

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit
Band: 49 (1958)
Heft: 2

Artikel: Ueber die Papierchromatographie von Sterinen aus Tier- und Pflanzenfetten
Autor: Riemersma, J.C. / Stoutjesdijk, Wil / Ginkel, J.G. van
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982529>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. 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. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

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. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

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. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 22.02.2026

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

Ueber die Papierchromatographie von Sterinen aus Tier- und Pflanzenfetten

Von J. C. Riemersma und Frau Wil Stoutjesdijk

(Aus der Reichsuntersuchungsanstalt für Molkereiprodukte und Nahrungsfette (Rijkszuivelstation), Leiden, Niederlande; Direktor Dr. J. G. van Ginkel)

Die vor kurzem von *Sulser* und *Högl* (1957) beschriebene Arbeitsweise erlaubt die papierchromatographische Trennung von Cholesterin und einigen Phytosterinen und wird voraussichtlich sowohl für die Sterinchemie als auch für den Nachweis kleiner Mengen von tierischem in pflanzlichem Fett wertvoll sein. Wegen der Wichtigkeit dieser Anwendungen sei im Folgenden etwas tiefer auf einige experimentelle Einzelheiten eingegangen. Auf Grund von Erfahrungen, die in unserem Laboratorium gesammelt wurden, wurde die neue Methode von uns mit früher beschriebenen Methoden verglichen. Eine Methode wird angegeben, mit welcher die Anwesenheit von Stigmasterin eindeutig festzustellen ist.

A. *Vergleichung verschiedener fester und beweglicher Phasen*

Untersucht wurden drei in der Literatur beschriebene Lösungsmittelkombinationen, jeweils mit einem aufsteigenden Verfahren auf Whatman 1. Nach *Kodicek* und *Ashby* (1954) sind für die Trennung von Sitosterin und Cholesterin mehrere Lösungsmittel als mobile Phase, bei Paraffinöl als stationäre Phase, verwendbar. Die einzig brauchbare mobile Phase war nach unsern Versuchen Methanol (95 %). Diese mobile Phase, auf mit Paraffinöl vorbehandeltem Papier (Whatman 1 oder 2), wurde von uns längere Zeit praktisch für die Untersuchung von angeblichem Pflanzenfett auf Cholesterin verwendet. Die einzelnen Sitostherine sind aber mit Methanol (95 %) nicht zu trennen und die Methode von *Sulser* und *Högl* ist also bedeutend besser. Früher beschriebene Verfahren, wie die für Sterine und ihre Ester nach *Zimmermann* und *Bräse* (1956), geben nach unseren Versuchen eine bedeutend weniger effektive Trennung, oder waren ausserordentlich beschwerlich in der Ausführung. Bei der Methode von *Neher* und *Wettstein* (1952) zum Beispiel wird Phenylcellosolve als stationäre Phase verwendet, das einerseits die Zugfestigkeit des Papiers so beeinträchtigt, dass es schwierig zu handhaben ist, andererseits so langsam verdampft, dass es schwierig zu entfernen ist.

Als Lösungsmittelkombination verdient auch in dieser Hinsicht die von *Sulser* und *Högl* gegebene weitaus den Vorzug.

B. *Sprühmittel*

Antimontrichlorid ist ein spezifisches Identifizierungs- und Nachweismittel für Sterine, hat aber den Nachteil, unbequem zu sein im Gebrauch und sehr korrosive Dämpfe abzugeben. Phosphormolybdänsäure ist ein viel weniger agres-

sives Reagens, leider aber auch wenig spezifisch. Dieser Nachteil kann behoben werden, indem man vorher die Sterine aus dem Fett abtrennt, wie es in unserem Laboratorium seit Jahren geschieht (*Den Herder* 1950, 1955) und wie auch von *Hadorn* und *Jungkunz*, (1954), empfohlen wird. Das Fett wird verseift, die Sterine präzipitiert mit Digitoninlösung, acetyliert mit Essigsäureanhydrid, und die Acetate letztlich verseift zu Sterinen. Diese Arbeitsweise ist ein wenig zeitraubender, nach unsern Erfahrungen jedoch ohne Schwierigkeiten routinemässig durchzuführen. Sie hat den Vorteil, dass erstens der Gesamtsteringehalt, eine wichtige Kennzahl, und zweitens der Schmelzpunkt des Sterinacetats bestimmt werden.

Sind die Sterine nach der Digitoninmethode isoliert, so besteht weiterhin kein Grund, Antimontrichlorid zu verwenden. Statt das von *Sulser* und *Högl* beschriebene Sprühmittel ist in diesem Fall Phosphormolybdänsäure vorzuziehen. Mit diesem Reagens sind 5 bis 10 γ Sterin leicht zu erkennen. Mengen grösser als 10 γ gaben bei unsern Versuchen leicht Schwanzbildung auf dem Chromatogramm.

C. Isolierung von Stigmasterin

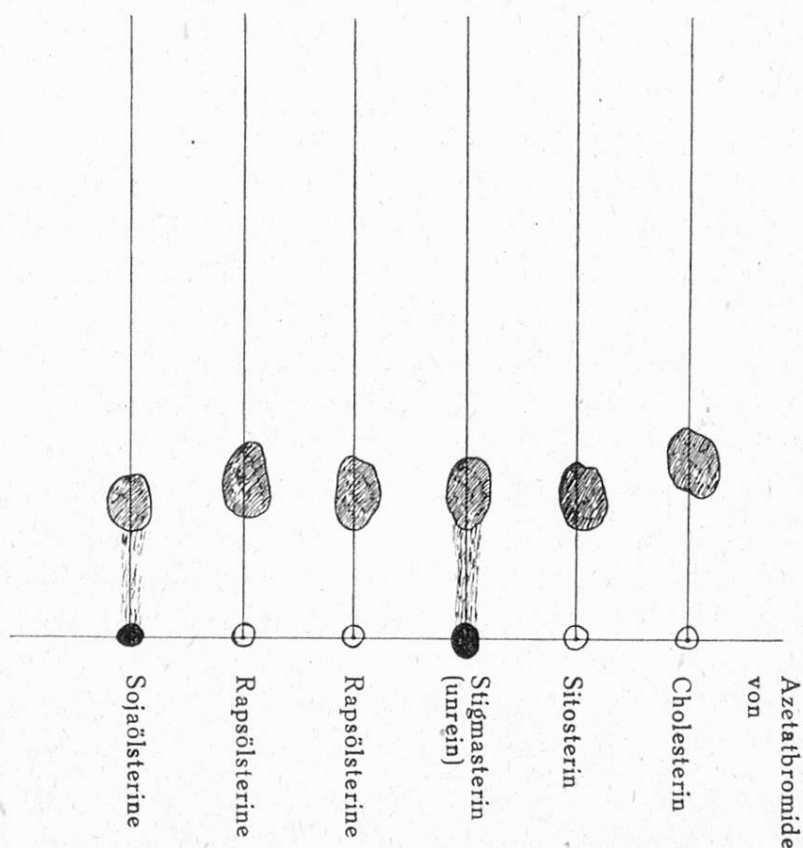
Während die Sitosterine eine Doppelbindung enthalten, hat Stigmasterin zwei Doppelbindungen. Hierauf beruht eine Methode, Stigmasterin präparativ herzustellen. Nach *Windaus* und *Hauth* (1906) wird das aus Soyabohnenöl isolierte Gemisch von Sterinacetaten in Äthyläther gelöst und mit ungefähr der berechneten Menge Brom in Eisessig versetzt. Das Tetrabromid von Stigmasterinacetat ist verhältnismässig unlöslich und kann demzufolge leicht isoliert werden. Diese Trennung ist auch chromatographisch leicht durchzuführen.

Aus verschiedenen pflanzlichen Oelen stellten wir die Sterinacetatbromide her. Als bewegliche Phase zeigte sich sowohl 80 % Essigsäure wie auch Äthanol (96 %) brauchbar. Im letztern Fall sind die R_f -Werte der Dibromide von Cholesterinacetat und Sitosterinacetat höher als im erstern, wodurch eine schnellere Trennung zu erzielen ist.

Wie zu erwarten war, zeichnet sich das Tetrabromid von Stigmasterinacetat durch einen niedrigen R_f -Wert aus; der Fleck bleibt am Startpunkt.

Bemerkenswert ist, dass bei der Chromatographie der Sterinacetatbromide Phosphormolybdänsäure nicht als Sprühmittel zu verwenden ist. Es soll hier nur $SbCl_3$ verwendet werden. Die Flecken sind erst rosa und werden allmählich violettgrau; sie zeigen im UV-Licht hellblaue Fluoreszenz.

In Soyabohnenöl fanden wir in dieser Weise eine nachweisbare Menge Stigmasterin. Andere Oele, wie Maisöl, Saffloröl, Kapoköl, Baumwollsaamenöl und Palmöl, enthalten dieses Sterin in chromatographisch nicht mehr nachweisbaren Mengen. Aus den Literaturangaben (*Elseviers Encyclopedia*, 1946, 1954) würde man in der Tat erwarten, dass in den technisch wichtigen Pflanzenfetten Stigmasterin nicht vorkommt.



Chromatogramm der Sterinacetatbromide

Papier: Whatman 1, imprägniert mit Paraffinum liquidum
 Laufmittel Aethanol (95%) Laufzeit 24 Stunden Sprühmittel SbCl_3

D. Experimentelle Einzelheiten

Eine Ursache für schlechte Trennungen, wie sie manchmal auftreten, wurde von uns in der Ueberalterung der Ausgangslösungen gefunden (wahrscheinlich durch Oxydation oder andere chemische Veränderungen). Für Zweifelsfälle, wenn höchste Trennschärfe gefordert wird, ist die Radialmethode, wie sie von *Sulser* (1956) beschrieben wird, besser als irgendeine andere, die wir geprüft haben. Im Normalfall ist aber auch die vertikale, absteigende Methode zu verwenden, welche etwas einfacher ist; sie gestattet es, mehr Substanzen auf einem Blatt zu chromatographieren. Wenn man auf eine Bestimmung der R_f -Werte verzichtet – durch Mitlaufenlassen von Vergleichungssubstanzen ist dies im allgemeinen möglich – kann man die bewegliche Phase am unteren Ende des Papiers abtropfen lassen (Durchlaufchromatogramm).

Mittels dickem Chromatographiepapier ist wahrscheinlich eine Trennung der Sitosterine in grösseren Mengen möglich. Diese Versuche sind im Gange, in der Absicht, durch Bestimmung der physikalischen Konstanten die getrennten Sterine genauer zu identifizieren.

«Sitosterin»-Präparate verschiedener Herkunft zeigten auf unsern Chromatogrammen zwei Flecken; Lieferanten waren Glidden, Hofmann-La Roche und Nutritional Biochemicals. Ein Präparat, bezeichnet als « β -Sitosterin», welches uns vom Physikalisch-Chemischen Laboratorium der Universität Leiden freundlichst zur Prüfung übergeben wurde, zeigte nur den Fleck mit niedrigem Rf-Wert. Nach den meisten Handbüchern (Elseviers Encyclopedia, 1946, 1954) haben β - und γ -Sitosterin die gleiche Anzahl von 29 C-Atomen.

Das chromatographische Verhalten macht für γ -Sitosterin eine Anzahl von 28 C-Atomen (in der Mitte zwischen β -Sitosterin und Cholesterin) wahrscheinlich. *Sandqvist* und *Bengtsson* (1931) nahmen an, dass γ -Sitosterin ein niedrigeres Molekulargewicht hat als β -Sitosterin.

Nach diesen Autoren kann z.B. das γ -Sitosterin aus Soyabohnen «eine niedrigere Formel als C 29 besitzen, jedoch kaum C 27»; sie gingen aber nicht weiter auf diese Frage ein. Die chromatographische Trennung der beiden Sterine nach *Sulser* und *Högl* (1957) gibt diesen Worten eine erhöhte Bedeutung. Weitere Untersuchungen wären erwünscht.

E. Anwendungen

Die klassische Methode, tierische und pflanzliche Fette nebeneinander mittelst der Phytosterinacetatprobe nachzuweisen ist noch immer von grösster Wichtigkeit. Zur Zeit wird die Methode in den Vereinigten Staaten auf ihre Eignung als «official method» bei der Butterprüfung untersucht (*Cannon* 1956). Kleine Mengen pflanzlichen Fettes als Beimischung in tierischen Fetten sind sehr genau zu erkennen (*Hadorn, Jungkunz*, 1954).

Die Methode gibt aber grosse Schwierigkeiten, wenn es darum geht, niedrige Prozentsätze tierischen Fettes in pflanzlichem Fett nachzuweisen; für dieses Problem kann die papierchromatographische Methode nützlich werden.

Die Frage ist wichtig: Wie gross muss die Menge tierischen Fettes in einem Gemisch mit pflanzlichem Fett sein, um eben noch nachweisbar zu sein? Die Antwort ist offensichtlich bestimmt, einerseits durch die relativen Mengen Sterin, die im pflanzlichen bzw. im tierischen Fett enthalten sind, andererseits durch die kleinste Menge Cholesterin, die noch gerade neben Sitosterin nachzuweisen ist. Bei unsern Versuchen mit reinen Sterinen waren etwa 5 % Cholesterin noch nachweisbar.

Bei Gemischen von pflanzlichem und tierischem Fett von ungefähr gleichem Steringehalt wird man also erwarten, dass 5 % tierischen Fettes noch gefunden werden können. Bei unsern Versuchen mit Kokosfett und Talg (beide mit etwa 0,1 % Sterin) erwies sich diese Erwartung als richtig. In Gemischen bestehend aus Talg oder Tran als tierischen Fetten und Kokosfett, Palmkernfett und Palmöl (letzteres mit 0,03 % Sterin), wurde in jedem Fall 5 % oder weniger tierisches Fett deutlich erkannt. Dieses Resultat war mit der klassischen Phytosterinacetatprobe nur schwierig und in manchen Fällen gar nicht zu erreichen.

Wird ein pflanzliches Fett mit hohem Steringehalt, z.B. Saffloröl, mit 0,27 %, oder Maisöl mit sogar 1,0 % Sterin, mit wenig Talg oder Tran gemischt, dann wird dies chromatographisch schwierig festzustellen sein. Nur höhere Prozentsätze tierischen Fettes sind in solchen Fällen chromatographisch nachzuweisen. Wenn die Art des hauptsächlich vorliegenden pflanzlichen Fettes bekannt ist, ist es möglich, in der Literatur Angaben über den Phytosteringehalt des Fettes zu finden (*Den Herder*, 1955; *Hadorn & Jungkuntz*, 1954; *Lange*, 1950).

In diesen Fällen wird ein Nachweis kleiner Mengen tierischen Fettes auf anderem Wege gesucht werden müssen, z.B. durch Farbreaktionen auf einzelne Fette und durch Analyse mittelst Kennzahlen.

Es ist ein glücklicher Zufall, dass die für die Speisefettindustrie überaus wichtigen Fette, wie Kokosfett, Palmkernfett und Palmöl, verhältnismässig niedrige Phytosteringehalte aufweisen. Diese Fette werden z.B. verwendet in «ghee-substitute», welches Produkt ein wichtiger Exportartikel für den Orient ist. Es ist unter Umständen nötig, festzustellen, ob in diesen Fetten tierisches Fett verarbeitet ist. Im hiesigen Institut hat das Verfahren für den Nachweis tierischer Fette in «ghee-substitutes» bereits wertvolle Dienste geleistet.

Zusammenfassung

1. Die papierchromatographische Trennung der Sterine aus Tier- und Pflanzenfetten nach *Sulser* und *Högl* wurde verglichen mit den hier beschriebenen Methoden von *Zimmermann* und *Bräse*, sowie *Neher* und *Wettstein*; letzere zeigten sich bedeutend weniger effektiv.
2. Die Verwendung von Phosphormolybdänsäure als Sprühmittel hat nach unsern Versuchen Vorteile gegenüber der Verwendung von Antimontrichlorid.
3. Es ist möglich, Stigmasterin neben anderen Phytosterinen nachzuweisen, indem die Bromide der Acetate chromatographiert werden.
4. Es wird auf die Frage eingegangen, wieviel Prozent tierischen Fettes neben pflanzlichem Fett nachgewiesen werden können.

Résumé

1. On a comparé la séparation chromatographique des stérines des graisses animales et végétales selon *Sulser* et *Högl* avec celle donnée par les méthodes des *Zimmermann* et *Bräse* et de *Neher* et *Wettstein* et constaté que ces dernières sont moins efficaces.
2. Les essais effectués ont montré que l'emploi d'acide phosphomolybdique comme révélateur est plus avantageux que celui du trichlorure d'antimoine.
3. Il est possible de déceler la stigmastérine, à côté des autres phytostérines, si l'on chromatographie les bromures des acétates.
4. On examine quel est le pourcentage de graisse animale qui peut être décelé en présence de graisse végétale.

Summary

1. The chromatographic separation of sterols from vegetable and animal fats according to *Sulser* and *Högl* has been compared with the earlier methods of *Zimmermann* and *Bräse*, and *Neher* and *Wettstein*; the latter proved to be much less effective.
2. According to our experiments phosphomolybdic as a spraying agent is to be preferred over antimony trichloride.
3. Stigmasterol can be detected in mixtures with other sterols by paper chromatography of sterolacetate-bromides.
4. The question is discussed of how many percent animal fat can be detected in vegetable fat.

Literatur

- Cannon, J. H.*, J. Ass. Official Agr. Chemists, **39**, 359 (1956),
Den Herder, P. C., VIII Congrès International des Industries Agricoles, Bruxelles, 1950, IV, 68-79.
Den Herder, P. C., Netherlands Milk – and Dairy Journal, **9**, 261 (1955).
Elseviers Encyclopedia of Organic Chemistry, Bd. XIV, S. 88 (1946); Bd. XIV, Supplement, S. 1785-1786 (1954).
Heilbron, I. & Bunbury, H. M., Dictionary of Organic Compounds, « γ -Sitosterol», Bd. 4, S. 362 (1953).
Hadorn, H. & Jungkunz, R., diese Mitt. **45**, 389 (1954).
Hadorn, H. & Jungkunz, R., diese Mitt. **45**, 397 (1954).
Kodicek, E. & Ashby, D. R., Proceeding of the Biochemical Journal, **57**, XIII (1954).
Lange, W., J. Am. Oil Chemists' Society, **27**, 414 (1950).
Neher, R. & Wettstein, A., Helvetica Chimica Acta, **35**, 276 (1952).
Sandqvist, H. & Bengtsson, E., Berichte, **64**, 2169 (1931).
Sulser, H., diese Mitt. **48**, 117 (1957).
Sulser, H. & Högl, O., diese Mitt. **48**, 245 (1957).
Windaus, A. & Hauth, A., Berichte, **39**, 4378 (1906).
Zimmermann, G. & Bräse, G., Die Pharmazie, **11**, 715 (1956).