3.417	2541	2506	1	1.038
15	.997	2586	731	1	1.056
C18:0	13.69	2760	8950	1.122	1.127
C18:1	29.12	2883	19382	1.102	1.178
18	1.346	3093	987	1	1.263
19	.764	3471	560	1	1.418

Bijlage 4. Concentraties van de vetzuren in het vet gaschromatografisch bepaald.

Vet- zuur	botervet		botervet		botervet		margarine		raapolie	
	KOH	NaOMe	KOH	NaOMe	KOH	NaOMe	KOH	NaOMe	KOH	NaOMe
C 4:0	3,6	3,5	3,3	3,3	3,5	3,2	---	---	---	---
C 6:0	2,2	2,2	2,3	2,3	2,4	2,2	---	---	---	---
C 8:0	1,3	1,3	1,3	1,3	1,4	1,3	---	---	---	---
C10:0	2,6	2,6	2,5	2,6	2,8	2,8	---	---	---	---
C12:0	3,0	3,0	2,9	2,9	3,2	3,1	0,3	0,3	---	0,1
C14:0	9,5	9,8	10,3	10,1	10,2	10,1	2,9	2,9	0,1	0,1
C16:0	22,2	23,4	24,3	23,8	23,2	23,0	26,6	26,9	5,5	5,5
C16:1	2,3	3,1	3,1	3,1	2,9	3,0	2,7	2,6	0,3	0,5
C18:0	13,8	12,1	12,3	12,4	13,1	13,2	6,7	6,6	1,4	1,4
C18:1	30,3	30,8	29,1	29,9	29,7	29,2	28,9	28,5	54,2	54,3
C18:2	---	---	---	---	---	---	18,7	17,7	22,6	22,3
C18:3	---	---	---	---	---	---	2,1	2,2	9,7	9,6
C20:0	---	---	---	---	---	---	1,3	1,4	0,6	0,6
C20:1	---	---	---	---	---	---	3,2	3,4	1,9	2,1
C20:0	---	---	---	---	---	---	0,9	1,1	0,3	0,2
C22:1	---	---	---	---	---	---	2,1	2,9	3,0	3,3

1 Inleiding:

De bereiding van methylesters uit oliën en vetten berust op het volgende principe:

De olie of het vet opgelost in hexaan wordt behandeld met een 2n methanolische oplossing van kaliumhydroxide of van natriummethoxide, waardoor de van glyceriden afkomstige vetzuren worden omgezet in methylesters.

Tot nu toe werd door ons voor het methyleren een 2n oplossing van kaliumhydroxide in methanol gebruikt.

Nu wordt beweerd dat een met kaliumhydroxide gemethyleerde oplossing na enige tijd zou gaan verzepen terwijl een met natriummethoxide gemethyleerde oplossing niet zou verzepen. Deze oplossing zou dus langer houdbaar blijven, wat in de praktijk goed van pas zou komen in verband met het analyseren van botervetten op de gaschromatograaf (automaat). In dit onderzoek werd dit op juistheid getoetst.

- 1.1 Dunnelaagchromatografie werd toegepast om na te gaan in welke mate de van glyceriden afkomstige vetzuren waren omgezet in methylesters. Ook werd daarbij nagegaan welke hoeveelheid methyleringsreagens nodig was voor een totale omzetting in methylesters.
- 1.2 Gaschromatografie werd toegepast om de vetzuursamenstelling te vergelijken van monsters botervet, margarine en raapolie, die gemethyleerd werden met:
 - a. 2n KOH in methanol, (Bijlage 3)
 - b. 2n NaOMe in methanol.

2 Materiaal:

Het onderzoek werd gedaan op monsters botervet, margarine en raapolie.

Als reagentia werden gebruikt:

- een 2n methanolische oplossing van kaliumhydroxide
- een 2n methanolische oplossing van natriummethoxide

3 Methoden:

- 3.1 De gebruikelijke omestering van glyceriden wordt door ons uitgevoerd met KOH/MeOH 2n. De methylesters van de hogere vetzuren zijn in het reactie-medium voldoende houdbaar voor gebruik in een automatisch injectiesysteem. De methylesters van de lagere vetzuren ondergaan echter een ontleding onder invloed van basisch milieu. Dit wordt ondervangen door neutralisatie met NaHSO_4 .
De variant in de methode van Christopherson en Glass is 2n NaOMe in methanol i.p.v. 2n KOH in methanol.

3.2 Dunnelaagchromatografie werd gedaan op silicagelplaten van 0,25 mm. Het loopmiddel was petroleumether: ether: azijnzuur (85:15:1 v/v).

De ontwikkelde platen werden gedetekteerd door sproeien met een 50% oplossing van zwavelzuur en daarna werd de plaat enige tijd verwarmd bij 170°C.

3.3 Gaschromatografie werd gedaan op een Varian 3700 gaschromatograaf met een vlamionisatiedetektor.

De kolommen die gebruikt werden waren gepakt met silar 5 cp en silar 9 cp. Het draaggas was stikstof. Van de monsters werd 2 µl geïnjecteerd bij een oventemperatuur van:

- voor margarine en raapolie 205°C
- voor botervet begin temperatuur 55°C geprogrammeerd naar 215°C met 3°C per minuut.

4 Bespreking van de resultaten:

- Bij de huidige methode worden alle uit glyceriden afkomstige vetzuren omgezet in methylesters. (Bijlage 1)
Ook bij vervanging van 2n KOH door 2n NaOMe wordt alles omgezet. (Bijlage 1)
- Het blijkt dat de ondergrens voor totale omzetting ligt bij 0,050 ml voor beide methyleringsreagentia. (Bijlage 2a en b)
- Bij gebruik van 2n NaOMe ontstaat een wit neerslag op de bodem. Dit neerslag is sterker naarmate er meer 2n NaOMe wordt toegevoegd.
- Na één dag staan van een oplossing gemethyleerd met 2n NaOMe ontstaat gelvorming. Dit gebeurt ook als de gemethyleerde oplossing wordt gecentrifugeerd en de bovenste laag wordt afgegoten in monsterflesjes.
- Bij directe analyse na methyleren is er geen verschil in vetzuursamenstelling tussen de beide methyleringsreagentia. (Bijlage 4)