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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 60 (1969)

Heft: 3

Artikel: Untersuchungen über den Vitamin-A- und ß-Carotin-Gehalt von Milch und Butter unter Berücksichtigung schweizerischer Verhältnisse

Autor: Fäßler, Ch.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982484

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: 13.12.2025

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

Summary

The application of the halogen-phosphorous detector by Perkin-Elmer for gaschromatographic determination of organic thiophosphorous esters is reported.

The results a study on analyses of insecticide-residues in cherries are given.

Literatur

Anliker R., Beringer E., Geiger M. und *Schmid K.:* Helv. Chim. Acta **44**, 1622 (1961).
Bäumler J. und *Rippstein S.:* Helv. chim. Acta **44**, 1162 (1961).
Eichenberger J. und *L. Gay:* Diese Mitt. **51**, 423 (1960).
Eichenberger J.: Diese Mitt. **48**, 396 (1957).
Engst R. und *Kubel D.:* Z. f. Lebensm. Unters. u. Forsch. **131**, 149 (1966).
Jentsch D., Zimmermann G. M. und *Wehling I.: Z. f.* Anal. Chem. **221**, 377 (1966).

Untersuchungen über den Vitamin-A- und β-Carotin-Gehalt von Milch und Butter unter Berücksichtigung schweizerischer Verhältnisse

Ch. Fäßler
Abteilung für Vitamin- und Ernährungsforschung der
F. Hoffmann-La Roche & Co. Aktiengesellschaft,
Basel (Schweiz)

Einleitung

Seit Menschengedenken ist die Milch eines der Hauptnahrungsmittel. Ihr außergewöhnlicher Nährwert wurde durch wissenschaftliche Forschungsergebnisse schon frühzeitig erkannt. Neben den wichtigsten Nährstoffen wie Fett, Kohlenhydraten, Eiweiß und Nährsalze gehören auch die Vitamine zu den regelmäßigen Bestandteilen der Milch. Die Milch ist somit als gut ausbalancierte Quelle der notwendigen Nährstoffe in der menschlichen Ernährung zu betrachten. Die Kuhmilch enthält das Vitamin A und von den Carotinen überwiegend das β-Carotin im Milchfett gelöst.

Die Art und Zusammensetzung des Futters können die Qualität, den Geruch und Geschmack der Milch und Butter wesentlich beeinflussen (1). Der Vitamin-A-Gehalt der Milch und die natürliche Pigmentierung der Butter wird durch die

mit dem Futter zugeführte Menge Carotin (Provitamin A) bestimmt. Diesbezügliche Befunde wurden von verschiedenen Autoren mitgeteilt (2—8).

Die natürliche Quelle für die Vitamin-A-Versorgung unserer landwirtschaftlichen Nutztiere ist weitgehend vom Jahreszeitenwechsel und von der Art der Fütterung (Weidgang, Stallfütterung), der Qualität des Futters (frischer Grasschnitt, Feldtrocknung [Heu], künstliche Trocknung, Silage, Futterkonserven) und nicht zuletzt von der Lagerungsart abhängig (9, 10). Es wurde früher schon festgestellt, daß unter normalen Lagerbedingungen der Verlust an Carotinen innerhalb von 3 Monaten 40—70 % beträgt (11).

Der unterschiedliche Vitamin-A- und β-Carotin-Gehalt in der Sommer- und Winter-Milch ist, vor allem in den mitteleuropäischen Ländern, auf die natürliche Zusammensetzung des Futters der betreffenden Jahreszeiten zurückzuführen. Während für einige Länder entsprechende Untersuchungen vorliegen (4, 12, 13, 14, 15), fehlen diesbezügliche Angaben noch für die in der Schweiz erzeugte Milch.

Problemstellung

Das Schweiz. Lebensmittelbuch, V. Auflage, I. Teil, 1964, gibt den Gehalt der Kuhmilch global mit 1400 IEA/kg Milch an, wobei die Vitamin-A-Aktivität des β-Carotins mit in Rechnung gesetzt wurde.

Die vorliegenden Untersuchungen sollen zeigen, wie sich die jahreszeitlichbedingten Schwankungen des Klimas auf den Vitamin-A- und β-Carotingehalt der Milch und der Butter in der Schweiz auswirken. Die Kenntnis solcher Zahlenwerte erlauben zuverlässige Aussagen über die Vitaminversorgung der Bevölkerung zu machen.

Versuchsplanung und Analytik

Um festzustellen, inwieweit die im Lebensmittelbuch angegebenen Werte in der Praxis verwendbar sind, haben wir während eines Jahres zweimal monatlich Proben von Vollmilch und Vorzugstafelbutter direkt aus einigen Molkereizentralen bezogen und daraus die Vitamin-A-Gehalte bestimmt. Die Untersuchungen umfaßten für das Jahr 1965 die Einzugsgebiete von Basel (Kanton Basel-Stadt, Basel-Land, Solothurn, Aargau, Bern, und teilweise St. Gallen), Luzern (Luzern, Obwalden, Nidwalden, Uri) und Chur (Kanton Graubünden). Die erhaltenen Milch- und Butterproben wurden am darauffolgenden Tag jeweils zwei Analysen unterworfen. Bei den Proben aus Basel und Luzern handelt es sich um pasteurisierte Milch, bei denjenigen aus Chur um Frischmilch.

In den Tabellen 1 und 2 sind die Werte für den Gehalt an Vitamin A und β-Carotin im Liter Vollmilch und im kg Butter zusammengestellt. Es handelt sich dabei um Mittelwerte aus je drei Analysenergebnissen. In den Abbildungen 1 und 2 sind die im Verlauf eines Jahres erhaltenen Mittelwerte der 3 Einzugsgebiete (Basel, Luzern und Chur) dargestellt. Die tiefsten Werte für Vitamin-A- und β-Carotin wurden in den Monaten Februar bis April und die höchsten Werte in den Monaten März bis November gefunden, wobei lokal relativ kleine Schwankungen festzustellen sind.

Die praktische Durchführung der Vitamin-A- und β-Carotin-Bestimmungen nach den bekannten Methoden (16—27) ist für die Untersuchung von Milch und Milchprodukten of schwierig und für Serienuntersuchungen nicht geeignet.

Das spektrophotometrische Bestimmungsverfahren von Vitamin A im UV-Licht bei 325—327 nm für fetthaltiges Untersuchungsmaterial ist oft von geringerer Spezifität als der kolorimetrische, da die fettlöslichen Begleitstoffe nicht immer quantitativ abgetrennt werden können und im UV-Licht eine stärkere Absorption aufweisen als im sichtbaren Licht (16). Das kolorimetrische Bestimmungsverfahren nach Carr-Price ist gegen störende Begleitstoffe weniger empfindlich, schließt aber eine Hemmung der Antimontrichlorid-Reaktion durch gewisse Fettstoffe nicht aus. Nach früheren Arbeitsvorschriften wird das fetthaltige Analysenmaterial direkt, bei Milch und Milchprodukten erst nach der Fettextraktion nach *Röse* und *Gottlieb* (28) und nach Zugabe von Hydrochinon als Stabilisator auf dem Wasserbad bei 80 ° C in offener Schale verseift (17). Die wasserlöslichen Seifen werden an Aluminiumoxyd als Adsorptionsmittel abgetrennt. Aus dem pulverförmigen Adsorbat wird das Vitamin A mit Aethyläther extrahiert, das Extrakt eingedampft und der Rückstand in Chloroform aufgenommen. Vor dem eigentlichen Meßvorgang wird das vorhandene β-Carotin chromatographisch abgetrennt (16, 24).

Um die nach diesem Verfahren noch bestehenden Störsubstanzen abzutrennen und die dabei auftretenden Rückstände von Vitamin A zu reduzieren, wird die zur Analyse eingewogene Fettmenge in einer Mischung von Aether/Hexan gelöst und anschließend über Aluminiumoxyd filtriert. Bei Verwendung von p-Aminophenol, anstelle von Hydrochinon, als Stabilisator werden Verluste bei der Verseifung auf ein Minimum reduziert. Die Verwendung von Maisstärke als Adsorbens wird nicht beeinflußt von kleineren Qualitätsunterschieden und liefert deshalb besser reproduzierbare Werte als Aluminiumoxid.

Die Analysenverfahren sind nachfolgend ausführlich beschrieben und haben sich bei den Milch- und Butteruntersuchungen sehr gut bewährt.

Arbeitsvorschriften

1. *Reagentien*

Ammoniak, 25%ige wäßrige Lösung.

Aethylalkohol abs., rein.

Natriumsulfat, wasserfrei.

Alkoholische Natronlauge, 3%ig. 10 ml 30%ige wäßrige Natronlauge werden mit 90 ml Alkohol abs. und unmittelbar vor der Analyse mit 200 mg p-Aminophenol versetzt.

Aether, Aethyläther, rein, peroxydfrei. Prüfung auf Peroxyde: 5 ml Aether + 2 ml Vanadinsulfat gut schütteln (0,1 g Ammoniumvanadat, purr. 75 %

(V_2O_5) lösen in 2 ml H_2SO_4 konz. und mit H_2O auf 50 ml verdünnen), Braun- bis Rotbraunfärbung des Reagens zeigt die Anwesenheit von Peroxyden an.

Hexan, Siedepunkt: 60—90 ° C, rein, destilliert.

Kalilauge, 50%ige wäßrige Lösung.

Maisstärke, rein. Maisstärke wird vor Gebrauch in einen Exikkator gegeben, der maximal zweimal evakuiert und anschließend mit Stickstoff begast wird.

Aluminiumoxyd, CAMAG, Typ 507-C, neutral I.

Aluminiumoxyd, CAMAG, Typ 700-M, basisch, Akt. II, Brockmann.

Aluminiumoxyd, desaktiviert. 100 g Al_2O_3, Typ 700-M, werden in einem Erlenmeyerkolben mit Schliffstopfen abgewogen und mit einer entsprechenden Menge dest. Wasser versetzt. Die Flasche wir gut verschlossen und so lange geschüttelt, bis alle Knollen zerfallen sind. Die Flasche läßt man 1 Stunde vor Gebrauch bei Raumtemperatur stehen.

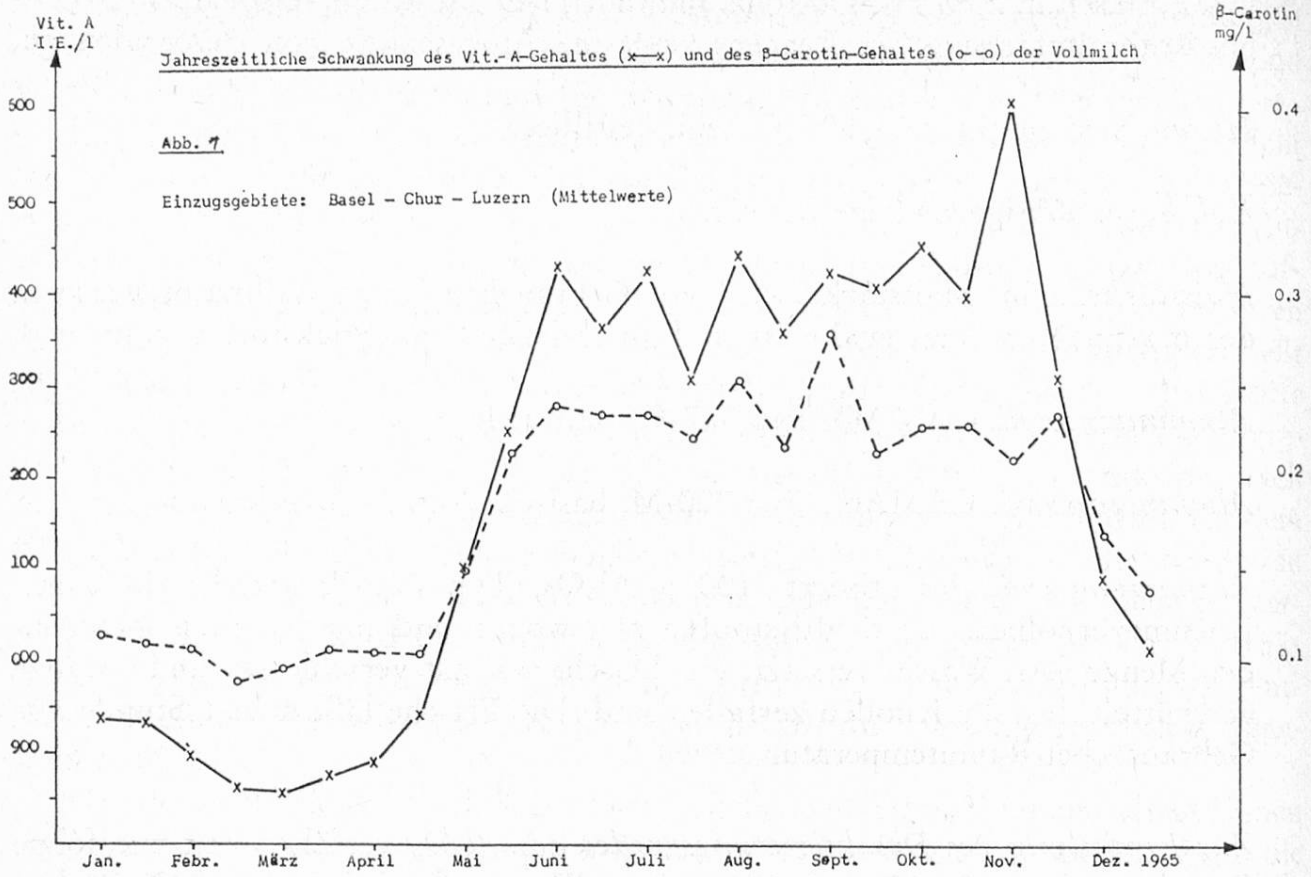
Zur Ermittlung des Desaktivierungsgrades des Al_2O_3 verfährt man wie folgt: Einzelne mit 6, 8, 10 und 12 % dest. Wasser desaktivierte Al_2O_3-Proben werden in Chromatographiesäulen gegeben. Nach Befeuchten der Säulen wird 1 ml Vitamin-A-Alkohollösung (Vitamin-A-Alkohol krist., in Hexan gelöst, enthält 50—100 IEA/ml) zugefügt. Nun werden mit 40 ml Hexan der Vorlauf, mit 60 ml Eluiergemisch der Vitamin-A-Alkohol und mit weiteren 60 ml Eluiergemisch der Nachlauf je in einen Kolben eluiert. Die 3 Eluate werden separat eingedampft, mit 2 ml Chloroform aufgenommen und direkt mit Carr-Price-Reagens geprüft.

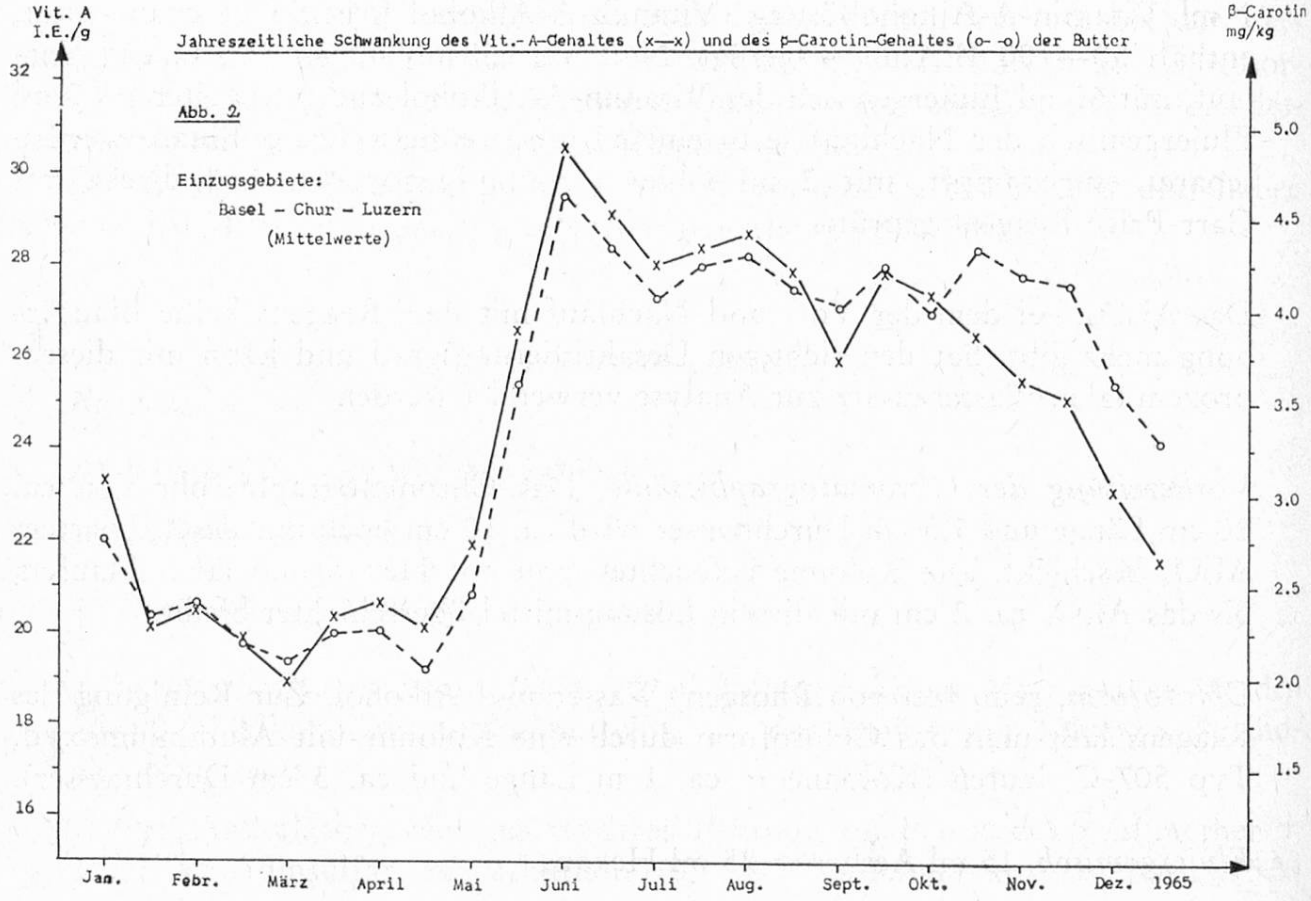
Das Al_2O_3, bei dem der Vor- und Nachlauf mit dem Reagens keine Blaufärbung mehr gibt, hat den richtigen Desaktivierungsgrad und kann mit diesem prozentualen Wasserzusatz zur Analyse verwendet werden.

Vorbereitung der Chromatographiesäule. Das Chromatographierohr von ca. 20 cm Länge und 1,5 cm Durchmesser wird ca. 10 cm hoch mit desaktiviertem Al_2O_3 beschickt. Die Kolonne befeuchtet man mit Hexan und läßt ablaufen, bis das Al_2O_3 ca. 2 cm mit diesem Lösungsmittel überschichtet bleibt.

Chloroform, rein, frei von Phosgen, Wasser und Alkohol. Zur Reinigung des Reagens läßt man das Chloroform durch eine Kolonne mit Aluminiumoxyd, Typ 507-C, laufen (Kolonne = ca. 1 m Länge und ca. 3 cm Durchmesser).

Eluiergemisch. 15 ml Aether + 85 ml Hexan.


Vit. A
I.E./l
β-Carotin
mg/l
Jahreszeitliche Schwankung des Vit.-A-Gehaltes (x—x) und des β-Carotin-Gehaltes (o- -o) der Vollmilch
Abb. 1
Einzugsgebiete: Basel - Chur - Luzern (Mittelwerte)
500
500
400
300
200
100
000
900
0.4
0.3
0.2
0.1
Jan.
Febr.
März
April
Mai
Juni
Juli
Aug.
Sept.
Okt.
Nov.
Dez. 1965


Vit. A
I.E./g
β-Carotin
mg/kg
Jahreszeitliche Schwankung des Vit.-A-Gehaltes (x—x) und des β-Carotin-Gehaltes (o- -o) der Butter
Abb. 2
Einzugsgebiete:
Basel - Chur - Luzern
(Mittelwerte)
32
30
28
26
24
22
20
18
16
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
Jan.
Febr.
März
April
Mai
Juni
Juli
Aug.
Sept.
Okt.
Nov.
Dez. 1965

Carr-Price-Reagens. 20 g reines, wenn möglich frisch destilliertes Antimontrichlorid werden geschmolzen und in 100 ml Chloroform versetzt und evtl. unter Rückfluß bis zur vollständigen Auflösung erwärmt. Nach dem Abkühlen wird das Reagens über hochaktiviertes, neutrales Al_2O_3 filtriert und in einer dunklen Glasflasche über Al_2O_3 aufbewahrt. Für den Gebrauch, nach 1—2 Tagen, wird gut durchgeschüttelt und durch drei Papierfilter filtriert.

Vitamin-A-Standardlösung. Ca. 100 mg Vitamin-A-Standard (USP Vitamin-A-Reference Solution, 100 000 IEA/g) werden in einen 100 ml-Meßkolben genau eingewogen, mit Chloroform gelöst und damit zur Marke gestellt. Von dieser Lösung werden 2,5 ml mit Chloroform auf 100 ml verdünnt (= Standardlösung, ca. 2,5 IEA/ml). Aus einer schnell auslaufenden Dosierbürette werden zu 2 ml Standardlösung 10 ml Carr-Price-Reagens zugesetzt, und die entstandene blaue Farbe wird innerhalb von 5 Sekunden bei 620 nm gemessen. Zur Ermittlung des Blindwertes wird eine Mischung von 10 ml Carr-Price-Reagens und 2 ml Chloroform verwendet.

(1 Internationale Einheit Vitamin A [IEA] = 0,3 µg Vitamin A [Vit.-A-Alkohol] = 0,6 µg β-Carotin).

2. *Apparate*

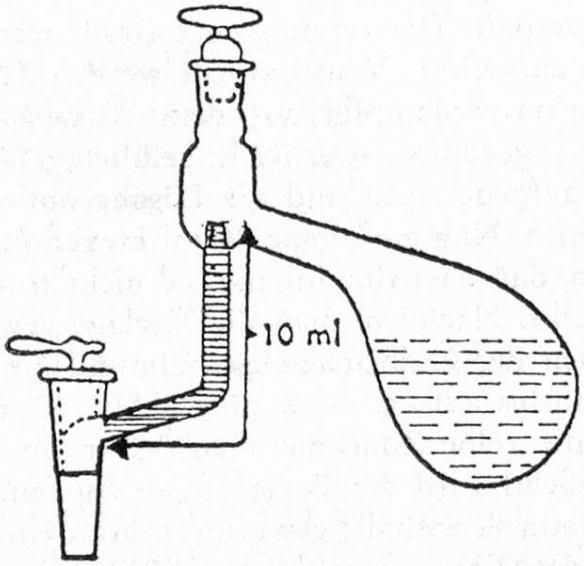
Spektralphotometer, Modell B (Beckmann).

Lumetron, Typ 401 A.

Dosierbürette

Rotationsverdampfer (Büchi).

Universal UV-Lampe, Typ TL 900 (Camag).



Dosierbürette für Antimontrichlorid-Reagens

3. *Bestimmung des Vitamin-A- und β-Carotins in Milch*

Prinzip. Das fettlösliche Vitamin-A- und β-Carotin wird nach der Methode *Röse* und *Gottlieb* (28) extrahiert und anschließend am Rückfluß verseift und an Aluminiumoxid chromatographiert. Das gelbgefärbte Voreluat wird für die β-Carotinbestimmung und das Haupteluat für die kolorimetrische Vitamin-A-Bestimmung nach Carr-Price verwendet.

a) *Arbeitsvorschrift zur Bestimmung des Vitamin A*

80 ml Vollmilch werden in einem 500 ml-Schüttelzylinder nach Zusatz von 20 ml 25%igem Ammoniak und 80 ml reinem abs. Aethanol gut durchgeschüttelt. Dreimal wird mit 160 ml Aether und 160 ml Hexan extrahiert. Die Extrakte werden jeweils in einen 1 Liter-Rundkolben abgesaugt, mit Natriumsulfat getrocknet und anschließend mit Hexan auf 1 Liter gestellt. Davon werden 800 ml portionenweise in einem 250 ml-Rundkolben vorsichtig im Rotationsverdampfer auf dem Wasserbad von ca. 80 ° C eingedampft. Der Rückstand wird mit 60 ml Aethanol aufgenommen und mit 20 ml 50%iger Kalilauge während einer halben Stunde am Rückfluß unter Stickstoff verseift. Nach dem Abkühlen wird die Seifenlösung mit wenig Wasser in einen 500 ml-Scheidetrichter gespült und dreimal mit je 100 ml Hexan extrahiert. Der vereinigte Hexanextrakt wird nun mit 100 ml dest. Wasser durch vorsichtiges Umschwenken gewaschen. Dieser Waschprozeß wird noch zweimal mit je 100 ml dest. Wasser wiederholt, wobei jedesmal etwas stärker geschüttelt wird. Nach dem letzten Waschen läßt man einige Minuten stehen (der Extrakt muß alkalifrei sein, sonst muß der Waschprozeß wiederholt werden) und trennt die wäßrige Phase quantitativ ab.

Die organische Phase wird unter Nachspülen des Scheidetrichters mit wenig Hexan in einen 500 ml-Erlenmeyerkolben abgelassen und mit ca. 25 g Natriumsulfat getrocknet. Anschließend wird die Lösung durch einen Wattebausch in einen 500 ml-Meßkolben filtriert. Mit wenig Hexan wird der Erlenmeyerkolben durch das Filter nachgespült. Die vereinigten Filtrate werden im Meßkolben mit Hexan bis zur Marke aufgefüllt. Vom Extrakt werden 200 ml in einem 250 ml-Rundkolben im Rotationsverdampfer auf dem Wasserbad bei ca. 80 ° C vorsichtig unter Vakuum eingedampft. Der leicht gelblich gefärbte Rückstand wird in ca. 5—10 ml Hexan aufgenommen und die Lösung auf die desaktivierte Chromatographiesäule gegeben. Nun gießt man 40 ml Hexan in die Kolonne und saugt im Vakuum so weit ab, daß das Aluminiumoxyd nicht trocken läuft und noch ca. 2 cm überschichtet bleibt. Nachdem man die Vorlage gewechselt hat und die ca. 5 ml Hexan, mit denen der Kolben nachgespült und auf die vorbereitete Säule gegeben hat, saugt man bis auf ca. 1—2 cm ab. Mit 40 ml Hexan wird die Kolonne voreluiert, bis die gelbe Zone mit dem β-Carotin aus der Kolonne fließt (Voreluat I). Anschließend wird die Vorlage zum Auffangen des zweiten Eluates (II), welches das Vitamin A enthält, gewechselt. Man eluiert mit 60 ml Gemisch (Aether/Hexan, 15+85). Dieses Eluat wird wie üblich im Vakuum bei ca. 50 ° C eingedampft. Der Rückstand wird nach dem Abkühlen in 5 ml Chloroform so

aufgenommen, daß 2 ml des davon zur Messung gelangenden Anteils ca. 15—20 IEA enthalten. 2 ml Chloroformlösung werden in eine Küvette (d = 1 cm) pipettiert, und aus einer schnell auslaufenden Dosierbürette läßt man 10 ml Carr-Price-Reagens hinzufließen. Man mißt die Extinktion der entstandenen Blaufärbung innerhalb von 5 Sekunden im Photometer (Lumetron 401 A) bei 620 nm.

Mit einer Mischung von 10 ml Carr-Price-Reagens und 2 ml Chloroform (Blindwert) wird das Photometer auf 100 % Durchlässigkeit eingestellt. Der Gehalt an Vitamin A wird anhand folgender Formel berechnet:

$$\frac{E_A \cdot D \cdot 3125 \cdot 100}{E_{St} \cdot B \cdot C} = \text{IEA/Liter Milch}$$

E_A = Extinktionsmittelwert der Analysenlösung bei 620 nm.
E_{St} = Extinktionsmittelwert der Vitamin-A-Standardlösung bei 620 nm.
B = Einwaage der Analysenprobe in ml (= 80).
C = Analysenlösung für Chromatographie in ml (= 200).
D = IEA pro ml Vitamin-A-Standardlösung.

b) Arbeitsvorschrift zur Bestimmung des β-Carotins

In dem erhaltenen gelbgefärbten Voreluat I wird das β-Carotin bestimmt, indem man das Eluat auf dem Wasserbad bei ca. 80 ° C eindampft, den Rückstand in 5 ml Hexan löst und die Extinktion der gefärbten Lösung im Spektralphotometer bei 452/454 nm ausmißt und den β-Carotingehalt als all-trans-β-Carotin mit Hilfe folgender Formel berechnet:

$$\frac{E_A \cdot D \cdot V \cdot 31{,}25}{E^{1\,\%}_{1\,cm}\,(452/4\ nm) \cdot B} = \text{mg β-Carotin/Liter Milch}$$

$E^{1\,\%}_{1\,cm}$ = 2500 bei 452/454 nm in Hexan.
E_A = Extinktionsmittelwert der Analysenlösung bei 452/454 nm.
D = 1000 mg β-Carotin in 100 ml Lösung.
V = Volumen der Meßlösung (= 5).
B = Einwaage der Analysenprobe in ml (= 80).

4. *Bestimmung des Vitamin-A- und β-Carotins in Butter*

Prinzip

Die Butter wird in einem Aether/Hexan-Gemisch gelöst, durch Aluminiumoxyd filtriert und anschließend in offener Petrischale unter Zusatz von p-Aminophenol als Stabilisator und Maisstärke als Adsorbens bei gleichzeitigem

Eindampfen mit alkoholischer Kalilauge verseift. Nach Extraktion des Unverseifbaren mit Aether aus dem Maisstärke-Adsorbat wird an Aluminiumoxyd chromatographiert. Im gelbgefärbten Voreluat wird das β-Carotin spektrometrisch und im Haupteluat des Eluiergemisches das Vitamin A nach Carr-Price bestimmt.

a) Arbeitsvorschrift zur Bestimmung des β-Carotins

2 g geschmolzene Butter werden in 5—10 ml Eluiergemisch gelöst. Zur Entfernung störender Stoffe filtriert man diese Lösung durch eine 5 cm hohe desaktivierte Aluminiumoxydsäule, welche vorerst mit dem Aether/Hexan-Gemisch (15+85) ausgewaschen wird (man achte darauf, daß die Säule, bevor man chromatographiert, nie trocken läuft). Nun wird die Lösung quantitativ auf die Säule gegossen und mit 75 ml Eluiergemisch nachgewaschen, bis das Filtrat farblos abläuft. Das Filtrat wird auf dem Wasserbad bei ca. 80 ° C im Rotationsverdamper eingedampft und der Rückstand quantitativ mit total 50 ml Aether in eine Petrischale (8 cm ⌀, Randhöhe 4—5 cm) gespült. Nach Zusatz von 15 ml alkoholischer Natronlauge 3 % und einigen Siedesteinchen stellt man die Schale in ein Wasserbad von 80 ° C, so daß sie auf dem Boden flach aufliegt und ca. 1—2 cm in das Wasser eintaucht. Man läßt die Seifenlösung eindampfen, gibt 4 g Stärke hinzu, verreibt die entstandenen Knollen gleichmäßig mit einem Spatel zu einem feinen Pulver und gibt das Stärkeadsorbat quantitativ in ein 40 ml-Zentrifugenglas mit Schliffstopfen. Nach Zusatz von 25 ml Aether wird 1 Minute lang kräftig geschüttelt und anschließend zentrifugiert. Der Aetherextrakt wird in einen 250 ml-Rundkolben dekantiert. Der verseifte Rückstand mit der sedimentierten Stärke wird noch viermal mit je 25 ml Aether aufgeschlämmt, gründlich ausgewaschen und zentrifugiert und die Aetherextrakte gesammelt.

Die vereinigten Aetherextrakte werden auf dem Wasserbad bei ca. 50 ° C im Rotationsverdampfer eingedampft. Der Rückstand wird in 10 ml Hexan aufgenommen. Die gelbgefärbte Lösung, welche den Vitamin-A-Alkohol und das β-Carotin enthält, wird nun an der desaktivierten Aluminiumoxydsäule chromatographiert. Zu diesem Zweck füllt man in Hexan aufgeschlämmtes desaktiviertes Aluminiumoxyd in ein Chromatographierohr (14 mm ⌀) auf 10 cm Höhe und läßt das Hexan ablaufen, bis das Al_2O_3 ca. 1—2 cm mit der Flüssigkeit überschichtet bleibt.

Auf diese vorbereitete Aluminiumoxydsäule gießt man vorsichtig die gelbgefärbte Lösung und spült mit weiteren 30 ml (2×15 ml) Hexan nach. Man eluiert mit ca. 30 ml Hexan, ohne die Säule je trockenlaufen zu lassen, bis das Eluat farblos in die Vorlage abfließt. Das so gewonnene Eluat [I] wird auf dem Wasserbad bei ca. 50 ° C im Vakuumrotationsverdampfer eingedampft, und nach dem Abkühlen des Kolbens wird der Rückstand mit 5 ml Hexan gelöst. Die Farbe wird im Spektralphotometer gemessen und der Gehalt an β-Carotin aus der bei 452/454 nm abgelesenen Extinktion mit Hilfe folgender Formel berechnet:

$$\frac{E_A \cdot D \cdot V \cdot 10}{E_{1\,cm}^{1\,\%} \cdot B} = \text{mg } \beta\text{-Carotin/kg Butter}$$

E_A = Extinktionsmittelwerte der Analysenlösung bei 452 nm.
D = 1000 mg β-Carotin in 100 ml Lösung.
V = Volumen der Meßlösung in ml (= 5).
B = Einwaage der Analysenprobe in g.
$E_{1\,cm}^{1\,\%}$ = 2500 bei 452/454 nm in Hexan.

b) Arbeitsvorschrift zur Bestimmung des Vitamin A

Nach der chromatographischen Abtrennung des β-Carotins (Eluat I) wird der an der desaktivierten Aluminiumoxyd-Säule adsorbierte Vitamin-A-Alkohol mit 60 ml Eluiergemisch unter schwachem Vakuum in einen 250 ml-Rundkolben eluiert (Eluat II). Es empfiehlt sich, die Vollständigkeit der Eluation mittels UV-Licht zu kontrollieren. Das Eluat (II) wird auf dem Wasserbad bei ca. 80 ° C am Rotationsverdampfer eingedampft. Den Rückstand löst man nach dem Abkühlen des Kolbens in 10 ml Chloroform, pipettiert davon 2 ml in ein Reagensglas, das als Küvette eines Spektralphotometers (Lumetron 401 A) verwendet wird. Aus einer schnell auslaufenden Dosierbürette läßt man rasch 10 ml Carr-Price-Reagens hinzufließen und mißt innerhalb 5 Sekunden die Extinktion der entsandenen Blaufärbung bei 620 nm.

Zur Einstellung des Photometers auf 100 % Durchlässigkeit wird als Blindwert eine Mischung von 10 ml Carr-Price-Reagens und 2 ml Chloroform verwendet. Die Berechnung des Vitamin-A-Gehaltes erfolgt analog wie bei Milch (3.a) nach folgender Formel:

$$\frac{E_A \cdot D \cdot 10^4}{E_{St} \cdot B} = \text{IEA/kg Butter}$$

E_A = Extinktionsmittelwert der Analysenlösung bei 620 nm.
E_{St} = Extinktionsmittelwert der Vitamin-A-Standardlösung bei 620 nm.
B = Einwaage der Analysenprobe in g (= 2).
D = IEA pro ml Vitamin-A-Standardlösung (ca. 2,5).

Besprechung der Ergebnisse

Es fällt auf, daß die Konzentrationen an Vitamin A und β-Carotin der Milch aus den drei Einzugsgebieten nicht wesentlich voneinander abweichen und daß sie während der Sommer- bzw. Wintermonate relativ konstant waren. Eine Zunahme der Gehalte ist in den Monaten Juni bis November festzustellen.

In der Tabelle 1 sind die Durchschnittswerte der während eines Jahres durchgeführten Analysen von Vitamin A und β-Carotin für Milch und Butter zusammengestellt.

Tabelle 1

	Durchschnittswerte	
Milch	IEA/l	Carotin mg/l
Basel	1 167	0,174
Luzern	1 208	0,180
Chur	1 162	0,179
Butter	IEA/kg	Carotin mg/kg
Basel	24 000	3,28
Luzern	25 008	3,67
Chur	23 293	3,28

In der Tabelle 2 sind die für Milch und Butter errechneten Mitelwerte für die Sommer- und Wintermonate und die prozentualen Abweichungen vom Jahresmittel (= 100 %) vergleichend dargestellt.

Tabelle 2

	IEA/l	Abweichung vom Jahresmittel (%)	Carotin mg/l	Abweichung vom Jahresmittel (%)
Sommer, Mai—November	1 411	+ 19	0,233	+ 32
Winter, Dezember—April	972	— 17	0,126	— 29
Jahresmittel (= 100 %)	1 180		0,177	
Sommer, Mai—November	27 575	+ 12,5	4.23	+ 23,5
Winter, Dezember—April	21 434	— 12,4	2,61	— 23,5
Jahresmittel (= 100 %)	24 465		3,42	

Aus den Untersuchungen geht hervor, daß bei der Milch die mittleren Werte für Vitamin A in den Sommermonaten ca. 20 % und bei der Butter ca. 12—13 % höher liegen als die jährlichen Durchschnittswerte. Für β-Carotin liegen die mittleren Werte im Sommer bei der Milch ca. 30 % und bei der Butter ca. 23—24 % höher als das Jahresmittel. In den Wintermonaten liegen die Durchschnittswerte annähernd im gleichen Verhältnis tiefer.

Wir haben festgestellt, daß bei einer Heufütterung während der Wintermonate wegen des geringen Carotingehaltes in Heu der Vitamin-A- bzw. β-Carotin-Gehalt in der Milch sinkt und zur Sommerzeit bei der Grün- oder Silage-Fütterung sehr stark ansteigt.

Tabelle 3 Gehalt an Vitamin A und β-Carotin im Liter Vollmilch

Durchführung der Analyse im Jahre 1965	Mittelwerte aus je 3 Bestimmungen					
	Basel		Chur		Luzern	
	IEA	mg Carotin	IEA	mg Carotin	IEA	mg Carotin
Anfang Januar	926	0,138	815	0,082	1 080	0,126
Mitte Januar	966	0,113	882	0,098	953	0,123
Anfang Februar	854	0,095	862	0,099	977	0,126
Mitte Februar	864	0,102	883	0,084	840	0,085
Anfang März	871	0,089	783	0,090	921	0,115
Mitte März	929	0,116	823	0,096	880	0,112
Anfang April	856	0,095	925	0,116	895	0,107
Mitte April	845	0,086	—	—	1 047	0,126
Anfang Mai	1 082	0,148	1 043	0,127	1 190	0,181
Mitte Mai	1 259	0,202	1 255	0,212	1 242	0,228
Anfang Juni	1 385	0,228	—	—	1 484	0,250
Mitte Juni	1 355	0,226	1 021	0,138	1 374	0,243
Anfang Juli	1 325	0,205	1 460	0,265	1 488	0,231
Mitte Juli	1 305	0,215	1 360	0,219	1 263	0,231
Anfang August	1 369	0,204	1 587	0,324	1 373	0,234
Mitte August	1 333	0,212	—	—	1 387	0,223
Anfang September	1 420	0,280	1 463	0,345	1 390	0,212
Mitte September	1 387	0,210	1 408	0,221	1 429	0,210
Anfang Oktober	1 430	0,225	1 496	0,231	1 434	0,228
Mitte Oktober	1 372	0,249	1 419	0,209	1 393	0,230
Anfang November	1 543	0,208	—	—	1 681	0,212
Mitte November	1 236	0,226	1 480	0,273	1 204	0,208
Anfang Dezember	1 118	0,160	1 138	0,188	1 016	0,140
Mitte Dezember	997	0,137	1 000	0,140	1 052	0,137

Tabelle 4 Gehalt an Vitamin A und β-Carotin im Kilogramm Butter

Durchführung der Analyse im Jahre 1965	Mittelwerte aus je 3 Bestimmungen					
	Basel		Chur		Luzern	
	IEA	mg Carotin	IEA	mg Carotin	IEA	mg Carotin
Anfang Januar	23 210	2,32	21 190	2,61	25 600	3,34
Mitte Januar	19 830	2,01	19 550	2,59	20 940	2,41
Anfang Februar	18 900	2,17	19 260	2,44	23 400	2,60
Mitte Februar	18 410	2,01	18 640	2,14	22 500	2,48
Anfang März	17 930	1,86	18 950	2,22	20 000	2,19
Mitte März	20 350	2,11	20 760	2,43	20 000	2,20
Anfang April	21 220	2,10	19 750	2,40	20 990	2,30
Mitte April	19 400	1,87	—	—	20 865	2,26
Anfang Mai	22 700	2,46	20 200	2,44	22 930	2,55
Mitte Mai	24 760	3,40	25 760	3,41	29 326	4,08
Anfang Juni	29 280	4,55	—	—	31 987	4,70
Mitte Juni	30 200	4,69	25 300	3,41	31 668	5,00
Anfang Juli	26 280	4,01	28 200	3,74	29 583	4,50
Mitte Juli	27 000	4,27	27 230	3,89	30 900	4,58
Anfang August	26 420	4,00	29 436	4,31	30 250	4,65
Mitte August	27 150	3,95	27 563	3,88	28 980	4,56
Anfang September	27 440	3,83	25 100	4,19	25 108	4,04
Mitte September	28 283	4,05	27 680	4,01	27 600	4,73
Anfang Oktober	27 883	3,79	25 560	3,96	28 600	4,29
Mitte Oktober	24 740	4,21	25 920	4,20	28 960	4,61
Anfang November	26 160	4,28	—	—	24 920	4,14
Mitte November	24 280	4,08	24 800	4,17	26 400	4,21
Anfang Dezember	23 920	3,73	19 280	3,22	26 075	3,92
Mitte Dezember	20 250	3,09	19 040	2,87	25 620	3,90

Zusammenfassung

Der Gehalt an Vitamin A und β-Carotin in Milch und Butter aus den Einzugsgebieten von Basel, Chur und Luzern wurde monatlich zweimal während eines Jahres ermittelt (Tabellen 3 und 4).

Die verwendeten modifizierten Analysenmethoden zur routinemäßigen Bestimmung von Vitamin A und β-Carotin in Milch und Butter werden ausführlich beschrieben.

Die Genauigkeit der Methode zur Bestimmung von Vitamin A in Butter wird erhöht, indem man die in einem Aether/Hexan-Gemisch gelöste Butter durch Aluminiumoxyd filtriert und unter Zusatz von p-Aminophenol als Stabilisator verseift. Zur Beseitigung von Störsubstanzen wird Maisstärke als Adsorbens verwendet. Das Vitamin A wird nach der bekannten Methode von Carr-Price mittels photometrischer Messung bestimmt.

Mittels Säulenchromatographie wird das β-Carotin von Vitamin A getrennt und die Extinktion der gelben Farbe spektrometrisch bei 452 nm gemessen.

Die Befunde bestätigen erneut, daß durch den Futterwechsel, vor allem durch die natürliche Zusammensetzung des Futters des Milchviehs, während der Sommer- und Wintermonate der Vitamin-A- und β-Carotin-Gehalt in der Kuhmilch stark beeinflußt wird. Die Vitamin-A- und Provitamin-A-Konzentration in der frischen und pasteurisierten Vollmilch sowie in der Butter ist während der Grünfütterungsperiode in den Sommermonaten höher als in den Wintermonaten.

NB. Herrn *H. Pfister* vom Verband Nordwestschweizerischer Milch- und Käsereigenossenschaften, Basel, danken wir für die bereitwillige Besorgung der Proben.

Résumé

La teneur en vitamine A et en β-carotène du lait et du beurre en provenance des régions de Bâle, de Coire et de Lucerne a été déterminée deux fois par mois durant une année (Tableaux 3 et 4).

Les méthodes d'analyse, modifiées et adaptées à nos conditions, permettant des dosages de routine de la vitamine A, ainsi que du β-carotène, sont décrites en détail.

La précision de la méthode pour la détermination de la vitamine A dans le beurre est augmentée par suite de la filtration sur oxyde d'alumine d'une solution de beurre dans un mélange d'éther et d'héxane et par l'addition, avant la saponification, de p-aminophénol en tant que stabilisateur. Afin d'éliminer les substances gênantes, on utilise de l'amidon de maïs comme adsorbant. La vitamine A est ensuite mesurée au photomètre selon la méthode bien connue de Carr-Price.

Le β-carotène est séparée de la vitamine A par chromatographie sur colonne et l'extinction de la couleur jeaune mesurée au spectromètre à 452 nm.

Les résultats démontrent à nouveau que le changement saisonnier du fourrage, avant tout lorsqu'ils s'agit de fourrage naturel, influence considérablement la teneur en vitamine A et en β-carotène du lait de vache. La concentration de la vitamine A et du β-carotène du lait frais et pasteurisé, ainsi que du beurre, et plus élevée durant les mois d'été (affouragement en herbe) que durant l'hiver (foin).

Summary

The contents of vitamin A and β-carotene in milk and butter from the areas of Basle, Chur an Lucerne were determined twice a month for a period of one year (Tab. 3 and 4).

The applied modified analytical procedures for the routine determination of vitamin A and β-carotene in milk and butter are described in detail.

The precision of the method of the vitamin A determination in butter is improved by filtering the solution of the butter in an ether/hexane mixture over aluminium oxide in the presence of p-aminophenol as stabilizer. Interfering compounds are removed by selective

irreversible adsorption on corn starch. The vitamin A is then determined photometrically by the usual Carr-Price method.

β-carotene is separated from vitamin A by column chromatography, and the extinction of its yellow colour is measured spectrophotometrically at 452 nm.

The results confirm the observation that the vitamin A and β-carotene content of cow milk during summer and winter months greatly depends on the change in the feedstuff supply i. e. on the natural composition of the feedstuff for dairy cattle. Due to the supply of green feed the content of vitamin A and β-carotene in fresh and pasteurized milk as well as in butter is higher during the summer months than in winter.

Literatur

1. *Richter H. R.:* Wien. Tierärztl. Mschr. **52** (6), 635 ff (1965).
2. *Aust H.:* Wiss. Veröff. Ges. f. Ernährung **9**, 335 (1963); Milchwiss. Ber. **4**, 65 (1954).
3. *Bauernfeind J. C.* und *Parman G. K.:* Fd. Technol. **18**, No. 2, 52 (1964).
4. *Friesecke H.* und *Kirchgeßner M.:* Bayer, Landwirtsch. Jahrbuch **41**, No. 4, 440 (1964).
5. *McDowall F. H.* und *Megillivray W. A.:* J. Dairy Res. **30**, 59 (1963).
6. *Rakes J. M.* und *Potts D. F.:* J. Dairy Sci. **48**, No. 6, 793 (1965).
7. *Thompson S. Y.* et al.: J. Dairy Res. **31**, No. 1, 1 (1964).
8. *Wagner K. H.:* Milchwiss. No. 8, 250 (1952).
9. *Hostettler H.:* Mitt. Gebiete Lebensmitteluntersuch. Hyg. **36**, 51 (1945).
10. *Breirem K.:* Generalber., 12. Intern. Milchw. Kongreß, Stockholm 1949.
11. *Fäßler Ch.* et al.: Intern. Z. Vitaminforsch. **32** (4), 454 (1962).
12. *Kieferle F.* et al.: Milchwiss. **6**, 295 (1957).
13. *Mucciolo P.* et al.: Le lait **36**, 494 (1956).
14. *Sproule W. H.* et al.: Canad. Dairy & Ice Cream J. **25** (1965).
15. *Oracova V.* et al.: Amn. Nutr. Aliment **14**, 151 (1960).
16. *Müller P. B.:* Mitt. Gebiete Lebensmitteluntersuch. Hyg. **40**, 359 (1949).
17. *Moor H.:* Milchwiss. **8**, 298 (1953).
18. *Bolding J.* et al.: J. Am. Oil Chem. Soc., p. 480 (1951).
19. *Wodsak W.:* Pharmazie **5**, 520 (1950) ibid. **4**, 370 (1949).
20. *Wodsak W.:* Nahrung **4**, 214 (1960); Krankenhausarzt in Wissenschaft, Recht und Wirtschaft, Heft **8**, 270 (1952).
21. *Zscheile F. P.* et al.: Ind. Eng. Chem. Anal. **16**, 190 (1944).
22. *Oser B. L.* et al.: Ind. Eng. Chem. Anal. **15**, 723 (1943).
23. *Boyer P. D.* et al.: Ind. Eng. Chem. Anal. **16**, 101 (1944).
24. *Willstaedt W.* et al.: Z. Physiol. Chem. **253**, 133 (1938).
25. *Wilkinson R. A.* et al.: The Austral. J. Dairy Technol. **13**, No. 1, 32 (1958).
26. *Conochie J.* und *Wilkinson R. A.:* Proc. XIV. Intern. Dairy Congress I, 357 (1956).
27. *Berl S.* und *Peterson W. H.:* J. Nutr. **26** (II), 527 (1943).
28. *Roese E.* und *Gottlieb E:* Z. Analyt. Chem. **32**, 252 (1893).