

KVANTITATÍVNE STANOVENIE A SLEDOVANIE KYSELINY IZOOLEJOVEJ POČAS STUŽOVANIA SLNEČNICOVÉHO OLEJA METÓDOU PAPIEROVEJ CHROMATOGRAFIE (I) OPTICKÉ VYHODNOTENIE MIKROFOTOMETROM

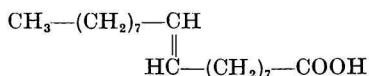
V. KOMAN, E. KOMANOVÁ

Katedra technickej mikrobiológie a biochémie Slovenskej vysokej školy techn. v Bratislave
Vývojové pracovisko, n. p. Palma, Bratislava

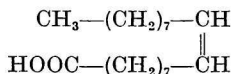
Už dávnejšie je známe, že počas katalytickej hydrogenizácie rastlinných olejov vznikajú izoméne produkty nenasýtených mastných kyselín. V súvislosti s tým sa menia niektoré fyzikálne vlastnosti olejov, napríklad bod topenia. Už r. 1919 C. W. Moore [1] izoloval z hydrogenizovaného etylesteru kyseliny olejovej tuhé nenasýtené mastné kyseliny a r. 1929 T. P. Hilditch a M. L. Vidyarathi [2] dokázali, že tieto izoméry sú dôsledkom geometrickej a polohovej izomerizácie. Avšak iba v posledných piatich rokoch dali nové analytické metódy podnet k štúdiu mechanizmu tvorby a priebehu izomerizácie nenasýtených mastných kyselín. Touto otázkou sa hlbšie zaoberajú R. R. Allen [3], C. Boelhouwer [4] a P. V. Johnston [5]. Z ich prác vyplýva, že vznik a množstvo izomérov nenasýtených mastných kyselín môže indikovať zmenu podmienok, prípadne určovať zmeny pracovných podmienok počas hydrogenizácie tukov. Pretože i biologická hodnota, najmä geometrickeho *trans*-izoméru mastných kyselín sa stala otáznou, počet štúdií v tomto smere v poslednom čase značne vzrástol [6, 7, 8].

Z uvedeného možno usúdiť, že sledovanie izomérov nenasýtených mastných kyselín je potrebné či už z hľadiska riadenia technologického procesu alebo z hľadiska ich biologickej účinnosti.

Typickým predstaviteľom geometrických izomérov vyšších nenasýtených mastných kyselín, ktoré vznikajú pri stužovaní, je tzv. kyselina *izoolejová*, inak aj



kyselina elaidová, čiže *trans*- $\Delta^{9:10}$ -oktadecénová s b. t. 44,7 °C na rozdiel od kyseliny olejovej, *cis*- $\Delta^{9:10}$ -oktadecénovej, ktorá má b. t. 13 °C:



Z doterajších spôsobov používaných na jej stanovenie treba uviesť starší Twitschelov spôsob stanovenia pomocou olovnatých solí [19].

V poslednom čase sú to spektrálne metódy, najmä infračervená spektrofotometria, kde v oblasti 10,33 μ sa kvalitatívne prejavajú všetky molekuly látok, ktoré majú *trans*-konfiguráciu [9, 17, 18].

Adsorpčné chromatografické stanovenie kyseliny izoolejovej na stĺpci Al_2O_3 vypracoval T. J. Boman [10]. M. R. Subbaram [20] a A. P. Mahadevan [11] vypracovali metódu stanovenia kyseliny izoolejovej na kolóne po oxydačnom rozštípení nenасыtenej kyseliny v mieste dvojitej väzby vo forme kyseliny dikarbónovej.

Na možnosť kvalitatívneho stanovenia *trans*-formy kyseliny olejovej papierovou chromatografiou poukázali H. Schlenck [12], H. P. Kaufmann [13] a Č. Michalec [14].

Experimentálna časť

Príprava kyseliny izoolejovej

Kyselina izoolejová sa pripravila z olivového oleja, do ktorého sa pri teplote 30°C počas 30 minút zavádzali z Kippovho prístroja kyslíčniky dusíka získané rozkladom dusitanu sodného 50 %-nou HNO_3 . Po zmydelnení a päťnásobnom prekryštalovaní z absolútneho metanolu sa získal produkt s b. t. $43,2^\circ\text{C}$, j. č. 88,9, $n_D^{40} = 1,4399$.

Podmienky laboratórneho stužovania

Stužovalo sa v autokláve (500 ml) za atmosférického tlaku elektrolytickým vodíkom o čistote 99,98 % a čerstvým katalyzátorom o obsahu 13,9 % Ni za podmienok uvedených v tab. 1. Na stužovanie sa použil slnečnicový olej s j. č. 126, č. zm. 196, $n_D^{40} = 1,4654$ a č. k. 0,2.

Tabuľka 1

Podmienky stužovania	Vzorka číslo	Doba stužovania min.	Teplota $^\circ\text{C}$ (b)	Obrátky miešadla (V) (a)	Katalyzátor %	Množstvo H_2 l/hod.
s* e l e k t	2	15	200	60—70	1	70,5
	3	30	200	40—50	1	70,5
	4	45	200	40—50	1	70,5
	5	60	200	60—70	1	70,5
n e s e l e k t	1	60	190	35—60	0,2	70,5
	6	60	140	50—60	0,5	70,5
	7	90	140	45—60	0,5	70,5
	8	120	140	45—60	0,5	70,5
	9	240	140	45—60	0,5	70,5

*Počet obrátok miešadla sa kontroloval cez 6 V dynamo podľa výchylky na voltmetri b. Teplota sa udržiavala v rozmedzí $\pm 5^\circ\text{C}$.

* Podmienky, za akých sa stužovanie slnečnicového oleja robilo, nezodpovedajú presne tomu, čo sa pod týmto pojmom rozumie. Stužené vzorky budú v ďalšom označované ako „selektívne“ a „neselektívne“.

Zo stužených vzoriek sa po odfiltrovaní katalyzátora stanovili chemické i fyzikálne konštanty: j. č. (Hanuš), bod topenia (posunom), index lomu, bod tuhnutia (Žukov), percento kyseliny izoolejovej metódou olovnatých solí. (Všetko podľa JAM č. 11 [19].)

Zmesi mastných kyselín pre chromatografiu sa pripravili bežným spôsobom po zmydlení stužených vzoriek.

Podmienky pre chromatografiu

Použil sa papier Whatman 1 o rozmeroch 17×23 , impregnovaný frakciou petroleja s b. v. $190\text{--}220^\circ\text{C}$. Vzorky mastných kyselín sa nanášali ako 5 % benzénové roztoky v množstve 0,250 mg.

Mastné kyseliny sa chromatograficky oddelili dvojakým spôsobom:

1. pri teplote $+25^\circ\text{C}$ v zmesi acetón—kyselina octová—voda (80 : 10 : 20), sýtenej undekánom. Impregnačný stupeň bol 150—200, doba vyvíjania 5 hodín;

2. pri teplote -30°C v zmesi acetón—kyselina propiónová—voda (4 : 3 : 0,5). Impregnačný stupeň bol 250—300, doba vyvíjania 12 hodín.

Po vyvinutí a vysušení chromatogramu sa škvrny oddelených mastných kyselín po prevedení na mednaté mydlá ozrejmlili kyselinou rubeanovodíkovou [15]. Súbežne sa vykonala detekcia nenasytených mastných kyselín 1 % vodným roztokom manganistanu draselného.

Kvantitatívne vyhodnotenie jednotlivých škvŕn mastných kyselín sa urobilo z negatívnych snímok mikrofotometrom KERAMOS Typ F-3. Na prípravu negatívov sa použil film Orto-repro II B, exponovaný a vyvolávaný vždy za rovnakých podmienok.

Kvantitatívne zmeny kyseliny izoolejovej a mastných kyselín stužených vzoriek sa vypočítali po zmeraní výšok maximálnych intenzít (ďalej výška vrcholu) a porovnali sa s výškou známeho množstva kyseliny olejovej ako štandardu, ktorá tiekla na chromatogramoch súčasne so vzorkami pri normálnej a nízkej teplote.

Na kvantitatívne zhodnotenie chromatogramov detegovaných roztokom KMnO_4 sa pripravil kalibračný chromatogram.

Z výsledkov meraní sa podľa F. A. Lokvenca [16] štatistickou metódou vypočítala stredná odchýlka a citlivosť metódy.

Chemické a fyzikálne konštanty, stanovené zo vzoriek slnečnicového oleja stužovaného za podmienok uvedených v experimentálnej časti, sú uvedené v tab. 2.

Tabuľka 2

Vzor- ka číslo	Doba stužovania	Jódové číslo	Index lomu	Bod topenia ($^\circ\text{C}$) <i>a</i>	Bod tuhnutia ($^\circ\text{C}$) <i>b</i>	Rozdiel <i>a—b</i>
2	15	102,15	1,4654	24,0	2,3	21,7
3	30	89,5	1,4633	31,6	12,6	19,0
4	45	68,1	1,4606	41,0	27,4	13,6
5	60	66,4	1,4603	42,5	29,5	13,0
1	60	99,9	1,4666	—	—13,2	—
6	60	113,6	1,4665	—	—12,8	—
7	90	111,67	1,4661	—	—11,2	—
8	120	107,23	1,4658	—	—4,8	—
9	240	100,32	1,4660	—	3,1	—

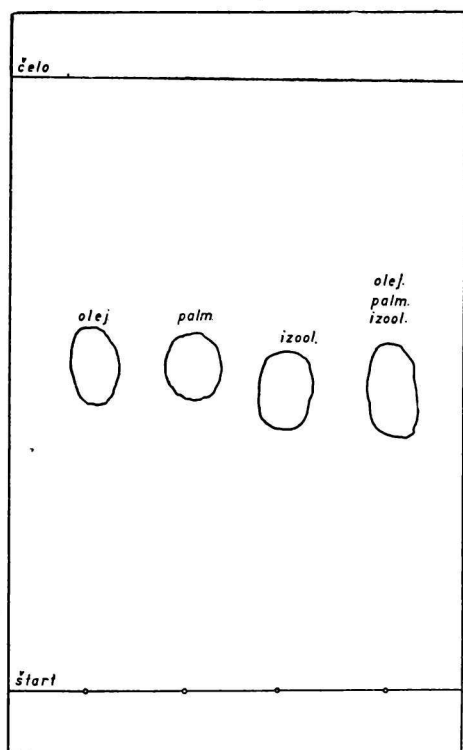
Pri stužovaní vzniknuté množstvá kyseliny izoolejovej, stanovené metódou olovnatých solí, uvádzame v tab. 3.

Tabuľka 3

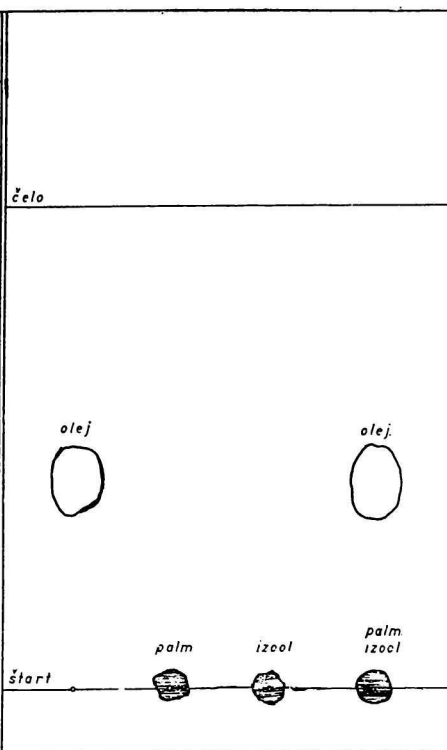
Vzor- ka číslo	Doba stužovania	Jódové číslo tuhých mast- ných kyselín	% tuhých mast- ných kyselín	% tekutých mastných kyselín	% kyseliny izoolejovej
2	15	50,5	36,3	63,7	4,9
3	30	48,30	33,79	66,21	11,8
4	45	49,5	23,8	76,8	18,1
5	60	18,65	21,4	78,5	20,4
1	60	4,76	2,1	97,9	0,1
6	60	46,8	1,33	98,77	0,69
7	90	36,5	4,55	95,44	1,8
8	120	32,2	7,3	92,69	2,62
9	240	16,95	18,0	82,0	3,4

V porovnaní s týmito hodnotami uvádzame vypracovanú metódu na stanovenie kyseliny izoolejovej rozdeľovacou papierovou chromatografiou.

Je známe, že kyselina izoolejová a kyselina olejová tvoria spolu s kyselinou palmitovou pri normálnej teplote vyvíjania chromatogramov tzv. kritickú zmes (obr. 1). Ich oddele-



Obr. 1. Chromatogram vyvíjaný pri teplote +25 °C.



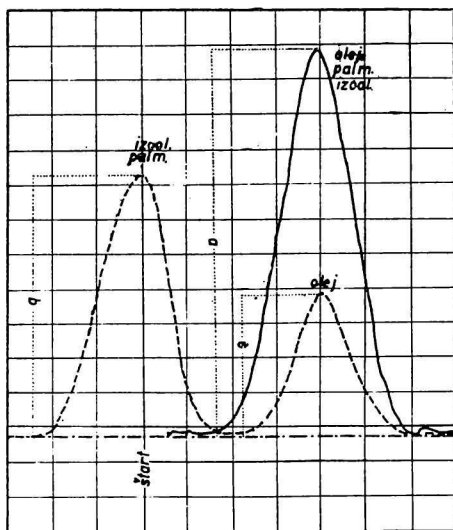
Obr. 2. Chromatogram vyvíjaný pri teplote -30 °C.

nie je možné iba za zníženej teploty [13, 14], keď kyselina *izoolejová* ako nenasýtená, avšak tuhá, zostane v dôsledku zvýšeného bodu topenia v mieste nanosenia (na štarte) spolu s nasýtenými masnými kyselinami (obr. 2).

Takto oddelené zložky zmesi možno vyhodnotiť už i kvantitatívne použitím niektorej z metód kvantitatívneho vyhodnocovania chromatogramov. Na tento účel sme použili optické vyhodnocovanie mikrofotometrom.

Mikrofotometrické merania chromatogramov ukázali, že kyselinu *izoolejovú* možno stanoviť:

1. priamo po ozrejmnení chromatogramov vyvíjaných pri teplote -30°C manganistanom draselným,
2. nepriamo (diferenčne) z chromatogramov vyvíjaných za normálnej a nízkej teploty po ozrejmnení kyselinou rubeanovodíkovou (obr. 3). Kyselina *izoolejová* sa vy-



Obr. 3. Mikrofotometrický záznam masných kyselín vyvíjaných pri teplote $+25^{\circ}\text{C}$ (plná čiara) a pri teplote -30°C (prerušovaná čiara).

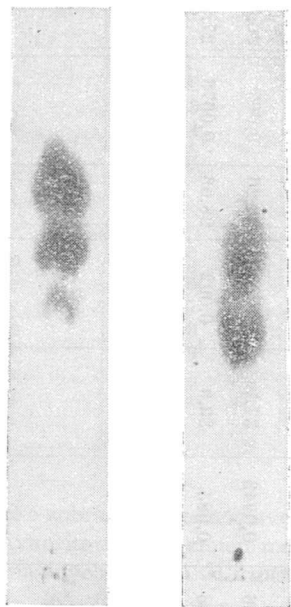
počítala z rozdielu výšok vrcholov $a-c$. Ak je už obsah kyseliny palmitovej známy, platí $a-c = b$ (množstvo kyseliny *izoolejovej*).

Výhodou tohto stanovenia je, že je možné vyvodit kvantitatívne závery nielen pre kyselinu *izoolejovú*, ale aj pre ostatné masné kyseliny v rozličných zmesiach.

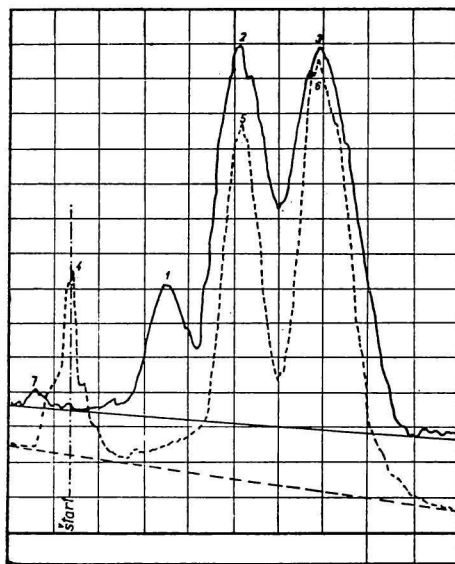
Na základe toho sa pripravili chromatogramy a ich mikrofotometrické záznamy zo zmesi masných kyselín surového a za rôznych podmienok stužovaného slnečnicového oleja. Na obr. 5 je znázornený priebeh mikrofotometrického záznamu pôvodného slnečnicového oleja, ktorý zodpovedá rozdeleným masným kyselinám na obr. 4.

Z výšok vrcholov a z výšky známeho množstva súčasne tečúceho štandardu kyseliny olejovej (štandard kyseliny olejovej obsahoval 16,1 % kyseliny linolovej ako prímеси) sa vypočítal obsah masných kyselín v slnečnicovom oleji:

kyselina arachová	2 %
kyselina stearová	10,4 %
kyselina palmitová	4,1 %
kyselina olejová	37,24 %
kyselina linolová	46,3 %



a Obr. 4. b



Obr. 5.

Obr. 4. *a* — chromatograficky oddelené mastné kyseliny slnečnicového oleja pri teplote vyvíjania +25 °C; *b* — chromatograficky oddelené mastné kyseliny slnečnicového oleja pri teplote vyvíjania —30 °C.

Obr. 5. Mikrofotometrický záznam chromatogramu slnečnicového oleja vyvíjaného pri teplote +25 °C (plná čiara) a pri teplote —30 °C (prerušovaná čiara).

1 — kyselina stearová, 2 — kyselina olejová a kyselina palmitová, 3 — kyselina linolová, 4 — kyselina stearová a kyselina palmitová, 5 — kyselina olejová, 6 — kyselina linolová, 7 — kyselina arachová.

Planimetromaním plôch podľa A. Sehera [21] sa z mikrofotometrických záznamov vypočítalo podobné zloženie pôvodného slnečnicového oleja.

Planimetrické vyhodnotenie plôch sa urobilo iba v prípade pôvodného slnečnicového oleja.

Pri stužovaní slnečnicového oleja zostáva množstvo kyseliny palmitovej a kyseliny arachovej konštantné. V priebehu katalytickej hydrogenizácie sa mení množstvo kyseliny linolovej (klesá), kyseliny olejovej (rastie — klesá), kyseliny stearovovej (rastie) a kyseliny izoolejovej (len vzniká). Množstvo kyseliny izoolejovej stanovené diferenčným spôsobom a množstvo mastných kyselín slnečnicového oleja, ktoré sa pri stužovaní menia, sú zhrnuté v tab. 4.

Tabuľka 4

Množstvo kyseliny izoolejovej a mastných kyselín slnečnicového oleja stanovené diferenčným spôsobom

Podmienky	Vzorka číslo	Doba stužovania	Vyvíjané pri teplote +25 °C						Vyvíjané pri teplote —30 °C					
			Kyselina stearová		Kyselina olejová + izoolejová		Kyselina linolová		Kyselina olejová		Kyselina linolová		Kyselina izoolejová	
			mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%	mg	%
selektívne	1	—	0,026	10,4	0,0927	37,21	0,115	46,25	0,0927	37,21	0,117	46,1	—	—
	2	15	0,0606	24,2	0,113	44,36	0,063	25,2	0,103	40,76	0,063	25,1	0,01	3,6
	3	30	0,064	25,3	0,112	44,96	0,059	23,6	0,070	39,91	0,062	26,45	0,014	5,0
	4	45	0,1165	54,0	0,0991	39,76	0,0167	6,7	0,080	34,16	0,018	7,5	0,015	5,6
	5	60	0,1145	45,8	0,115	45,86	—	—	0,090	36,06	—	—	0,0245	9,8
neselektívne	6	60	0,0316	12,65	0,0951	38,04	0,107	42,95	0,073	29,16	0,071	28,5	0,022	8,8
	7	90	0,0354	14,6	0,0966	38,76	0,102	40,9	0,082	32,86	0,0738	29,5	0,0147	5,9
	8	120	0,039	15,6	0,101	40,66	0,0943	37,7	0,08	32,26	0,066	26,5	0,021	8,4
	9	240	0,0558	22,3	0,094	37,86	0,085	33,9	0,092	28,66	0,0678	27,2	0,023	10,2

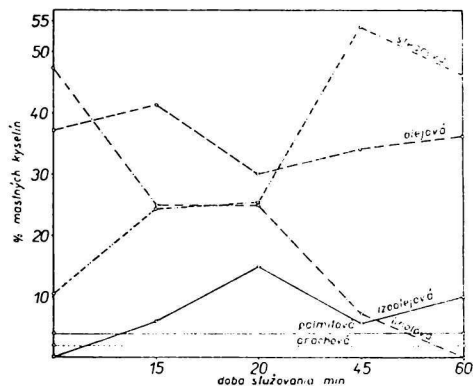
Konštantná hodnota kyseliny palmitovej 4,1 % je už odpočítaná.

Množstvo kyseliny izoolejovej, stanovené priamo na základe kalibračného chromatogramu zo vzoriek stuženého sľečnicového oleja, uvádzame v tab. 5.

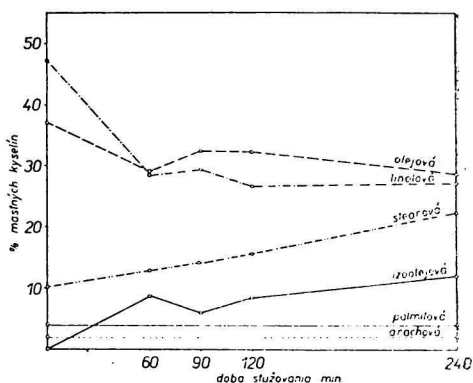
Tabuľka 5

Podmienky stužovania	Vzorka číslo	Doba stužovania	% kyseliny izoolejovej stanovené priamo	% kyseliny izoolejovej stanovené metódou olovnatých solí
s e l e k t	2	15	2,7	4,95
	3	30	6,27	11,84
	4	45	6,86	18,17
	5	60	8,35	20,4
n e s e l e k t	6	60	5,32	0,695
	7	90	2,02	1,85
	8	120	1,63	2,62
	9	240	9,2	3,41

Grafické zobrazenie hodnôt uvedených v tab. 4 názorne vyjadruje priebeh kvalitatívnych i kvantitatívnych zmien mastných kyselín počas stužovania sľečnicového oleja. Zmeny mastných kyselín vo vzorkách 2—5 ukazuje obr. 6.



Obr. 6. Zmeny mastných kyselín sľečnicového oleja stužovaného za selektívnych podmienok.



Obr. 7. Zmeny mastných kyselín sľečnicového oleja stužovaného za neselektívnych podmienok.

Zmeny mastných kyselín vo vzorkách 6—9 znázorňuje obr. 7 (neselektívne podmienky stužovania).

Diskusia

Ak uvažujeme o „selektívnom“ a „neselektívnom“ type stužovaných rastlinných olejov, možno z diagramov usúdiť, že laboratórne stužovanie za „selektívnych“ podmienok prebieha v skutočnosti vyslovene neselektívne a „neselektívne“ stužovanie vzoriek má viac-menej kompromisný charakter oboch typov reakcií.

Z výsledkov získaných metódou rozdeľovacej papierovej chromatografie s kvantitatívnym vyhodnotením pomocou mikrofotometra sa štatistickým zhodnotením vypočítala smerodajná odchýlka.

Ak $x_1 = 9$ a $\bar{x}_1 = 250,5$ γ nanášanvej vzorky a $\Sigma (\bar{x}_1 - x_1)^2 = 953,75$, po vypočítaní smerodajná odchýlka $\bar{x}_1 \pm \Sigma x_1 = 250,5 \pm 10,9$.

Vyjadrením smerodajnej odchýlky v percentách dostaneme hodnotu 4,3 %, ktorú možno uviesť ako citlivosť opísanej metódy.

Výsledky predpokladajú len prítomnosť *trans*-izoméru a korekcia na možné prítomné polohové izoméry sa neurobila. Polohové izoméry možno metódou papierovej chromatografie stanoviť po oxydácii a štiepení v mieste dvojitej väzby vo forme dikarbónových kyselín. Touto otázkou sa budeme zapodievať v ďalšej práci.

V tejto práci opísané stanovenie a sledovanie kyseliny izoolejovej metódou rozdeľovacej papierovej chromatografie s nasledujúcim mikrofotometrickým vyhodnotením má oproti staršej Twitchelovej metóde i adsorpčnej chromatografickej metóde [10] viac výhod. Okrem úspory času a použitia malého množstva vzorky je to predovšetkým možnosť súčasného sledovania celého spektra zložiek zmesí masných kyselín či už v pôvodných, stužovaných alebo ináč pozmenených olejoch. Na tomto podklade možno získať jednorazove úplnejší a všeobecnejší obraz a súvis, potrebný na posúdenie určitých závislostí.

Súhrn

Bola vypracovaná a opísaná možnosť stanovenia kyseliny izoolejovej metódou rozdeľovacej papierovej chromatografie s nasledujúcim kvantitatívnym optickým vyhodnotením na mikrofotometri. Týmto spôsobom sa sledovala kyselina izoolejová, ktorá vzniká v slnečnicovom oleji za laboratórnych podmienok „selektívne“ a „neselektívne“ vedenej katalytickej hydrogenizácie. Získané výsledky sú v práci porovnané s výsledkami bežne používanej Twitchelovej metódy clovnatých solí na stanovenie kyseliny izoolejovej. Chromatografická metóda dovoľuje súčasne sledovať zmeny ostatných masných kyselín slnečnicového oleja. Grafické znázornenie týchto zmien môže poskytnúť názorný a úplný obraz o priebehu stužovania rastlinného oleja. Z výsledkov získaných za podmienok opísaných v práci vyplýva, že pri tomto spôsobe merania vzniká chyba v rozmedzí $\pm 4,3$ %.

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ И СЛЕДОВАНИЕ ИЗОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ В ТЕЧЕНИИ ЗАСТЫВАНИЯ ПОДСОЛНЕЧНОГО МАСЛА БУМАЖНОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ (I) ОПТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МИКРОФОТОМЕТРОМ

В. КОМАН, Е. КОМАНОВА

Кафедра технической микробиологии и биохимии Словацкой высшей технической школы
в Братиславе

Лаборатория г. п. Пальма в Братиславе

Выводы

Была проработана и описана возможность определения *изомасляной* кислоты методом бумажной хроматографии с последующей количественной оптической оценкой на микрофотометре. Этим способом была следована *изомасляная* кислота, которая получается в подсолнечном масле при лабораторных условиях селективно и неселективно проводимой каталитической гидрогенизацией. Полученные результаты сравниваются в работе с результатами обыкновенно применяемого Твитшелева метода Pb—соли для определения *изомасляной* кислоты. Хроматографический метод позволяет одновременно следовать изменениям остальных жирных кислот подсолнечного масла. Графическое изображение этих изменений может дать наглядный и полный образ о ходе застывания растительного масла. На основании результатов, полученных при описанных условиях работы следует, что при этом способе измерений получается ошибка в границах $\pm 4,3 \%$.

Поступило в редакцию 29. 4. 1960 г.

QUANTITATIVE BESTIMMUNG UND UNTERSUCHUNG DER ISOÖLSÄURE WÄHREND DES HÄRTUNGSPROZESSES VON SONNENBLUMENKERNÖL MITTELS DER METHODE DER PAPIERCHROMATOGRAPHIE (I) OPTISCHE AUSWERTUNG MITTELS DES MIKROPHOTOMETERS

V. KOMAN, E. KOMANOVÁ

Lehrstuhl für technische Mikrobiologie und Biochemie an der Slowakischen Technischen
Hochschule in Bratislava

Entwicklungsarbeitsstätte des Nationalunternehmens Palma, in Bratislava

Zusammenfassung

Es wurde die Möglichkeit der Bestimmung der *Isoölsäure* mittels der Methode der Trennungs-Papierchromatographie mit anschließender quantitativer optischer Auswertung mittels des Mikrophotometers ausgearbeitet und beschrieben. In dieser Weise wurde die *Isoölsäure* untersucht, welche sich im Sonnenblumenkernöl unter Laboratoriumsbedingungen einer selektiv und nicht selektiv geführten katalytischen Hydrogenierung bildet. Die erhaltenen Ergebnisse werden in dieser Arbeit mit den Ergebnissen der gewöhnlich angewendeten Twitchellschen Methode der Pb-Salze für die Bestimmung der *Isoölsäure* verglichen. Die chromatographische Methode erlaubt gleichzeitig auch die

Untersuchung der Veränderungen der übrigen Fettsäuren des Sonnenblumenkernöls. Die graphische Veranschaulichung dieser Veränderungen gewährt ein anschauliches Bild über den Verlauf des Härtungsprozesses von Pflanzenöl. Aus den unter den in dieser Arbeit beschriebenen Bedingungen erhaltenen Ergebnissen geht hervor, dass bei diesem Messverfahren ein Fehler im Bereich von $\pm 4,3$ % entstehen kann.

In die Redaktion eingelangt den 29. 4. 1960

LITERATÚRA

1. Moore C. W., J. Soc. Chem. Ind. 38, 320 (1919). — 2. Hilditch T. P., Vidyarthi M. L., Proc. Roy. Soc. (London) A 122, 552, 563 (1929). — 3. Allen R. R., Kiess A. A., J. Am. Oil Chem. Soc. 32, 400 (1955); 33, 301, 355 (1956); Allen R. R., Kiess A. A., Johnston P. V., Kummerow F. A., J. Am. Oil Chem. Soc. 35, 203 (1958); Allen R. R., Johnston P. V., J. Am. Oil Chem. Soc. 37, 16 (1960). — 4. Boelhouwer C., Gerken J., Ong Tian Lie, Waterman H. I., J. Am. Oil Chem. Soc. 30, 59 (1953). — 5. Johnston P. V., Johnson O. C., Kummerow F. A., J. Nutrition 65, 13 (1958); Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 96, 760 (1957); Science 126, 698 (1957). — 6. Sinclair H. M., Lancet 270, 381 (1956). — 7. Wolf A., Zpráva ze semináře Katedry chemie a skoušení potravin, Praha 1958, 59. — 8. Technické novinky III-2, 156 (1957). — 9. Ahlers N. H. E., Bret R. A., Mc Taggart N. G., J. Appl. Chem. 3, 433 (1953). — 10. Boman T. J., J. Sci. Ind. Res. 13 B, 718 (1954).
11. Phatak S. S., Mahadevan A. P., Patwardhan V. N., Current Sci. 21, 162 (1952); Phatak S. S., Patwardhan V. N., Nature 172, 456 (1953). — 12. Schlenck H., Gellermann I. L., Tillotson J. A., Mangold H. K., J. Am. Oil Chem. Soc. 34, 377 (1957). — 13. Kaufmann H. P., Mohr E., Fette Seifen Anstrichmittel 60, 165 (1958). — 14. Michalec Č., Biochim. Biophys. Acta 28, 212 (1958). — 15. Crombie M., Comber R., Boatman S. G., Biochem. J. 59, 309 (1955); Ballance P. E., Crombie W. M., Biochem. J. 69, 632 (1958). — 16. Lokvenec F. A., Štatistické vyhodnotenia v knihe: A. Kocková-Kratochvílová, *Praktikum technické mikrobiologie*, Praha 1954. — 17. Pokorný J., Kakáč B., Průmysl potravin 10, 19 (1959). — 18. Kaufmann H. P., Volbert F., Mankel G., Fette Seifen Anstrichmittel 61, 643 (1960). — 19. *Jednotné analytické metody, Tuky, 11*, Praha 1956. — 20. Subbaram M. R., Mahadevan A. P., J. Sci. Ind. Res. 16 C, 130—133 (1957). — 21. Seher A., Fette Seifen Anstrichmittel 58, 498 (1956).

Do redakcie došlo 29. 4. 1960

Adresa autorov:

Inž. Václav Koman, Bratislava, Kollárovo nám. 2, Chemický pavilón SVŠT.

Inž. Eva Komanová, Bratislava, ulica Februárového víťazstva, Vývojové pracovisko, n. p. Palma.