

Methoxygruppen an Stelle der drei vorhandenen gefunden wurden. Die Bestimmung Nr. 9 wurde eine Stunde länger erhitzt als Nr. 8, daher wahrscheinlich das etwas bessere Resultat.

Tabelle 3.

Nr.	Substanz	Einwaage mg	Ag-J mg	% OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> bzw. C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> bzw. OCH <sub>3</sub>	
				Gef.	Ber.
1.	Äthyläther . . . .	1,770	11,20	78,29	78,40
2.	do. . . . .	2,389	15,345	78,43	78,40
3.	do. . . . .	1,820	11,52	78,26	78,40
4.	Ameisensäure- äthylester . . . .	3,449	11,00	61,16	60,85
5.	do. . . . .	3,604	11,50	61,20	60,85
6.	do. . . . .	2,460	7,80	60,82	60,85
7.	Dextro-pimarsäure- methylester . . . .	4,341	2,90	9,83	9,80
8.	Trimethylester . .	6,751	7,92	15,47	16,65
9.	do. . . . .	4,451	5,30	16,10	16,65

Alle Bestimmungen wurden zwei Stunden auf eine Temperatur von 135—140° C erhitzt, Nr. 9 drei Stunden.

Organisch-chemisches Laboratorium,  
Mikroanalytische Abteilung,  
Eidg. Techn. Hochschule, Zürich.

### 129. Quantitative Bestimmung der Tocopherole in verschiedenen Ausgangsmaterialien

von P. Karrer und H. Keller.

(22. VIII. 38.)

In einer vorstehenden Arbeit wurde gezeigt, dass sich  $\alpha$ -Tocopherol mit Gold(III)-chloridlösung in 80-proz. Alkohol potentiometrisch scharf titrieren lässt; ganz gleich verhält sich auch  $\beta$ -Tocopherol (Neotocopherol). In beiden Fällen werden pro Mol Tocopherol 2 Äquivalentgewichte AuCl<sub>3</sub> verbraucht (3 Mol Tocopherol erfordern 2 Mol AuCl<sub>3</sub>).

Bei Verwendung dieser Tocopherol-Bestimmungsmethode zur Ermittlung der Tocopherolmengen in verschiedenen natürlichen Ausgangsmaterialien war zunächst die Frage abzuklären, inwieweit Begleitstoffe, die sich in den unverseifbaren Anteilen von Fetten und Ölen finden, die Titrationsergebnisse beeinflussen. Hierbei hat sich

gezeigt, dass auch Carotin und andere Carotinoide unter den Versuchsbedingungen Goldsalzlösung reduzieren; diese dürfen daher nicht oder nur spurenweise vorhanden sein, sollen die Tocopherolbestimmungen nicht zu hoch ausfallen. Die nachfolgend auf Tocopherolgehalt untersuchten Öle:

Weizenkeimlingsöl, Maiskeimlingsöl, Öl aus grünem Kopfsalat, Leinöl, Olivenöl, Sesamöl, Cocosöl, Baumwollsamensöl

enthielten, mit Ausnahme des Öls aus Kopfsalat, im unverseifbaren Anteil weniger als  $\frac{1}{10}^0/_{00}$  Carotinoide, so dass die Titrationsergebnisse dadurch keinen messbaren Fehler erfahren konnten. Das Unverseifbare des Öls aus Kopfsalat wies einen Carotinoidgehalt von ca. 0,3% auf, der bei der Tocopherolbestimmung berücksichtigt werden muss.

Unter Beachtung des „Carotinoid-Fehlers“ eignet sich die potentiometrische Methode zur quantitativen Bestimmung des Tocopherolgemisches in den unverseifbaren Anteilen äther- oder petrol-ätherlöslicher Extrakte aus pflanzlichen und tierischen Materialien. Die gefundenen Tocopherolwerte bedeuten die Summe des vorhandenen  $\alpha$ -Tocopherols und  $\beta$ -Tocopherols (bzw. inklusive  $\gamma$ -Tocopherol, sofern solches anwesend ist). Da  $\alpha$ -Tocopherol als E-Faktor zwei- bis dreimal wirksamer ist als  $\beta$ -Tocopherol, ist nur dann eine völlige Parallelität zwischen Wirkung und den potentiometrisch ermittelten Tocopherolmengen zu erwarten, wenn das Mischungsverhältnis in allen natürlichen Quellen ungefähr dasselbe ist. Darüber fehlen zur Zeit noch genügende Erfahrungen.

Mit unserer Methode liess sich auch die Frage entscheiden, ob die Tocopherole in den unverseiften Ölen frei oder als Ester vorkommen. Da die Tocopherol-ester Gold(III)-chlorid-Lösung nicht reduzieren, müssten beim Vorliegen von Tocopherol-estern die Titrationswerte verschieden ausfallen, wenn man die Tocopherolbestimmung einmal mit dem unverseiften Öl, ein anderes Mal mit dem unverseifbaren Verseifungsrückstand ausführt. Beim Weizenkeimlingsöl haben wir aber in beiden Fällen übereinstimmende Resultate erhalten, so dass die Tocopherole in diesem Öl unverestert vorkommen müssen.

$\beta$ -Carotin gibt bei der potentiometrischen Titration mit Gold(III)-chlorid ebenfalls eine saubere Titrationskurve; pro Mol  $\beta$ -Carotin wurden etwas weniger als 8 Äquivalente Oxydationsmittel verbraucht. Wir beabsichtigen, das Verhalten anderer Carotinoide gegen Gold(III)-chlorid, Silbernitrat und ähnliche, oxydierend wirkende Salze potentiometrisch und präparativ weiter zu verfolgen.

Unsere bisherigen Tocopherolbestimmungen erstrecken sich auf die folgenden Ausgangsmaterialien und haben die nachfolgenden Ergebnisse gezeitigt:

Tocopherolgehalt ( $\alpha$ -+ $\beta$ -Tocopherol) in

1) Unverseifbarem aus Weizenkeimlingsöl (nach Abtrennung eines Teils der Sterine). Carotinoidgehalt unter 0,1 <sup>0</sup> / <sub>100</sub> . . . . .	13,4%
Weizenkeimlingsöl . . . . .	0,52%
Weizenkeimlingen <sup>1)</sup> . . . . .	0,0295%
2) Unverseifbarem aus Maiskeimlingsöl (nach Abtrennung eines Teils der Sterine), kein Carotinoidgehalt . . . . .	10,2%
Maiskeimlingen <sup>2)</sup> . . . . .	0,0164%
3) Unverseifbarem aus Kopfsalat (nach Abtrennung der Hauptmenge Sterine und Berücksichtigung des Carotinoidgehaltes von 0,3%) . . . . .	4,3%
Kopfsalat getrocknet . . . . .	0,055%
4) Unverseifbarem aus Leinöl <sup>3)</sup> . . . . .	2,34%
Leinöl . . . . .	0,023%
5) Unverseifbarem aus Olivenöl <sup>3)</sup> . . . . .	0,935%
Olivenöl . . . . .	0,008%
6) Unverseifbarem aus Sesamöl <sup>3)</sup> . . . . .	0,63%
Sesamöl . . . . .	0,0050%
7) Unverseifbarem aus Cocosöl <sup>3)</sup> . . . . .	0,55%
Cocosöl . . . . .	0,0027%

Soweit sich die vorstehend mitgeteilten Tocopherolbestimmungen durch Tierversuche kontrollieren liessen, besteht zwischen beiden gute Übereinstimmung. So fand Hr. Prof. *Demole* (Basel), dass die einmalige, minimale wirksame Dosis Weizenkeimlinge bei der Ratte 10—20 g beträgt; nach der potentiometrischen Bestimmung sind darin 3 bzw. 6 mg Tocopherole enthalten. Da die minimale wirksame Dosis des  $\alpha$ -Tocopherols bei 3 mg, diejenige des  $\beta$ -Tocopherols bei 8 mg liegt, stimmen biologische und potentiometrische Bestimmung des Tocopherolgehaltes recht genau überein.

Von verschiedenen Weizenkeimlingsölen wurden im Rattenversuch Mengen von 1—4 cm<sup>3</sup> benötigt (*Demole*). Das von uns analysierte frische Öl enthielt pro g Öl 5 mg Tocopherole, also die minimale therapeutisch wirksame Dosis. Auch hier besteht offenbar Übereinstimmung.

Im weiteren decken sich unsere Befunde, dass Leinöl, Olivenöl, Sesamöl und Cocosöl tocopherol-ärmer sind als die Keimlingsöle, mit den biologischen Resultaten, wie sie namentlich die *Evans*-Schule früher gefunden hatte. Diese Übereinstimmung ist in erster Annäherung auch eine quantitative. So erwies sich getrockneter Salat im Tierversuch zwei- bis fünfmal aktiver als Palmöl, Leinöl und Baumwollsaamenöl, während nach unserer potentiometrischen Titration der Tocopherolgehalt in Leinöl etwas mehr als  $\frac{1}{3}$ , im Olivenöl

<sup>1)</sup> Frisch bezogen aus der Mühle Tiefenbrunnen (Zürich). Herrn *H. Wehrli* und Herrn Dr. *H. Wehrli* sind wir für die Überlassung des Materials zu grossem Dank verbunden.

<sup>2)</sup> Frisch bezogen aus der Schlossmühle Wülflingen (b. Winterthur). Herrn *Schollenberger* danken wir bestens für die Lieferung des Materials.

<sup>3)</sup> Handelsprodukt.

ca.  $\frac{1}{7}$  desjenigen des getrockneten Salats entsprach. Natürlich sollten beim Vergleich des biologischen Tests mit dem Ergebnis der Analyse in Zukunft stets dieselben Ausgangsmaterialien Verwendung finden, da der Tocopherolgehalt in diesen beträchtlichen Schwankungen unterliegt.

Wir beabsichtigen, die Verteilung der Tocopherole in tierischen Organen und die Ausscheidungsverhältnisse der Substanz mit unserer analytischen Methode zu verfolgen.

### Experimentelles.

#### Allgemeine Bemerkungen zur Ausführung der potentiometrischen Titrationen.

Sämtliche Titrationen wurden mit einer Platinelektrode gegen Normal-Kalomelektrode ausgeführt.

Als Titrierflüssigkeit haben wir 80-proz. Alkohol verwendet. Ferner ist darauf zu achten, dass das zu titrierende Tocopherol in der Titrationsflüssigkeit gelöst bleibt, was sich entweder durch Verwendung einer genügend kleinen Menge Tocopherol oder durch Anwendung von mehr Titrierflüssigkeit (80-proz. Alkohol) erreichen lässt. Für die in diesem Bericht ausgeführten Titrationen wurden meistens 250—400 cm<sup>3</sup> Titrationsflüssigkeit benutzt, wobei wir diese auf 50° erwärmten, bevor man die abpipettierte Menge der Tocopherollösung zufließen liess.

Ferner sei erwähnt, dass sich die Redox-Potentiale langsam einstellen, so dass eine Titration ca. 3 Stunden in Anspruch nimmt.

#### Potentiometrische Bestimmung von $\beta$ -Tocopherol.

Einwaage: 9,96 mg  $\beta$ -Tocopherol. Lösungsmittel 250 cm<sup>3</sup> 80-proz. Äthylalkohol. Titration bei 50° C.

Potentialdiff. E in Millivolt	cm <sup>3</sup> AuCl <sub>3</sub>
264	1,00
270	1,50
283	2,00
302	2,50
518	3,00
559	3,50
579	4,00
602	5,00

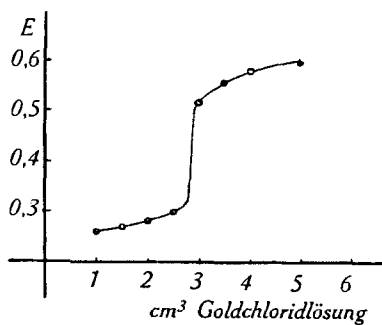


Fig. 1.

Mittelwert des Potentialsprungs: 2,80 cm<sup>3</sup> AuCl<sub>3</sub>-Lösung.

1,00 cm<sup>3</sup> der verwendeten AuCl<sub>3</sub>-Lösung entspricht 1,72 cm<sup>3</sup> 0,01-n. AuCl<sub>3</sub>-Lösung  
 2,80 " " " " " entsprechen 4,82 " " " "  
 C<sub>28</sub>H<sub>48</sub>O<sub>2</sub> Ber. bei Verbrauch von 2 Mol AuCl<sub>3</sub> pro Mol  $\beta$ -Tocopherol 4,78 cm<sup>3</sup> 0,01-n.  
 AuCl<sub>3</sub>-Lösung

### Bestimmung der Tocopherole in Weizenkeimlingen.

Es wurden 10 kg Weizenkeimlinge mit Benzol extrahiert, hierauf wurde das Benzol abdestilliert und das zurückbleibende Öl (580 g) mit 600 cm<sup>3</sup> 4-n. methylalkoholischer Kalilauge verseift. Während der Verseifung haben wir Stickstoff durchgeleitet, das verseifte Öl mit Äther extrahiert, die ätherische Lösung mit Wasser alkalifrei gewaschen, mit Calciumchlorid getrocknet, und den Äther verdampft. Aus 10 kg Weizenkeimlingen gewannen wir 22,0 g unverseifbares Öl.

### Bestimmung der Tocopherole im unverseifbaren Öl:

Einwaage: 100,0 mg, gelöst in 50 cm<sup>3</sup> Alkohol von 80%. Titration bei 50°.

Zur Titration wurden je 25 cm<sup>3</sup> obiger Lösung verwendet und mit 250 cm<sup>3</sup> 80-proz. Alkohol verdünnt.

Potentialdiff. E in Millivolt	cm <sup>3</sup> AuCl <sub>3</sub>
184	1,00
201	1,50
232	1,75
453	2,00
481	2,25
493	2,50
508	3,50

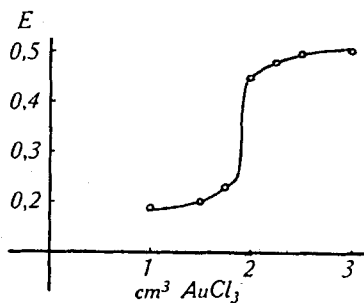


Fig. 2.

Mittelwert des Potentialsprungs: 1,80 cm<sup>3</sup> Goldchloridlösung

1,00 cm<sup>3</sup> verwendete AuCl<sub>3</sub> Lösung entspricht 1,72 cm<sup>3</sup> 0,01-n. AuCl<sub>3</sub> Lösung

1,80 cm<sup>3</sup> verbrauchte „ „ entsprechen 3,10 „ „ „ „

3,10 cm<sup>3</sup> 0,01-n. AuCl<sub>3</sub> Lösung entsprechen 6,7 mg Tocopherol

Somit Gehalt des Unverseifbaren an Tocopherol: 13,40% oder pro kg Weizenkeimlinge =  $\frac{13,4 \times 22}{1000} = 0,295$  g Tocopherol.

### Bestimmung der Tocopherole in Maiskeimlingen.

Es wurden 10 kg Maiskeimlinge mit Benzol extrahiert, hierauf das Keimlingsöl durch Abdestillieren vom Benzol befreit und mit 1000 cm<sup>3</sup> 4-n. methylalkoholischer Kalilauge im Stickstoffstrom verseift (ca. 3 Stunden). Das verseifte Öl haben wir mit Äther extrahiert, die ätherische Lösung mit Wasser alkalifrei gewaschen, mit Calciumchlorid getrocknet und den Äther verdampft. Das so erhaltene unverseifbare Öl wurde mit 500 cm<sup>3</sup> Äthylalkohol 1 Stunde gekocht und in den Eisschrank gestellt. Nach ca. 12 Stunden haben wir die auskrystallisierten Sterine abgenutscht, letztere mit Alkohol nochmals ausgekocht, die Flüssigkeit wieder abgekühlt und den Sterin-Niederschlag abgenutscht. Die alkoholischen Lösungen wurden nun vereinigt; nach dem Abdestillieren des Alkohols blieb ein Öl im Gewicht von 16,1 g zurück.

### Bestimmung der Tocopherole im unverseifbaren Öl:

Einwaage: 101,5 mg gelöst in 50 cm<sup>3</sup> Alkohol von 80% (Titration bei 50°).

Zur Titration wurden je 25 cm<sup>3</sup> obiger Lösung verwendet und mit 250 cm<sup>3</sup> 80-proz. Alkohol verdünnt.

Potentialdiff. E in Millivolt	cm <sup>3</sup> Gold- chlorid
176	0,50
182	0,75
211	1,00
389	1,50
475	1,75
498	2,00
511	2,50

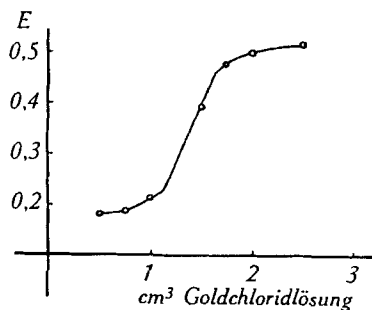


Fig. 3.

Mittelwert des Potentialsprungs: 1,40 cm<sup>3</sup> AuCl<sub>3</sub>-Lösung (1,00 cm<sup>3</sup> entspricht 1,72 cm<sup>3</sup> 0,01-n.) also Gehalt an Tocopherol:  $\frac{1,4 \times 1,72 \times 4,3}{2 \times 50,7} = 10,2\%$  oder pro kg Maiskeimling = 0,164 g Tocopherol.

### Bestimmung der Tocopherole in Kopfsalat.

Wir haben 100 Stück Kopfsalat an der Sonne getrocknet (Trockensubstanz 990 g), gemahlen und mit Benzol extrahiert. Aus der benzolischen Lösung wurde das Benzol abdestilliert und der Rückstand mit 250 cm<sup>3</sup> 4-n. methylalkoholischer Kalilauge im Stickstoffstrom 2 Stunden verseift. Das verseifte Öl wurde mit Äther extrahiert, alkalifrei gewaschen, getrocknet und der Äther abdestilliert. Das unverseifbare Öl haben wir zur Entfernung der Sterine mit Äthylalkohol zweimal gekocht, die Flüssigkeit abgekühlt und die Sterine abgenutscht. Nach dem Verdampfen des Alkohols blieben 12,9 g Öl zurück. Carotinoidgehalt dieses Öls ca. 0,3%.

### Bestimmung der Tocopherole im unverseifbaren Öl:

Einwaage: 106,1 mg, gelöst in 50 cm<sup>3</sup> Alkohol von 80% (Titration bei 50° C).

Zur Titration wurden je 25 cm<sup>3</sup> obiger Lösung verwendet.

Potentialdiff. E in Millivolt	cm <sup>3</sup> Gold- chlorid
216	0,00
230	0,25
248	0,50
344	0,75
448	1,00
469	1,25
481	1,50
490	2,00

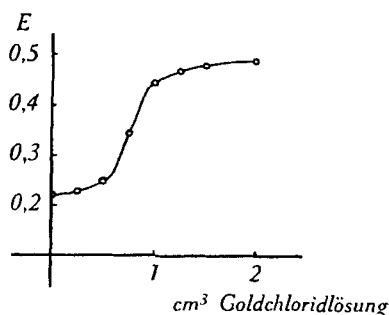


Fig. 4.

Mittelwert des Potentialsprungs: 0,75 cm<sup>3</sup> Goldchloridlösung entsprechend 1,29 cm<sup>3</sup> 0,01-n. Goldchloridlösung.

1,29 cm<sup>3</sup> verbrauchte 0,01-n. AuCl<sub>3</sub>-Lösung entsprechen 2,78 mg Tocopherol, somit Gehalt des Unverseifbaren an Tocopherol:  $\frac{2,78 \times 100}{53,05} = 5,23\%$ . Davon ist der Verbrauch des Oxydationsmittels, das zur Oxydation der Carotinoide verbraucht wird, in Abzug zu bringen, d. i. 0,23 cm<sup>3</sup> 0,01-n. AuCl<sub>3</sub>-Lösung. Der wirkliche Gehalt des Unverseifbaren an Tocopherolen beträgt daher 4,3%.

### Tocopherolbestimmung im Leinöl.

Unverseifbarer Anteil 1,00% des Öles.

Zur Titration verwendet 552,0 mg unverseifbarer Rückstand.

Potentialdiff. E in Millivolt	cm <sup>3</sup> Goldchloridlösung
210	0,00
221	1,00
232	2,00
259	3,00
410	4,00
431	5,00
443	6,00

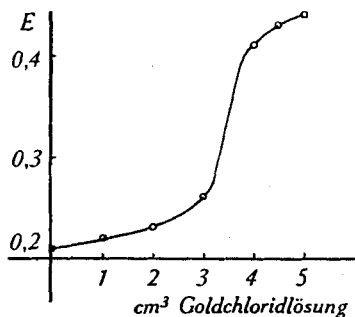


Fig. 5.

Mittelwert des Potentialsprungs: 3,50 cm<sup>3</sup> AuCl<sub>3</sub>-Lösung entsprechend 6,00 cm<sup>3</sup> 0,01-n. AuCl<sub>3</sub>-Lösung. Daraus berechnen sich 12,90 mg Tocopherole.

Somit Gehalt des Unverseifbaren an Tocopherolen . . . . . 2,34%

Gehalt des Leinöls an Tocopherolen . . . . . 0,023%

### Tocopherolbestimmung im Olivenöl.

Unverseifbarer Anteil 0,87% des Öles.

Zur Titration verwendet 491 mg unverseifbarer Rückstand.

Potentialdiff. E in Millivolt	cm <sup>3</sup> Goldchloridlösung
116	0,00
121	0,50
142	1,00
374	1,50
420	2,00
441	2,50
462	3,00

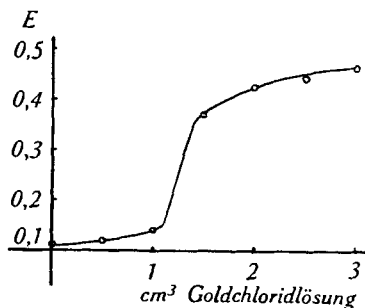


Fig. 6.

Mittelwert des Potentialsprungs: 1,25 cm<sup>3</sup> AuCl<sub>3</sub>-Lösung entsprechend 2,15 cm<sup>3</sup> 0,01-n. AuCl<sub>3</sub>-Lösung. Daraus berechnen sich 4,63 mg Tocopherol.

Gehalt des Unverseifbaren an Tocopherolen . . . . . 0,935%

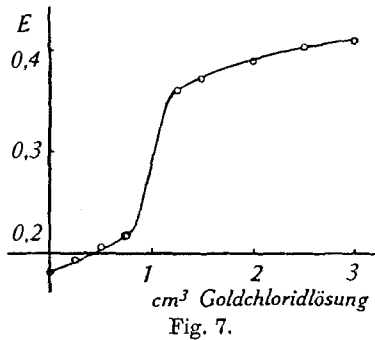
Gehalt des Olivenöls an Tocopherolen . . . . . 0,0082%

### Tocopherolbestimmung im Sesamöl.

Unverseifbarer Anteil 0,80% des Öles.

Zur Titration verwendet 591,0 mg unverseifbarer Rückstand.

Potentialdiff. E in Millivolt	cm <sup>3</sup> Gold- chloridlösung
182	0,00
193	0,25
205	0,50
224	0,75
365	1,25
376	1,50
381	2,00



Mittelwert des Potentialsprungs: 1,00 cm<sup>3</sup> AuCl<sub>3</sub>-Lösung entsprechend 1,72 cm<sup>3</sup> 0,01-n. AuCl<sub>3</sub>-Lösung, entsprechend 3,71 mg Tocopherole.

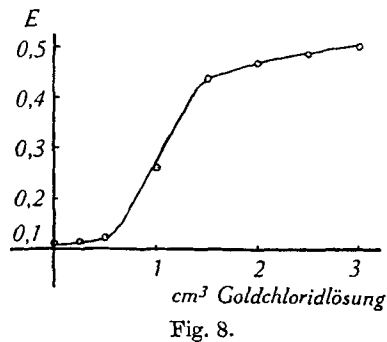
Gehalt des Unverseifbaren an Tocopherolen . . . . . 0,63%  
 Gehalt des Sesamöls an Tocopherolen . . . . . 0,0050%

### Tocopherolbestimmung in raffiniertem Cocosöl.

Unverseifbarer Anteil 0,50%.

Zur Titration verwendet 671 mg unverseifbarer Rückstand.

Potentialdiff. E in Millivolt	cm <sup>3</sup> Gold- chloridlösung
113	0,00
119	0,25
121	0,50
261	1,00
438	1,50
467	2,00
486	2,50



Mittelwert des Potentialsprungs: 1,00 cm<sup>3</sup> AuCl<sub>3</sub>-Lösung entsprechend 3,71 mg Tocopherol.

Gehalt des Unverseifbaren an Tocopherolen . . . . . 0,55%  
 Gehalt des raffinierten Cocosöls an Tocopherolen . . . . . 0,0027%



### Bestimmung der Tocopherole in unverseiftem Weizenkeimlingsöl.

Zur Titration verwendet 2,2279 g Weizenkeimlingsöl.

Potentialdiff. E in Millivolt	cm <sup>3</sup> Gold- chloridlösung
52	0,00
68	1,00
124	2,00
169	3,00
462	4,00
505	5,00
528	6,00

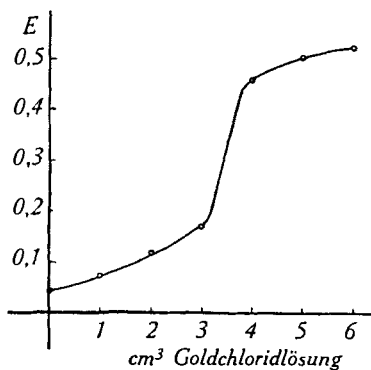


Fig. 9.

Mittelwert des Potentialsprungs: 3,50 cm<sup>3</sup> AuCl<sub>3</sub>-Lösung entsprechend 6,00 cm<sup>3</sup> 0,01-n. AuCl<sub>3</sub>-Lösung, entsprechend 12,90 mg Tocopherole.

Gehalt des Weizenkeimlingsöls an Tocopherolen 0,58%.

### Potentiometrische Titration von $\beta$ -Carotin mit Goldchlorid.

Einwaage 4,2 mg  $\beta$ -Carotin.

Potentialdiff. E in Millivolt	cm <sup>3</sup> AuCl <sub>3</sub> - Lösung
064	0,00
084	1,00
117	2,00
136	3,00
328	4,00
367	4,50
382	5,00

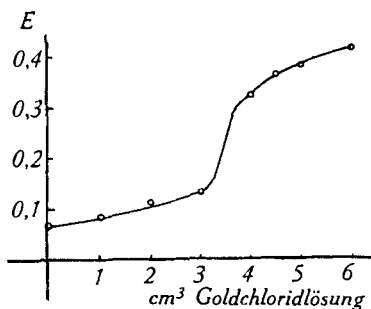


Fig. 10.

Mittelwert des Potentialsprungs: 3,5 cm<sup>3</sup> AuCl<sub>3</sub>-Lösung entsprechend 6,00 cm<sup>3</sup> 0,01-n. AuCl<sub>3</sub>-Lösung.

536 g Carotin (1 Mol) verbrauchten demnach 766,000 cm<sup>3</sup> 0,01-n. AuCl<sub>3</sub>-Lösung oder 7,66 Äquivalente.

Zürich, Chemisches Institut der Universität.