# Die Bestimmung von Vitamin A in Lebens- und Futtermitteln : (Auswertung nach Carr-Price)

Autor(en): **Moor, H.**

Objekttyp: **Article**

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

Band (Jahr): **44 (1953)**

Heft 3

PDF erstellt am: **25.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-982850

**Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

**Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

**http://www.e-periodica.ch**

# Die Bestimmung von Vitamin A in Lebens- und Futtermitteln

(Auswertung nach *Carr-Price*)

Von *H. Moor*, Basel

(Aus den Laboratorien der Vitamin-Abteilung der F. Hoffmann-La Roche & Co., Aktiengesellschaft, Basel)

Die praktische Durchführung der Vitamin A-Bestimmung nach den bekannten Methoden von *Müller* [1]), *Boldgingh* [2]), *Wodsak* [3])[4]), *Zscheile* u.a.[5]), *Gridgeman* u.a.[6]), *Oser* u.a.[7]) ist für die Untersuchung von Analysenmaterial mit wechselnder Beschaffenheit sowie für Serienanalysen bisweilen schwierig.

Die Gründe dafür liegen einerseits bei der nicht universellen Anwendbarkeit der Methoden für jedes Analysenmaterial und anderseits bei rein analytisch-technischen Problemen. Zu letzteren zählt besonders die in den meisten Fällen notwendige Verseifung der Fettstoffe und die anschliessende Extraktion des unverseifbaren Vitamin A aus den wässerigen Seifenlösungen.

Während schon die Verschiedenartigkeit der Fette im Untersuchungsmaterial zu ungleich emulgierenden Seifen führt, sind in gewissen Margarinen und diätetischen Produkten noch zusätzliche Emulgatoren vorhanden. Die Seifen und andere emulgierend wirkende Stoffe können das Vitamin A in der wässerigen Lösung trotz mehrmaliger Extraktion teilweise zurückhalten. Anderseits entstehen bei der Extraktion oft schwer oder gar nicht mehr trennbare Emulsionen, und bisweilen bilden sich sogar drei Schichten. Diese Erscheinungen sind bei der Analyse von Fetten und Margarinen relativ häufig, besonders dann, wenn infolge niedriger Vitamingehalte grössere Fettmengen verseift werden müssen. Die Trennung solcher Emulsionen durch Zentrifugieren oder durch Zusätze wie Alkohol, konzentrierte Salzlösungen usw. führen einerseits nicht in allen Fällen zum Ziel und bedingen anderseits zusätzliche, der Analysengenauigkeit abträgliche Nachbehandlungen. Das Vorgehen bei der Aufarbeitung des Analysenmaterials wird daher in Anpassung an dessen Beschaffenheit und Vitamingehalt vielfach recht verschiedenartig ausfallen. Damit verbunden ist nicht nur ein Mehraufwand an Arbeit und Zeit, sondern es entstehen auch zusätzliche Fehlermöglichkeiten.

Im Bestreben, diese Komplikationen auszuschalten und eine universell anwendbare Methode zur Vitamin A-Bestimmung in Lebensmitteln zu finden, wurde nach einer Möglichkeit gesucht, das Analysenmaterial ohne Vitamin A-Verluste zu verseifen und das Unverseifbare aus Seifen, Emulgatoren und Rückständen ohne Emulsionsbildung quantitativ zu extrahieren.

Anstatt den Umstand der Wasserlöslichkeit von Seifen zu deren Abtrennung zu benützen, haben wir die Lösung darin gefunden, dass wir die *Seifen, Emulgatoren und Rückstände ohne Wasser trocken durch Absorptionsmittel abtrennten.*

Allen Theorien der leichten Zerstörbarkeit von Vitamin A zum Trotz versuchten wir, die Verseifung in offener Kristallisierschale im Wasserbad von 80° C unter gleichzeitigem Verdampfen des Alkohols durchzuführen. Die entstandenen Verluste von Vitamin A betrugen 15—30 %.

Es wurde nun der Versuch unternommen, mit Hilfe von Stabilisatoren diese Verluste zu reduzieren, um damit eventuell doch noch das erwünschte Ziel zu erreichen. Aus einer ganzen Reihe für diesen Zweck geprüfter Stabilisatoren fanden wir im Hydrochinon das Stabilisierungsmittel, welches selbst bei der beschriebenen rigorosen Behandlung des Vitamin A eine verlustlose Verseifung ermöglicht. Es gelang, durch Hydrochinonzusatz das Vitamin A-haltige Fett oder ein beliebiges Analysenextrakt in offener Schale bei 80° C und ohne Einleiten von Stickstoff unter gleichzeitigem Verdampfen des Alkohols innert 10 bis 15 Minuten *ohne Vitaminverluste* zu verseifen und zur Sirupkonsistenz einzuengen. Aluminiumoxyd erwies sich als das am besten geeignete Absorptionsmittel, um den Rückstand aufzunehmen, und das Vitamin A konnte nach vollständigem Verdampfen des Alkohols fast seifenfrei und quantitativ mit Äthyläther aus dem pulverförmigen Adsorbat extrahiert werden.

Es wurde auch das Vorgehen bei der Bildung und Auswertung der *Carr-Price*-Farbreaktion untersucht. Dabei konnte festgestellt werden, dass die Farbentwicklung innert 3 bis 8 Sekunden nach dem Reagenszusatz stets ein gleiches Extinktionsmaximum erreicht, während das Abklingen der Farbintensität im Laufe von 30 bis 60 Sekunden verschieden schnell vor sich gehen kann. Für die Auswertung der *Carr-Price*-Färbung muss also ein Instrument verwendet werden, das die Extinktionsablesung innert 5 Sekunden auf dem Maximum ermöglicht (Lumetron A 400).

Mit dem Zweck, die ganze Methode einfach und sicher zu gestalten, wurde auch die chromatographische Reinigungstechnik von Vitamin A überprüft und die Bedingungen anhand der Ergebnisse soweit standardisiert, dass bei konstanter Aktivität des Aluminiumoxyds die Chromatographie ohne UV-Kontrollbestrahlung «blind» erfolgen kann.

Eine einfache Methode zur Einstellung des Aluminiumoxyds auf den geeigneten Aktivitätsgrad ist im experimentellen Teil angegeben.

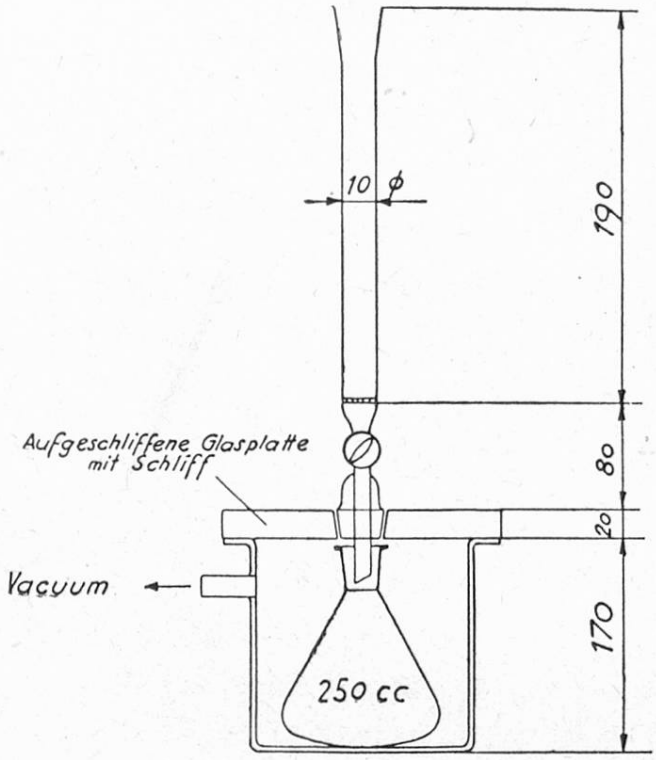
In der Beschreibung der praktischen Ausführung der Methode sind ferner einige Vereinfachungen und Verbesserungen in der Reinigung und Aufbewahrung der Reagenzien erwähnt.

## Experimenteller Teil

### *Apparate und Material*

Photoelektrisches Colorimeter mit Filter 610 mμ (Lumetron Mod. 400 A) (der Apparat muss die Extinktionsmessung innerhalb weniger Sekunden nach Zusatz des Antimontrichloridreagenses ermöglichen).

Schliffkolben zum Eindampfen der Extrakte bzw. Eluate im Vakuum und Chromatographierapparatur gemäss Skizze.




Chromatographier-Apparatur

Kristallisierschalen mit ca. 8 cm Durchmesser und ca. 4 cm Randhöhe.
Wasserbad, einstellbar auf eine Temperatur von ca. 80° C.
Zentrifuge und Zentrifugiergläser mit ca. 40 cm³ Inhalt und Glasstopfen.
Übliches Glasmaterial.

*Reagenzien*

*Hochsiedender Petroläther* Sp. 90—115° C rein.

*Äthyläther, peroxydfrei* (in dunkler Flasche aufbewahren). Reiner Äthyläther wird destilliert und über einer 2%igen wässerigen Ferrosulfatlösung aufbewahrt. Vor jeder Ätherentnahme wird gut geschüttelt und kurz stehen gelassen.

*Chloroform rein.* Reines Chloroform wird mit der gleichen Menge dest. Wasser ausgeschüttelt, vom Wasser abgetrennt, mit geglühtem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und destilliert. Das Destillat wird in dunkler Flasche mit hochaktivem Aluminiumoxyd versetzt, gut geschüttelt und über diesem aufbewahrt. Zur Verwendung wird aufgeschüttelt und durch 3 übereinandergelegte Papierfilter filtriert. Die ersten ca. 50 cm³ Filtrat werden nochmals aufgegossen oder verworfen.

*Reines, raffiniertes Vitamin A-freies Arachisöl.*

*Antimontrichloridreagens.* 22 g reines, evtl. frisch destilliertes Antimontrichlorid werden mit 100 cm³ Chloroform versetzt und unter Rückfluss bis zum vollständigen Auflösen erwärmt. Nach dem Abkühlen wird das Reagens in dunkler Flasche über hochaktivem Aluminiumoxyd aufbewahrt. Für den Gebrauch wird gut aufgeschüttelt und durch 3 Papierfilter filtriert.

*Alkoholische Natronlauge.* 10 cm³ 30 gew.%ige, wässerige Natronlauge werden mit 90 cm³ reinem Äthylalkohol abs. gemischt (nur 1 Tag verwendbar).

*Eluiermittel.* 15 cm³ Äthyläther mit hochsiedendem Petroläther ad 100 cm³ auffüllen.

*Aluminiumoxyd zur Chromatographie.* Reines Aluminiumoxyd Merck, nach *Brockmann,* wird durch Glühen (ca. 400° C) maximal aktiviert und zur Fernhaltung von Feuchtigkeit im Vakuum erkalten gelassen.
Zur Chromatographie werden 50 g max. aktiviertes Aluminiumoxyd in einen Erlenmeyerkolben mit Schliffstopfen gewogen und mit 6 cm³ dest.Wasser versetzt. Sofort Stopfen schliessen und so lange schütteln, bis alle Knollen zerfallen sind. Unter gutem Verschluss aufbewahrt, bleibt die Aktivität ca. 1 Tag unverändert.

*10%ige Lösung von reinem Hydrochinon in Alkohol abs.*

*Vitamin A-Standardlösung.* 2 Kapseln U.S.P.-Standard-Vitamin A-Acetat *) mit je 2500 IE werden im 100-cm³-Becherglas mit ca. 30 cm³ reinem, hochsiedendem Petroläther übergossen und mit der Schere gut zerschnitten. Die Lösung wird in ein 50-cm³-Messkölbchen gegossen und mit Petroläther unter Nachspülen von Schere und Becherglas ad 50 cm³ aufgefüllt.

*Testkurve.* Zur Herstellung einer Testkurve werden abgestufte Mengen (0—50 IE) der Standardlösung wenn möglich direkt im Colorimetermessglas unter Vakuum eingedampft und in 2 cm³ Chloroform aufgenommen. Mit einer rasch auslaufenden Pipette werden 10 cm³ Antimontrichloridreagens zugesetzt, worauf man unverzüglich **) die Farbstärke misst. Als Blindwert wird eine Mischung von 10 cm³ Antimontrichloridreagens und 2 cm³ Chloroform verwendet. (Mehrmals wiederholen und alle Vitamin A-Analysen in der Folge unter exakt gleichen Bedingungen mit Reagens versetzen und messen.)

## *Durchführung der Analyse*

### *Vorbereiten des Untersuchungsmaterials zur Extraktion*

*Feste Substanzen* werden zerkleinert (mahlen, verreiben, im Mix-Apparat behandeln usw.), so dass gleichmässige Pulver entstehen. Bereits pulverförmige Substanzen werden gut gemischt (Milchprodukte und Eiweissadsorbate siehe S. 263).

---

*) Erhältlich von: U.S.P. Revision Committee, Park Avenue 46, New York.

**) Vom Beginn des Reagenszusatzes bis zur Extinktionsablesung sollen nicht mehr als 5 Sekunden vergehen.

10—15 g Analysenmaterial werden im Schüttelzylinder mit 150 cm³ Äthyläther versetzt und durch Schütteln extrahiert. Die überstehende Lösung wird durch Zentrifugieren in gut verschlossenen Zentrifugiergläsern von suspendierten Teilen befreit.

Aus der zentrifugierten, überstehenden Lösung wird eine ca. 100—300 IE Vitamin A enthaltende Menge in Kristallisierschale ausgemessen. Bei fettarmen Produkten setzt man soviel Arachisöl zu, dass mindestens 1,5 g und höchstens 3,5 g totale Fettmenge vorliegt.

Die weitere Aufarbeitung geschieht gemäss nachstehender Vorschrift *«Verseifung»*, wobei *nach* Zusatz der dort beschriebenen Reagenzien der Äther vorsichtig abgedampft wird.

Bei Fettstoffen (Margarine, ~~Öle~~, Speisefette usw.) wird direkt eine Menge zwischen 1 und 4 g *) in Kristallisierschale eingewogen und das Material gemäss nachstehender Vorschrift *«Verseifung* weiterbehandelt.

*Verseifung*

Das Untersuchungsmaterial in der Kristallisierschale wird nacheinander mit nachstehenden Reagenzien versetzt:

1,5 cm³ Hydrochinonlösung in abs. Alkohol und
15 cm³ alkoholische Natronlauge.

*(Dem Zusatzversuch werden hier aus der Standardlösung so viele Einheiten Vitamin A zugesetzt, als im Analysenmaterial erwartet werden.)*

Die alle erwähnten Zusätze enthaltende Kristallisierschale wird jetzt in ein Wasserbad von 70—80° C gestellt und mindestens 10 Minuten unter bisweiligem Umschwenken bei dieser Temperatur belassen. Inzwischen giesst man in einen kleinen Messzylinder bis zur 8-cm³-Marke Aluminiumoxyd (mit 12 % Wasser) ein.

Nachdem die Seifenlösung im Wasserbad bis zur Sirupkonsistenz eingedampft ist, giesst man das Aluminiumoxyd dazu und verarbeitet die Masse gleichmässig mit einem Spatel.

Unter bisweiligem Umrühren mit dem Spatel lässt man das Seife-Aluminiumoxyd-Adsorbat noch so lange im Wasserbad, bis geruchlich kein Alkohol mehr festgestellt werden kann. (Nicht länger als 20 Minuten!)

Das entstandene Pulver wird in ein Schüttelzentrifugierglas mit Schliffstopfen überführt, mit 25 cm³ Äther versetzt, 1 Minute tüchtig geschüttelt und zentrifugiert. In ein weiteres Schüttelzentrifugierglas werden inzwischen 5 cm³ Wasser dest. eingemessen und die ätherische, überstehende Lösung der zentrifugierten Probe dazugegossen.

---

*) Bei Gehalten von weniger als 6 IE/g kann die Aufarbeitung bei der *«Verseifung»* mit entsprechend grösseren Gewichtsmengen von Analysenmaterial und Reagenzien ausgeführt werden. In diesem Fall wird auch eine entsprechend grössere Äthermenge für die Messung eingedampft.

Nach tüchtigem Schütteln und abermaligem Zentrifugieren ist die Ätherlösung seifenfrei.

Wenn die gewaschene Ätherlösung auch absolut frei von störenden Begleit- und Farbstoffen ist, so kann die zur Messung im Colorimeter geeignete Menge der Lösung direkt im Colorimetermessglas eingedampft werden (15—30 IE pro Messung).

Der Eindampfrückstand wird in 2 $cm^3$ Chloroform aufgenommen und, wie beim Aufstellen der Testkurve angegeben, mit Antimontrichloridreagens versetzt und gemessen.

In der Regel muss jedoch — besonders in unbekanntem Material — gemäss nachstehender Vorschrift *«Chromatographie»* weitergearbeitet werden.

*Chromatographie*

Die zu reinigende Ätherlösung wird unter Vakuum eingedampft. Inzwischen füllt man das Chromatographierrohr ca. 10 cm hoch mit Aluminiumoxyd (12 % Wasser), giesst hochsiedenden Petroläther hindurch und schliesst den Ausflusshahn des Chromatographierrohres, so dass das Aluminiumoxyd ca. 2 cm mit Petroläther überschichtet bleibt.

Der Äthereindampfrückstand wird jetzt mit 10 $cm^3$ Petroläther aufgenommen und an das Aluminiumoxyd adsorbiert. Mit weiteren 30 $cm^3$ Petroläther wird nachgewaschen.

Jetzt wird die Vorlage zum Auffangen des Eluates gewechselt und das Vitamin A mit 40 $cm^3$ Eluiergemisch eluiert.

Das Eluat wird im Vakuum eingedampft und in soviel Chloroform aufgenommen, dass 2 $cm^3$ des davon zur Messung gelangenden Anteiles die optimale Vitamin A-Konzentration enthält (15—30 IE).

*Berechnung* Formel: $\frac{100 \times d \times b}{(a-b) \times c} = \text{IEA } \%$

a = gefundene IE in Analysenmaterial mit Zusatz.
b = gefundene IE in Analysenmaterial ohne Zusatz.
c = Einwaage in g (massgebend ist die mit dem Zusatz d versetzte Menge Analysenmaterial).
d = zugesetzte IE Vitamin A-Standard.

Der Verlust an Vitamin A sollte während der ganzen Analyse (Verseifung und Chromatograhie) 7 % in keinem Fall überschreiten. Bei Serienuntersuchungen in gleichartigen Produkten kann nach Feststellung eines eventuellen Analysenverlustes auf den Zusatzversuch verzichtet werden.

Genauigkeit des Verfahrens: ± 3—6 %.

Unterste Erfassbarkeit: je nach Material 1—3 IE/g.

*Methode zur Extraktion von Vitamin A aus Milch und Milchprodukten*

Bei der Bestimmung von Vitamin A in Milch und Milchprodukten begegnet man der Schwierigkeit, dass das Vitamin A sowie die Fettstoffe vom Milcheiweiss derart stark adsorbiert sind, dass eine gewöhnliche Extraktion mit Fettlösungsmitteln nicht genügt.

In diesem Falle verfährt man nach der in der Lebensmitteluntersuchung bekannten Fett-Extraktionsmethode nach *«Röse-Gottlieb»* [8]) wie folgt:

40 $cm^3$ Frischmilch, bzw. 40 $cm^3$ eines im physiologischen Verhältnis in dest. Wasser aufgelösten Milchproduktes werden im 250-$cm^3$-Schüttelzylinder nacheinander mit folgenden Reagenzien versetzt (nach jedem Zusatz energisch schütteln):

10 $cm^3$ ca. 25%ige Ammoniaklösung
40 $cm^3$ reiner abs. Alkohol
80 $cm^3$ peroxydfreier Äthyläther
80 $cm^3$ Petroläther (*tief*siedend).

Zur Schichtentrennung wird die Mischung mindestens 15 Minuten im Dunkeln stehen gelassen. Nun wird das gesamte Volumen der überstehenden Extraktionslösung festgestellt und ein aliquoter Teil davon in der Kristallisierschale vorsichtig eingedampft und gemäss der Vorschrift *«Verseifung»* weiterbehandelt.


*Zusammenfassung*

Es wird eine allgemein anwendbare Methode beschrieben, die sich für routinemässige Vitamin A-Bestimmungen in Lebens- und Futtermitteln eignet. Während die eigentliche Auswertung nach der bekannten *Carr-Price*-Methode auf kolorimetrischem Wege mit Antimontrichlorid ausgeführt wird, erfolgt die Reinigung durch Verseifung und Chromatographie nach einem zu diesem Zwecke vom Verfasser speziell ausgearbeiteten Verfahren. Ein Parallelversuch unter Zugabe einer bekannten Menge von Vitamin A gestattet, den eventuellen Verlusten an Vitamin A im Laufe der Analyse Rechnung zu tragen.

*Résumé*

L'auteur décrit une méthode de dosage courante et générale de la vitamine A dans les produits alimentaires et les fourrages. Alors que la détermination proprement dite se fait d'après la méthode bien connue de *Carr-Price*, par colorimétrie avec du chlorure d'antimoine, la purification est effectuée par saponification et chromatographie, selon un procédé spécialement étudié à cet effet par l'auteur. Un essai parallèle comportant l'addition d'une quantité connue de vitamine A permet de tenir compte des pertes éventuelles que subit la vitamine A au cours de l'analyse.

*Summary*

The author describes a simplified method for the determination of vitamin A in foods and animal feeds. Whereas the evaluation is carried out in accordance with the well known *Carr-Price* reaction with antimonytrichloride, the purification of the extract is car-

ried out by saponification and chromatography according to a special method developed by the author. In order to ascertain the vitamin A losses occurring in the course of the analysis, a recovery test with a known quantity of vitamin A is carried out simultanously.

*Literatur*


1) *P. B. Müller*, Mitt. Lebensm. und Hyg. **40** (1949), 359—375.
2) *J. Boldingh* und *J. R. Drost*, Journ. Am. Oil Chem. Soc. 480—483 (1951).
3) *W. Wodsak*, «Der Krankenhausarzt in Wissenschaft, Recht und Wirtschaft», 25. Jahrgang, Heft 8, 270 (1952).
4) *W. Wodsak*, Pharmazie **5**, 520—524 (1950).
5) *F. P. Zscheile, R. L. Henry, J. W. White, Jr., H. A. Nash, C. L. Shrewsbury* und *S. H. Hauge*, Ind. and Eng. Chem. Anal. Edit., **16** (1944), No. 3, 190—193.
6) *N. T. Gridgeman, G. P. Gibson, J. P. Savage*, Analyst **73** 662 (1948).
7) *Bernard L. Oser, D. Melnick, M. Pader*, Ind. and Eng. Chem. Anal. Edit., **15** (1943), No. 12, 723—729.
8) Schweiz. Lebensmittelbuch 4. Ausgabe 1937, Bern, S. 53.


# Beitrag zur Diskussion über die Schalenbestimmung in Kakao


Von *Grete Josephy*

(Mitteilung aus dem kantonalen Laboratorium Zürich)


## 1. Physikalische und chemische Methoden

Es wurde schon viel gearbeitet über Kakaoschalenbestimmung. Sicher jeder, der sich mit der zeitraubenden, unbefriedigenden mikroskopischen Methode der Auszählung befasst, sucht nach einem einfacheren und zuverlässigeren Weg der Bestimmung.

Die in der Literatur beschriebenen Methoden basieren auf der verschiedenen Teilchengrösse und dem verschiedenen spezifischen Gewicht von gemahlenen Schalen und Kernen (Schlämmverfahren), sowie auf verschiedenem Rohfaser-, Aschen- und neuestens Pektingehalt.

### *Das Schlämmverfahren*

Diese Untersuchungsmethode wird im allgemeinen als ungenau abgelehnt. Im Jahre 1939 erschien eine Arbeit von *Borghi*, «Le dosage des coques dans les cacaos et les chocolats» [1]), die in ihrer Einfachheit bestechend ist. *Borghi* wendet eine Schlämmethode an, die er insofern modifiziert, als er die nach dem ersten Abschlämmen noch vorhandene Stärke mit Diastase verzuckert. Dann wird erneut das Schlämmverfahren angewendet mit Absetzenlassen der schwereren