

Ю. КАУП

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКОФЕРОЛОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ

Вопросам количественного определения токоферолов в растениях посвящена достаточно обширная литература. Сводки этих работ даны в обзорах [1-3] и др.

Как известно, химические методы определения токоферолов во всех их модификациях основаны на окислительно-восстановительных свойствах токоферолов. Например, окисление токоферолов в красный ортохинон при помощи концентрированной HNO_3 [4]; обесцвечивание токоферолом 2,6-дихлорфенолиндофенола [5] или метод, при котором используют способность токоферолов восстанавливать хлорное железо до хлористого [6]. Количество же хлористого железа определяется колориметрически α, α' -дипиридиллом или ортофенантролином.

При определении токоферолов в растительном материале или пищевых продуктах, содержащих пигменты или другие легко окисляемые примеси, необходима предварительная очистка растительных экстрактов от них. Эти вещества могут быть удалены хроматографическими методами [1, 7].

Для отделения токоферолов от других легко окисляемых веществ на хроматографической колонке применяются адсорбенты: окиси алюминия [1], силикагель или диатомиты [2].

Цель настоящей работы — изучить возможности упрощения техники определения токоферолов в растительном материале с применением талька в качестве адсорбента в хроматографическом разделении токоферолов от растительных пигментов и петролейного эфира для элюирования.

Экспериментальная часть

Навеска зеленого растительного материала в 0,5—5 г (оптимальным для точности анализа количеством токоферолов в пробе является 0,05—0,2 мг) растирается в ступке с кварцевым песком до состояния однородной массы. Затем эту массу помещают в колбу, куда приливают 10—20 мл 10%-ного спиртового раствора КОН и омыляют на водяной бане при 80—85° С обратным холодильником в присутствии 50—100 мг пирогаллола в течение 30 мин. По окончании омыления содержимое колбы экстрагируют эфиром, свободным от перекиси, в количестве

10—15 мл 2—3 раза. Эфирные вытяжки собирают и промывают до нейтральной реакции по фенолфталеину. После отделения воды эфирный экстракт сушат свежепрокаленным сернокислым натрием, свободным от солей железа. Высушенный эфирный экстракт сливают в колбу, и растворитель отгоняют на водяной бане в токе углекислого газа или азота. Остаток растворяют в несколько приемов в 10—20 мл петролейного эфира с точкой кипения 60—100°; затем до 10 мл петролейного эфирного раствора переносят в хроматографическую колонку.

Исследовался и другой вариант — проведение анализа без омыления проб, путем совмещения экстракции и хроматографирования в адсорбционной колонке [8, 9]. Для этого берут 0,5—1,0 г зеленого растительного материала, который растирают с кварцевым песком в ступке в присутствии от двух- до восьмикратного количества безводного Na_2SO_4 или CuSO_4 до образования однородного порошка. Полученный порошок переносят в хроматографическую колонку и элюируют петролейным эфиром (20 мл). Каротиноиды и хлорофилл удерживаются в адсорбенте.

При проведении анализа без омыления нами получены несколько завышенные результаты; так как при омылении удаляется значительное количество посторонних, мешающих определению примесей [3].

Хроматографическое отделение токоферолов от каротиноидов проводят в адсорбционной колонке, представляющей собой суженную внизу стеклянную трубку длиной 20—25 и диаметром 1,2—1,5 см. Высота слоя адсорбента 1,5—2,0 см (~2 г). В опытах применяли медицинский тальк с содержанием 2—5% влаги. Содержание влаги существенно влияет на адсорбционные свойства талька. Для получения адсорбента, содержащего 2—5% воды, просушенный при 105° тальк с водой тщательно растирали в ступке до однородного порошка.

При наполнении адсорбционной колонки следует избегать образования пузырьков воздуха между адсорбентом и стенками трубки. Поверхность адсорбента посыпают слоем безводного сернокислого натрия. Элюируют петролейным эфиром с точкой кипения 60—100°. Для полного элюирования достаточно, как показывают наши опыты, если после прохождения всего растительного экстракта (10 мл) через слой адсорбента пропустить еще 5—10 мл петролейного эфира.

Таким образом общее количество элюата составляет 20 мл.

К элюату (20 мл) добавляют 10 мл 96%-ного этилового спирта, 0,2 мл 0,5%-ного раствора α, α' -дипиридила и 0,2 мл 0,25%-ного раствора FeCl_3 в ледяной уксусной кислоте. В течение 30 мин полученную в колбе смесь время от времени взбалтывают. При стоянии образуются два слоя. Гипофаза, при наличии токоферолов, окрашена в красный цвет. Определяют точное количество гипофазы, а интенсивность окраски измеряют на фотоколориметре при 490 мкм и сравнивают с эталонами. Опыты показывают, что процент потерь токоферолов при адсорбции в значительной степени зависит от содержания воды в адсорбенте и при применении безводного талька составляет около 30%. При использовании адсорбента, содержащего до 10% влаги, потеря составляет 5—8%. Потери токоферолов при адсорбции необходимо учитывать и вносить соответствующие коррективы при проведении анализов.

При составлении калибровочного графика эталоны также необходимо пропускать через такой же слой адсорбента, как и при проведении самого анализа. Для этого растворяют определенное количество синтетического α -токоферола в петролейном эфире и из полученного раствора отбирают пипеткой соответствующее количество раствора, содержащее, например, 30, 60, 120, 240 и 480 γ синтетического α -токоферола,

и пропускают через адсорбционную колонку. Полученные элюаты разбавляют петролевым эфиром до 20 мл, прибавляют 10 мл этилового спирта, 0,2 мл растворов α, α' -дипиридила и FeCl_3 , как указано выше, и из полученных данных составляют калибровочный график (рис. 1).

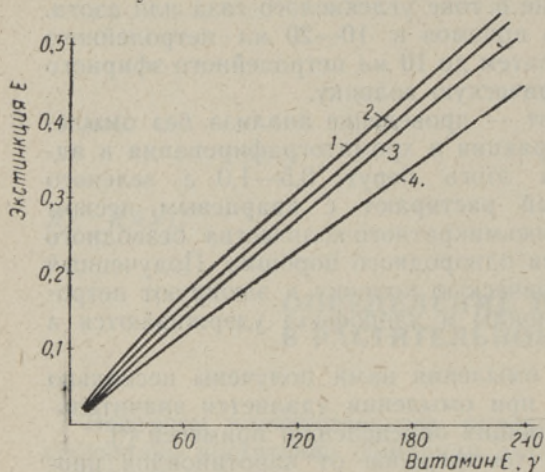


Рис. 1. Зависимость потери токоферолов при адсорбции от влажности адсорбента: 1 — эталоны, 2 — 10% H_2O , 3 — 5% H_2O , 4 — безводный.

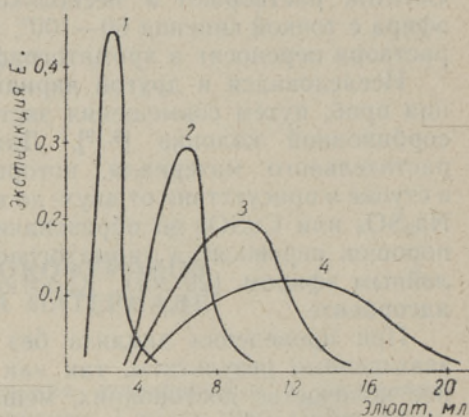
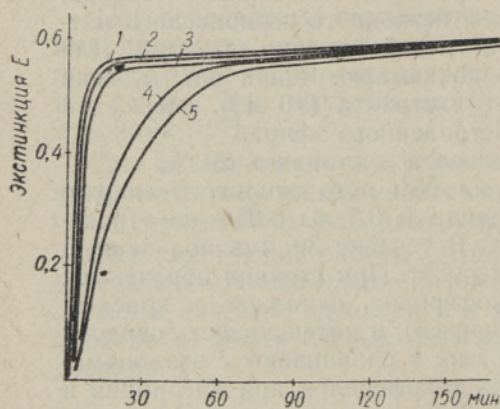


Рис. 2. Зависимость скорости элюирования токоферолов от высоты слоя адсорбента и растертой массы в колонке: 1 — 1,5 см, 2 — 5 см, 3 — 10 см, 4 — 15 см.

При проведении анализа без омыления (см. выше) токоферолы элюируют несколько медленнее и количество петролевого эфира для полного их элюирования в значительной степени зависит от высоты слоя адсорбента и растертой массы растений в колонке (рис. 2).



Наши опыты показывают, что скорость появления окраски при окислении токоферолов с FeCl_3 в присутствии α, α' -дипиридила зависит в основном от концентрации хлорного железа (рис. 3). Интен-

Рис. 3. Зависимость скорости развития окраски от количества растворов 0,25% FeCl_3 и 0,5% α, α' -дипиридила в реакционной смеси соответственно: 1 — 0,2 и 0,2 мл; 2 — 0,2 и 0,1 мл; 3 — 0,2 и 0,4 мл; 4 — 0,1 и 0,5 мл; 5 — 0,1 и 0,1 мл.

сивность окраски в течение 10—30 мин быстро возрастает. Дальнейшее окисление проходит сравнительно медленнее.

Ниже приводим результаты анализов растительного материала, проведенные описанным методом (см. стр. 45).

Заключение

Разработан метод количественного определения токоферолов в растительном материале с применением талька в качестве адсорбента для отделения токоферолов от каротиноидов.

Растительный материал	Среднее содержание токоферолов, мг/кг	
	без омыления	с омылением
Зеленый лук	6	24
Листья картофеля	18	15
Листья малины (осенью)	480	450
Силос	10	10
Травяная мука	5	5
Листья земляники (осенью)	180	150
Хвоя ели (зимой)	130	140
Листья плюща (зимой)	800	600

Результаты анализа, полученные этим методом, удовлетворительно совпадают с параллельными анализами при средней относительной ошибке не более 10—15% (точность других аналогичных методов не выше). Метод относительно прост по сравнению с другими существующими методами определения содержания витамина Е в растительном материале.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gyorgy P., Rubin S. H., *Chemical Methods of Vitamin Assay*, Vitamin Methods, New York, 1950.
2. Девятнин В. А., *Методы химического анализа в производстве витаминов*, М., 1964.
3. Analytical Methods Committee, *The Determination of Tocopherols in Oils, Foods and Feeding Stuffs*, *Analyst*, 84, No. 999, 356 (1959).
4. Furter M., Meyer R. E., *Helv. Acta*, 22, 240 (1939).
5. Scudi J. V., Buhs R. P., *J. Biol. Chem.*, 1, 1946 (1942).
6. Emmerie A., Engel C., *Rec. Trav. Chim.*, 57, 1351 (1938).
7. Booth V. H., *Analyst*, 88, 627 (1963).
8. Луцневская Г. М., Савинов Б. Г., *О методах количественного определения каротина и витамина Е в растениях*, *Витамины*, Киев, 1953, с. 30.
9. Вильямс В. В., Груздева Е. Ю., Докл. Московской с.-х. акад. им. К. А. Тимирязева, вып. 109, 153 (1965).

Научно-исследовательский институт
земледелия и мелиорации Эстонской ССР

Поступила в редакцию
20/IV 1967

J. KAUP

TOKOFEROLIDE MÄÄRAMINE TAIMSES MATERJALIS

Tokoferoolid eraldati taimsetest pigmentidest kolonnkromatograafia teel, kasutades adsorbendina 2—5%-lise veesisaldusega talki ja elueerimiseks petrooleetrit keemistäpiga 60—100° C.

Üksikuid analüüsietappe, nagu tokoferoolide adsorptsioonilist kadu, elueerimise kiirust ja värvusreaktsiooni tekke kiirust, uuriti lähemalt.

Väljatöötatud meetodit saab analüüsides tegemiseks kasutada kas seebistamisega või ilma.

J. KAUP

THE DETERMINATION OF TOCOPHEROLS IN PLANT MATERIAL

A method is described for the determination of tocopherols in plant material. The procedure of tocopherol analysis includes three main stages: 1) Saponification of the plant sample (1—5 g) with 10 per cent of KOH in ethanol. 2) Purification extract by elution with light petroleum (boiling range 60 to 100°) from a column of talcum powder containing 2—5 per cent of water. 3) Determination of tocopherols with FeCl₃ and *a,a'*-dipyridyle.