Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 63 (1972)

Heft: 4

Artikel: Gaschromatographische Bestimmung von -Tocopherol in Getreide und Grünmehlen

Autor: Uebersax, P. / Hüni, K. / Bovay, E.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982804

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: 09.07.2025

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

19. *Müller-Mulot W.:* Z. Anal. Chem. **226** 272—279 (1967).
20. *Uebersax P.:* Mitt. Lebensmitteluntersuchung und Hygiene **61** 254—259 (1970).
21. *Müller-Mulot W.:* Z. Anal. Chem. **239** 378—387 (1968).
22. *Emerie A., Engel C.:* Receuil Trav. chim. Pays Bas **57** 1351 (1938).
23. *Isler O.:* Helv. Chim. Acta **21** 1746 (1938).
24. *Pillsbury H. C.* et al.: JAOAC **50** 809 (1967).
25. *Ames S. R.:* JAOAC **54** 1—12 (1971).
26. *Blattna J., Manouskova J.:* Nahrung **13** 119–121 (1969).
27. *Sheppard A. J., Hubbard W. D., Prosser A. R.:* JAOAC **52** 442—448 (1969).
28. *Mordret F.:* Revue Française des Corps Gras (10) 639—652 (1969).
29. *Nair P. P., Luna Z.:* J. Arch. Biophys. **127** 413—418 (1968).
30. Rundschreiben des Institutes für angewandte Botanik der Universität Hamburg an die Mitglieder der I. A. G. vom 1. Juni 1971.
31. *Strohecker R., Henning H. M.:* Vitamin-Bestimmungen Weinheim (1963).
32. *Slover H. T.:* Lipids **6** 291—296 (1971).

Gaschromatographische Bestimmung von α-Tocopherol in Getreide und Grünmehlen

P. Uebersax und *K. Hüni*
Eidg. Forschungsanstalt für Agrikulturchemie Liebefeld-Bern
(Direktor: *E. Bovay)*

1. Einleitung

Im Zusammenhang mit Untersuchungen über fütterungsbedingte Ursachen für das gehäufte Auftreten von Fruchtbarkeitsstörungen beim Rindvieh mußte eine einfache und spezifische Methode für die Bestimmung des natürlichen α-Tocopherols gefunden werden. Die üblichen kolorimetrischen Methoden eignen sich für Serienbestimmungen schlecht, da die Emerie-Engel-Reaktion sehr unspezifisch ist. Daher werden aufwendige Reinigungsoperationen der Analysenlösung, oft unter Schutzgas, notwendig.

Es erschien uns richtig, nur den Gehalt des physiologisch weitaus wichtigsten Tocopherols zu bestimmen, d. h. zur Qualitätsbeurteilung hinsichtlich Vitamin-E-Gehalt nur das α-Tocopherol zu berücksichtigen. *Adams* (1) gibt die biologische Aktivität des γ-Tocopherols zu 1 % derjenigen des α-Tocopherols an. Eine Angabe des Gehaltes an «Gesamt-Tocopherolen» wäre in dieser Hinsicht z. B. für *Sesam* völlig unrealistisch, da *Honnold* (2) 22,7 mg γ-Tocopherol/100 g und überhaupt kein α-Tocopherol gefunden hat. *Green* (3) bestimmte z. B. im Mais 89 % als γ- und nur 11 % als α-Tocopherol.

2. Prinzip der Methode

Kaltextraktion des Untersuchungsmaterials. Vom Extrakt wird ein aliquoter Teil an Aluminiumoxid unter Zusatz von Apocarotinal, das sich auf der Säule wie

α-Tocopherol verhält chromatographiert (4). Ein Konzentrat des α-Tocopherol enthaltenden Eluates wird eingespritzt.

2.1. Reagentien, Material

— n-Hexan-Aceton Ph. H. V. 7 : 3
— Petrolaether (40—60 ° C) Ph. H. V.
— 8 % v/v Aether in Petrolaether
— Aluminiumoxid. Aktivität II—III. 2 Stunden bei 700 ° C geglüht und 90 g mit 10 ml H_2O desaktiviert.
— α-Tocopherol (Fluka)
— γ-Tocopherol (Roche)
— Cholesterin (Fluka)
— β-Apo-8'-carotinal (Roche). 5 mg werden in 0,5 ml Chloroform gelöst und mit Petrolaether auf 50 ml aufgefüllt. Im Kühlschrank aufbewahren.
— Chromatographierohr mit Glasfritte und Hahn. Länge 200 mm, Innendurchmesser 12 mm, Einfüllhöhe 80 mm.
— alkalische Kaliumpermanganat-Lösung:
100 ml kalt gesättigte $KMnO_4$, dazu 20 ml 10 % NaOH.

3. Herstellen der einzuspritzenden Lösung

10 bis 20 g Grasmehl, Heumehl, gemahlenes Getreide, Mischfutter usw. werden mit 100 bis 200 ml n-Hexan-Acetongemisch während mindestens 15 Minuten auf der Maschine geschüttelt. Nach der Sedimentation (Cerealien müssen eventuell zentrifugiert werden, um ein Verstopfen der Chromatographiersäule zu verhindern) wird ein möglichst großes Volumen herauspipettiert und am Rotationsverdampfer bei max. 60 ° C auf ca. 10 ml konzentriert. Das Konzentrat wird mit möglichst wenig Petrolaether unter Zusatz von 2 ml Apocarotinallösung quantitativ auf die kurz vorher mit Petrolaether gespülte Säule gebracht. Mit Portionen von jeweils 5 ml Petrolaether wird eluiert, bis die Carotinfraktion vollständig eluiert ist. Das Auffanggefäß wechseln und einen 200 ml Schliffrundkolben hinstellen. Mit 8 % Aether in Petrolaether eluieren, bis das Apocarotinal vollständig zusammen mit dem α-Tocopherol eluiert ist. Dieses Eluat wieder am Rotationsverdampfer konzentrieren, quantitativ in einen Meßkolben (10 oder 20 ml) spülen und mit Petrolaether auffüllen = einzuspritzende Lösung. Es wird bei diffusem Tages- oder Kunstlicht gearbeitet. Selbstverständlich soll der Analysengang möglichst rasch ausgeführt werden. Gefäße mit Tocopherol enthaltenden Lösungen sind immer zu verschließen und in die Dunkelheit zu stellen.

4. Standardlösungen

1000 mg dl-α-Tocopherol, γ-Tocopherol in Petrolaether lösen und auf 100 ml auffüllen. Davon 1, 2, 4, 8 ml auf 100 ml verdünnen, entsprechend 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 mg/ml. In den Meßkolben bei Raumtemperatur und im Dunkeln aufbewahrt, sind die Standardlösungen mindestens 6 Monate haltbar. Die Konzentrationen in

mg/ml gegen die Peakhöhen aufgetragen ergeben für den bearbeiteten Bereich eine Gerade.

5. Apparatedaten

Gaschromatograph:	Perkin-Elmer, Model 881
Säulen:	2 m Glassäulen 3 % SE 30 oder OV-1 auf Chromosorb
Säulentemperatur:	280 ° C—290 ° C isotherm
FID:	300 ° Luft/Wasserstoff
Einspritzblock:	300 ° C
Trägergas:	N_2, 30 ml/Minute
Papiervorschub:	240 mm/Minute

6. Prüfung der Methode

6.1. Vollständigkeit der Extraktion

Durch Wiederholen der Extraktion wurde deren Vollständigkeit überprüft. Ergebnis: bei Gehalten von über 130 mg α-Tocopherol/kg erscheinen bei der zweiten Extraktion noch 2 %; das γ-Tocopherol wurde bei der ersten Extraktion bei allen untersuchten Produkten vollständig extrahiert. Bei Gehalten unter 130 mg/kg ist die erste Extraktion vollständig.

6.2. Ausbeute

Nach Zusatz von Tocopherol wurde zwischen 88,8 % und 106,8% wiedergefunden (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1

Produkt	mg α-Tocopherol/kg ohne Zusatz	Nach Zusatz von 100 mg/kg	% wiedergefunden
Erbsengrünmehl	117	200	92,1
Luzernemehl I	124	199	88,8
Luzernemehl II	120	211	95,9
Kleemehl I	153	223	88,1
Kleemehl II	116	199	92,1
Rotklee I	149	266	106,8
Rotklee II	158	263	101,9
Grasmehl I	109	211	100,9
Grasmehl II	139	248	103,7
Heumehl I	91	181	94,7
Heumehl II	56	140	89,7

Mittelwert = 95,8 %. Korrekterweise muß natürlich dieser Wert bei der Berechnung berücksichtigt werden.

6.3. Suchen der verlorenen 4 %

Da nicht unter Schutzgas gearbeitet wurde, erschien uns die Oxidation durch Luftsauerstoff die wichtigste Verlustmöglichkeit für das Tocopherol. Parallele Analysengänge mit und ohne Zusätze von Pyrogallol bzw. Na- Ascorbat als Sauerstoffacceptoren zeigten aber, daß im Mittel nicht über 96 % des zugesetzten Tocopherols gefunden werden. Weiter konnte gaschromatographisch leicht abgeklärt werden, daß beim Eluieren des Carotins kein α-Tocopherol mitgeht und daß die Elution der Apocarotinalzone zusammen mit dem α-Tocopherol vollständig ist. Es muß daher angenommen werden, daß der Verlust am Aluminiumoxid eintritt, eventuell in Abhängigkeit der Verweilzeit des zu chromatographierenden Gemisches auf der Säule.

6.4. Verhalten von Apocarotinal

Das sich säulenchromatographisch gleich wie α-Tocopherol verhaltende Apocarotinal erscheint im Gaschromatogramm nicht mehr.

7. Identifikation des Peaks

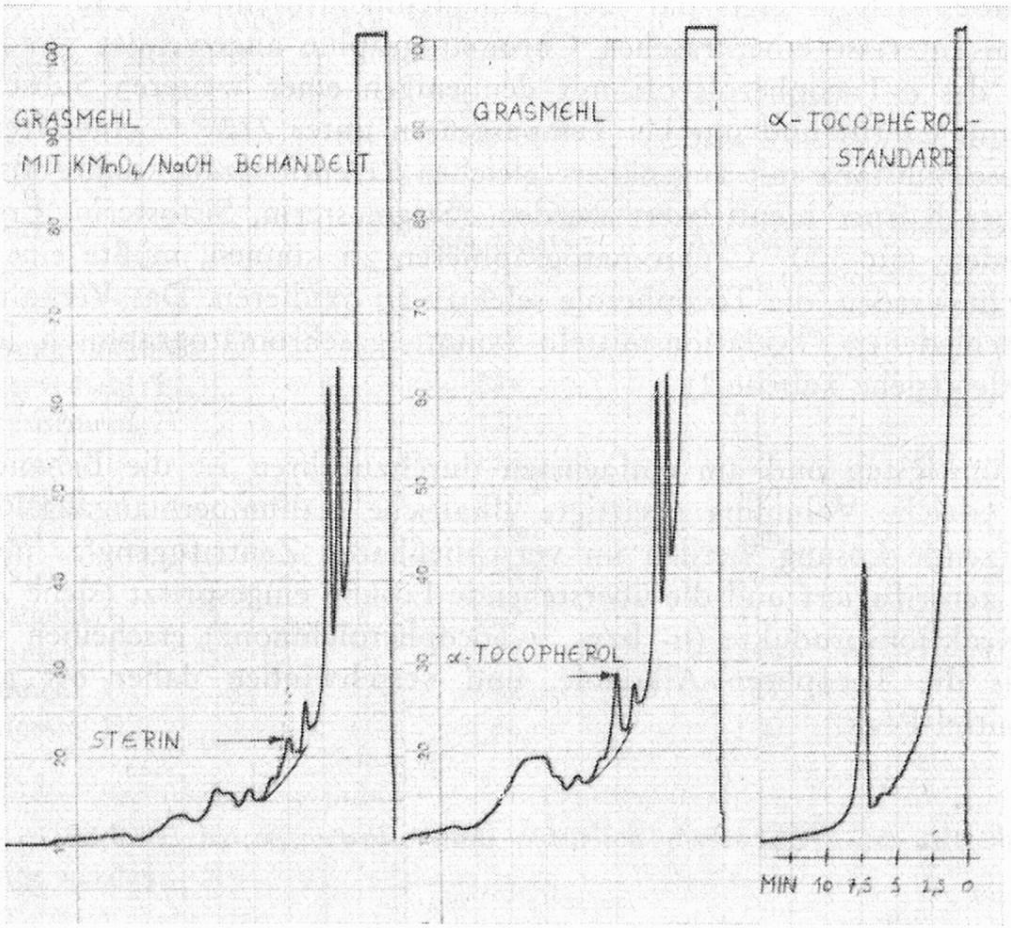
Durch stufenweises Herabsetzen der Säulentemperatur wurde die Gesamtretentionszeit auf ca. 20 Minuten verlängert und mit den Standards verglichen. Dabei hat es sich gezeigt, daß bei Säulentemperaturen von 280 ° C—300 ° C, wie sie im Interesse einer raschen Chromatographie angewendet werden sollen, der Peak des α-Tocopherols oft mit demjenigen einer weiteren Substanz praktisch zusammenfällt und nur bei Temperaturen unter 270 ° C eine Trennung erfolgt. Diese Substanz mit angenähert gleicher Retentionszeit konnte als cholesterinähnlicher Körper identifiziert werden. (Stigmasterin, Sistosterin, Ergosterin?). Um trotzdem mit 300 ° C chromatographieren zu können, mußte eine Möglichkeit gesucht werden, die Tocopherole selektiv zu oxidieren. Das Verhalten gegenüber verschiedenen Oxidationsmitteln konnte gaschromatographisch leicht verfolgt werden (siehe Tabelle 2).

Am günstigsten und am einfachsten durchzuführen ist die Behandlung mit $KMnO_4$: Gleiche Volumina gesättigte alkalische Kaliumpermanganatlösung und einzuspritzende Lösung werden im verschließbaren Zentrifugenglas intensiv geschüttelt, zentrifugiert und die überstehende Lösung eingespritzt (siehe Abbildung 1). Die Reaktionsprodukte (α- bzw. γ-Tocopherolchinon?) erscheinen wesentlich früher als die Tocopherol-Alkohole, und verschwinden daher oft im breiten Lösungsmittel-Peak.

Tabelle 2 Verhalten gegenüber verschiedenen Oxidationsmitteln

Oxidations-mittel	Operation	α-Tocopherol	γ-Tocopherol	Tocopherol-Acetat	Sterin
Chloramin ges.	kalt schütteln	bleibt	40 % Abnahme unter Rotfärbung	bleibt	bleibt
Chloramin ges.	15 Min. Rückfluß	vollständig weg	vollständig weg	kleine Abnahme	bleibt
$FeCl_3$ 10 %	kalt schütteln	bleibt	bleibt	bleibt	bleibt
$FeCl_3$ 10 %	15 Min. Rückfluß	80 % Abnahme	kleine Abnahme	bleibt	bleibt
H_2O_2 3 %	kalt schütteln	kleine Abnahme	kleine Abnahme	bleibt	bleibt
KMnO4 ges. alk.	kalt schütteln	vollständig weg	vollständig weg	bleibt	bleibt

Abbildung 1



8. Variante zur Bestimmung von α- und γ-Tocopherol

Normale Extraktion wie im Abschnitt 3. Ein aliquoter Teil der Lösung wird blank filtriert oder zentrifugiert und auf 10 ml konzentriert. Diese Lösung wird direkt eingespritzt. Dieses Verfahren hat einige Nachteile: Da mehr Peaks erscheinen, ist die sichere Identifikation schwieriger. Es muß daher mit tieferer Temperatur, d. h. mit ca. 260 ° C chromatographiert werden, dabei erhöht sich aber die Gesamtretentionszeit auf über 10 Minuten. Zudem muß sicherheitshalber ein Teil der einzuspritzenden Lösung gemäß Abschnitt 7. mit Permanganatlösung behandelt und ein weiteres Chromatogramm aufgenommen werden.

9. Ergebnisse

Produkt		mg α-Tocopherol/kg	mg γ-Tocopherol/kg
Grasmehl I	Ernte 1971	136	—
Grasmehl II	Ernte 1971	110	—
Grasmehl III	Ernte 1971	147	—
Grasmehl IV	Ernte 1971	109	—
Grasmehl V	Ernte 1971	186	—
Grasmehl VI	Ernte 1971	213	—
Kleemehl I	Ernte 1971	200	—
Kleemehl II	Ernte 1971	123	—
Luzernemehl I	Ernte 1971	148	—
Luzernemehl II	Ernte 1971	124	—
Mais I	Ernte 1971	19	32
Mais II	Ernte 1971	20	41
Gerste I	Ernte 1971	4	—
Gerste II	Ernte 1971	4	—
Hafer	Ernte 1970	3	—
Erdnuß		6	—
Sorghum		17	Spur
Weizen	Ernte 1971	15	—
Roggen	Ernte 1971	18	—
Legehennenfutter		26	Spur

Die Resultate beziehen sich auf lufttrockene Substanz. Getreide mit max. 15 % Wasser. Trockengrünmehle mit ca. 10 %.

Fräulein *R. Bühler* sei für ihre Mitarbeit gedankt.

Zusammenfassung

Es wird eine Methode zur gaschromatographischen Bestimmung von natürlichem α- und γ-Tocopherol beschrieben. Nach der Extraktion des Pflanzenmaterials mit n-Hexan-

Aceton 7 : 3 wird ein Konzentrat des Extraktes unter Zugabe von Apocarotinal an Aluimniumoxid chromatographiert. Mit 8 % Aether in Petrolaether wird das α-Tocopherol zusammen mit der Leitsubstanz und Sterinen eluiert und ein Konzentrat des Eluates eingespritzt. Zur sicheren Identifikation der Peaks können Tocopherole selektiv mit alkalischer $KMnO_4$-Lösung oxidiert werden.

Résumé

Dosage de l'α-tocophérol (vitamine E naturelle) dans les céréales et les farines d'herbes séchées par chromatographie en phase gazeuse.

Une méthode de dosage de la vitamine E (α- et γ-tocophérols) a été mise au point. Après extraction du matériel végétal au moyen d'un mélange de n-hexane-acétone 7 : 3, la solution est concentrée et purifiée par passage sur une colonne d'oxide d'alumine, après adjonction de β-Apo-8'-caroténal. L'α-tocophérol, des stérines et l'apocaroténal sont ensuite élués au moyen d'un mélange à 8 % d'éther dans l'éther de pétrole. La solution est ensuite concentrée, puis injectée dans le chromatographe. Pour une identification certaine des pics, il est possible d'oxyder sélectivement les tocophérols avec une solution alcaline de KMnO4.

Summary

Quantitative determination of α-tocopherol (Vitamin E) in cereals and grassmeals by GLC.

A method is given for the determination of natural occuring α- and γ-tocopherols. The material is extracted with n-Hexan-Acetone 7 : 3 and a concentrate of the extract is chromatographied under addition of β-Apo-8'-carotenal on Alox. With 8 % ether in ligroin α-tocopherol and sterins are eluated and a concentrate of the eluate is injected into the GC. For a sure identification of the peaks it is possible to oxidize selectivly the tocopherols with alcaline $KMnO_4$.

Literatur

1. *Adams C. R.:* Feedstuffs 56, Juli 1970.
2. *Honnold D.* et al.: JAOCS **46** 420 (1969).
3. *Green J.* et al.: J. Sci. Food Agric. **6** 279 (1955).
4. Nach einem Vorschlag der Internat. Analytical Group vom 26. Mai 1971.