

# Entwicklung eines Untersuchungsverfahrens zur simultanen Bestimmung fettlöslicher Vitamine in Verpflegungsrationen der Bundeswehr

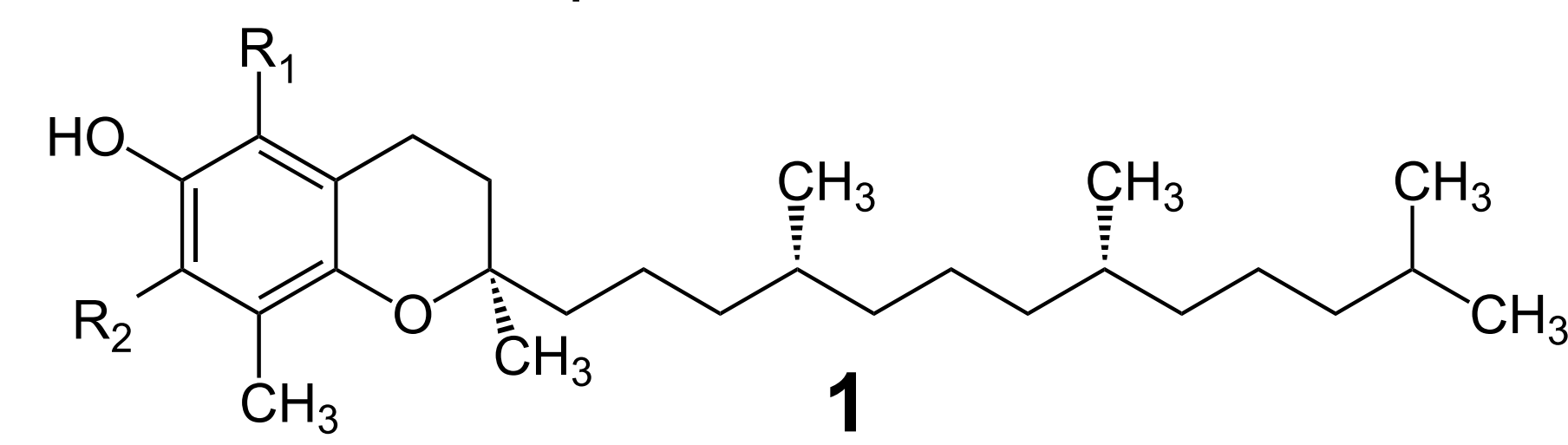


Moritz Schumacher<sup>1</sup>, Jan Lang<sup>1</sup>, Elena Sophia Holzmann<sup>1,2</sup>, Jens von der Wellen-Pawlowski<sup>1</sup>, Paul W. Elsinghorst<sup>1,3</sup>

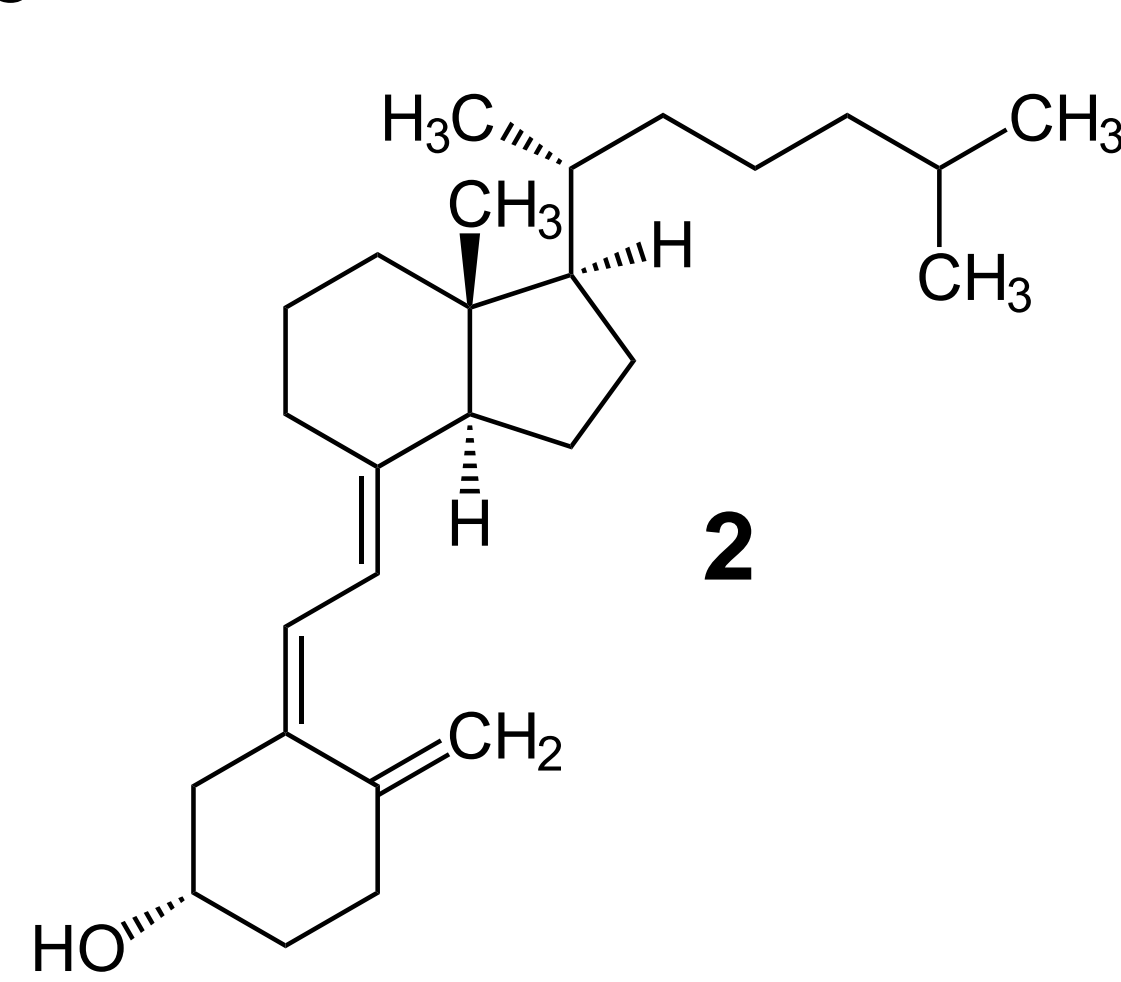
## Einleitung

Für die Aufrechterhaltung der normalen Körperfunktion des Menschen sind neben Makronährstoffen wie Kohlenhydraten, Fett und Eiweiß auch Mikronährstoffe erforderlich. Dazu zählen unter anderem Vitamine. Diese „Amine des Lebens“ definieren sich als organische Verbindungen, die essenziell für einen funktionierenden Stoffwechsel sind und mit der Nahrung zugeführt werden müssen. Zur regelmäßigen Qualitätskontrolle der Einsatzverpflegung hinsichtlich entsprechender NATO-STANAG Vorgaben wurde eine Multimethode

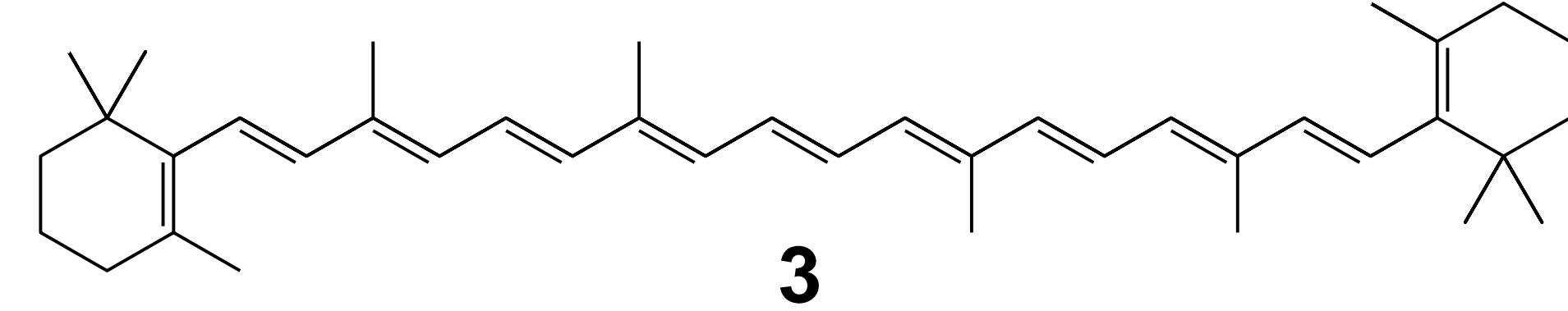
zur Bestimmung der fettlöslichen Vitamine A, D und E mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) entwickelt. Dabei wurden bereits aus der Literatur bekannte Verfahren (Einzelmethoden der amtlichen Sammlung nach §64 LFGB) so zusammengeführt und erweitert, dass alle für die Bedarfsdeckung relevanten Vitamine in einer Bestimmung erfasst werden können.



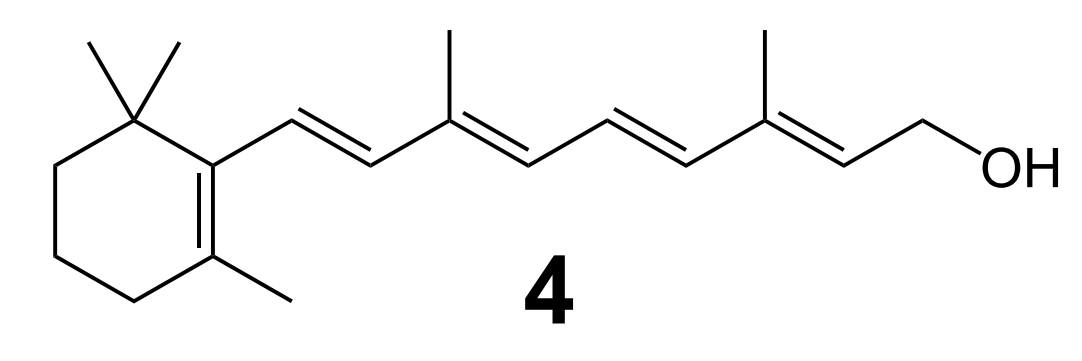
1



2



3



4

1 Tocopherole (Vitamin E; R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> = H, CH<sub>3</sub>)

2 Cholecalciferol (Vitamin D<sub>3</sub>)

3 β-Carotin (Provitamin A)

4 Retinol (Vitamin A)

## Analytik

Um einen Abbau der licht- und sauerstoffempfindlichen Analyten während der Analyse zu verhindern, muss bei der Aufarbeitung mit besonderer Sorgfalt gearbeitet werden: (I) ausschließlich Braunglas verwenden, (II) alle Lösungen mit Antioxidantien versetzen, (III) möglichst unter Sauerstoffausschluss arbeiten (Stickstoffstrom).

Säule:	Kinetex F5; 100 × 4,6 mm, 2,6 µm (Phenomenex)		
Säulentemperatur:	45 °C		
Injektionsvolumen:	5 µl		
Flussrate:	1,0 ml/min		
Eluent A:	95/5 Wasser/Tetrahydrofuran (THF) + 0,05% Essigsäure		
Eluent B:	75/25/5 Acetonitril (MeCN)/Methanol (MeOH)/THF + 0,05% Essigsäure		
Gradient:	Zeit (min)	A (%)	B (%)
	0	35	65
	1	35	65
	2	25	75
	12	25	75
	15	5	95
	20	5	95
	21	35	65
Stoptime:	23 min		
DAD:	265 nm, 292 nm, 325 nm, 450 nm Spektrum 190 bis 500 nm		
FLD:	Zeit (min)	Extinktion (nm)	Emission (nm)
	0	325	475
	5	295	330

2,0 g Probe in einen 250 ml Rundkolben einwiegen

+ 50 ml Wasser + 50 ml Ethanol + 0,25 g Pyrogallol (Antioxidans)  
+ 0,04 g Natriumsulfid (Antioxidans) + 10 ml 50% KOH<sub>aq.</sub>

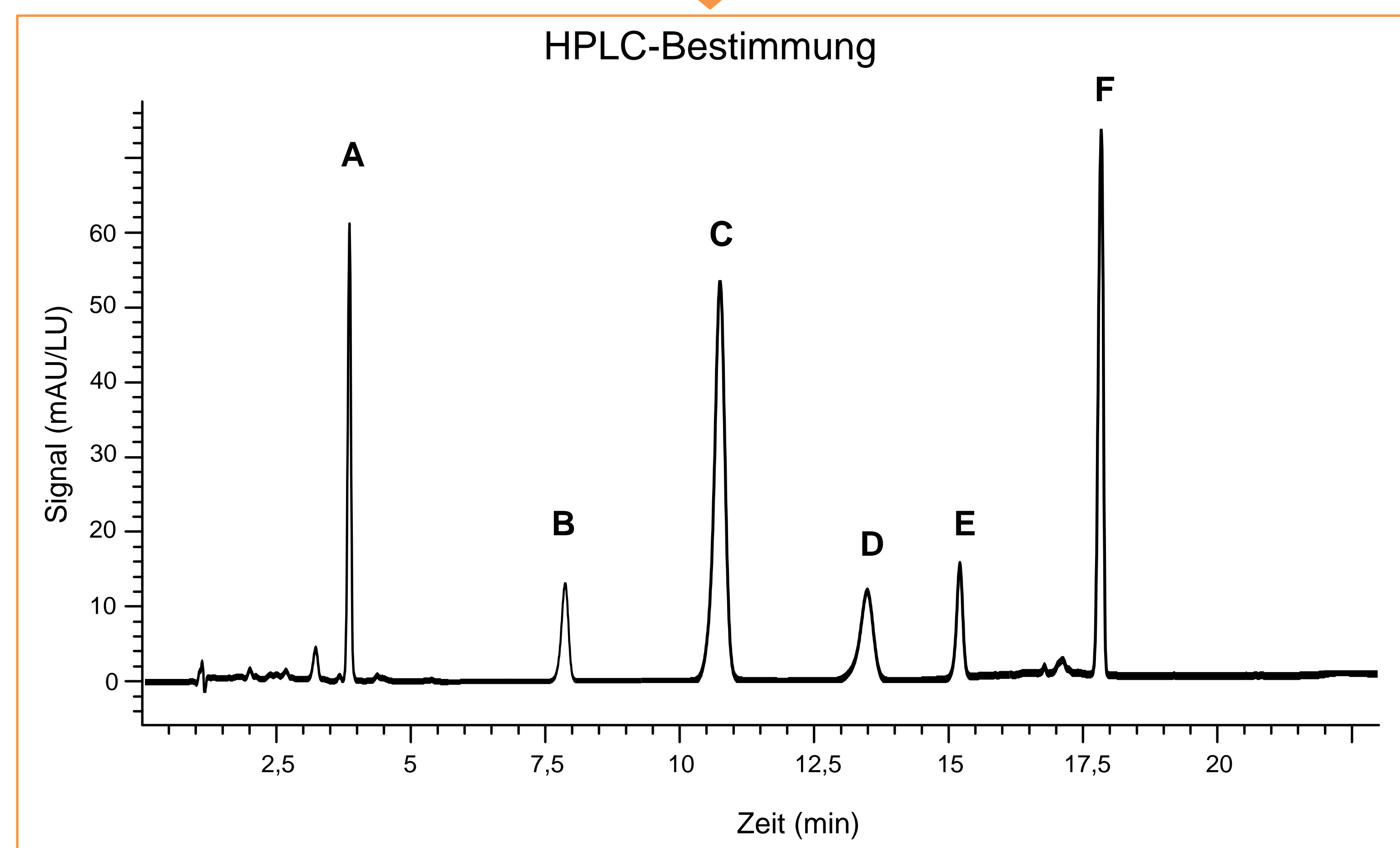
bei 83 °C für ca. 40 min kochen

im Scheidetrichter mit 3 × 60 ml Petrolether/*n*-Hexan (70/30) ausschütteln

anschließend mit 3 × 50 ml Wasser waschen

Extrakt am Rotationsverdampfer auf ca. 1 ml einengen;  
Rest mit Stickstoff abblasen

Rückstand in 2 ml MeOH/THF (50/50) aufnehmen



		relevanter Arbeitsbereich (mg/100g)	analytisch mögliche Bestimmungsgrenze (mg/100g)	Bestimmtheitsmaß	typische Wiederfindung (%)
A	Retinol	0,022 - 0,490	0,015	0,9722	87,2
B	Cholecalciferol	0,090 - 1,455	0,068	0,9998	68,7
C	δ-Tocopherol	0,030 - 0,653	0,016	0,9888	89,1
D	γ-Tocopherol	0,7 - 4,8	0,033	0,9556	94,6
E	α-Tocopherol	138 - 600	0,30	0,9279	78,1
F	β-Carotin	0,52 - 1,4	0,0040	0,9977	98,0

## Ausblick

Potential zur weiteren Optimierung der etablierten Methode besteht insbesondere bei der Aufreinigung und Abtrennung der Probe nach der Verseifung. Eine schonendere Vorabtrennung ließe bspw. die Bestimmung des empfindlichen Vitamin K zu. Dies könnte durch den Einsatz von Enzymen anstelle von ethanolischer Kalilauge erreicht werden. Das derzeit langwierige

Ausschütteln von Hand kann möglicherweise durch eine schnellere und zudem weniger aufwendige Festphasenextraktion ersetzt werden. So kann auch eine größere Probenanzahl simultan aufgearbeitet werden. Auch die Option einer massenselektiven Detektion ist in Betracht zu ziehen, die vor allem für Vitamin D<sub>3</sub> die Bestimmungsgrenze deutlich herabsenken kann.

<sup>1</sup> Zentrales Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr München, Ingolstädter Landstraße 102, 85748 Garching

<sup>2</sup> Technische Universität München, Lehrstuhl für Analytische Lebensmittelchemie, Maximus-von-Imhof-Forum 2, 85354 Freising

<sup>3</sup> Universität Bonn, Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften, Friedrich-Hirzebruch-Allee 5, 53115 Bonn