

## Analytik von sekundären Pflanzenstoffen IV: Vitamin E

**Dr. Roland Wacker**

BioTeSys GmbH, Esslingen

### Matrixkompetenz ist bei BioTeSys ein großer Vorteil

Vitamin E ist ein integraler Bestandteil einer jeden gesunden Ernährung. Es wird in Zellmembranen eingebaut und ist ein wichtiges Antioxidans. Gelegentlich wird der Begriff Vitamin E synonym für  $\alpha$ -Tocopherol verwendet, tatsächlich aber beschreibt er eine ganze Gruppe von Pflanzen produzierter Derivate des Tocols. Die wichtigsten Vertreter unter ihnen, die Tocopherole und Tocotrienole seien im Nachfolgenden beschrieben.

### Tocopherole

Die zu den Terpenoiden gehörenden Tocopherole kommen in der Natur als ölige Flüssigkeiten vor. Sie sind Derivate des Chromans mit einer hydrophoben Isoprenoidseitenkette in 2-Stellung. Für den Menschen am wichtigsten ist  $\alpha$ -Tocopherol. Tocopherole dienen als wichtige natürliche Antioxidantien in Zellen, wo sie in den Membranen ungesättigte Fettsäuren vor Lipidperoxidation schützen. Die den Tocopherolen nachgesagten positiven Eigenschaften reichen vom Schutz vor Coronarerkrankungen und Krebs über die Verlangsamung des Alterungsprozesses bis zur Verbesserung der Durchblutung und Schutz vor der Alzheimerschen Krankheit.

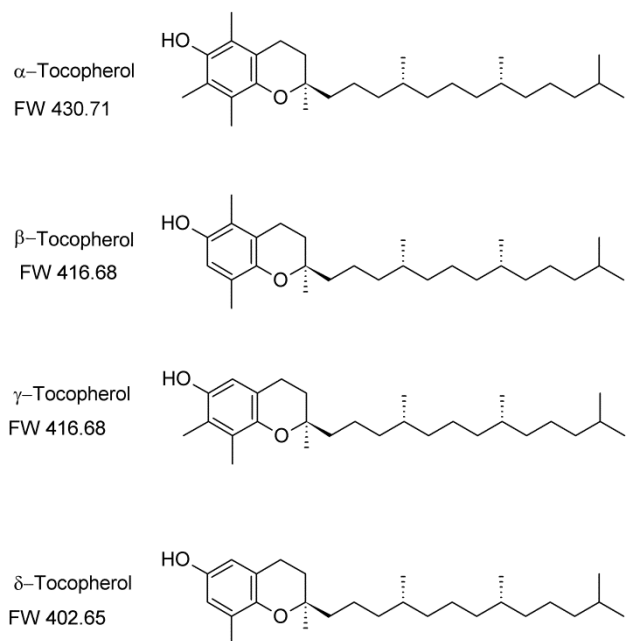


Figure 1: Die Tocopherolisomere –  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  – sind Derivate des Chromans und unterscheiden sich durch den Grad der Methylierung in den Positionen 5 und 7 des Chromansystems.

Als Zusatzstoffe E 306-309 finden  $\alpha$ -Tocopherol und seine Derivate Verwendung als Antioxidantien in Lebensmitteln und Kosmetika.

## Analyse

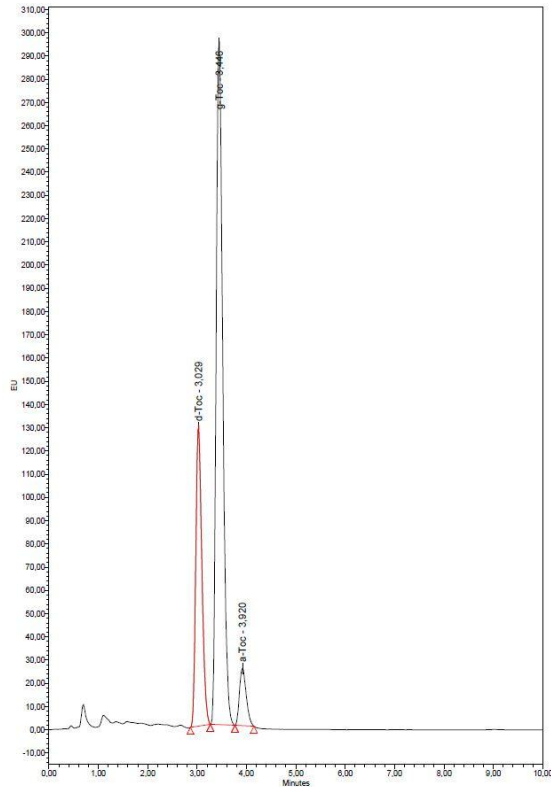


Figure 2: Tocopherole einer Lebensmittelprobe in der RP-HPLC.

Die Analyse von  $\alpha$ -Tocopherol bzw. Isomeren und Derivaten ist relativ leicht mit reversed phase HPLC oder Normalphasen HPLC möglich und dank der physikochemischen Eigenschaften kann zur Detektion die hoch sensitive und selektive Fluoreszenz der Moleküle genutzt werden. So kommt der matrixangepassten Extraktion und Probenvorbereitung die größte Bedeutung zu.

Die Tocopherole sind zwar relativ temperaturstabil dafür aber lichtempfindlich. Aufgrund ihrer ausgeprägten Hydrophobizität müssen sie meist in extremen Matrices analysiert werden: entweder die die Analyten umgebende Matrix ist sehr unpolar, z. B. in Ölen und Fetten oder Cremes. Hier kommt aufgrund der Laufmittelkompatibilität meist eine Normalphasenchromatographie zur Anwendung, die Probenvorbereitung kann dabei nämlich recht

einfach gestaltet werden: Lösen der Probe in n-Hexan/ bzw. dem Eluent, Klärung der Probe durch Filtration und Injektion. Soll mittels RP-HPLC analysiert werden, so muss der Extrakt unter schonenden Bedingungen eingetrocknet und in einem polarerem Lösungsmittel aufgenommen werden. Im anderen Fall wurde das Produkt meist mit Hilfe moderner Solubilisierungstechniken und/oder Formulierungen geschaffen und eine hydrophile Matrix gebildet, z. B. in Getränken oder Nahrungsergänzungsmitteln. Hier ist für die Analyse die richtige Reihenfolge und Abstimmung der Extraktionslösungsmittel auf die jeweilige Probenmatrix oft von entscheidender Bedeutung. Fig. 2 zeigt das Chromatogramm einer RP-HPLC-Trennung von Tocopherolen in einer Lebensmittelprobe. Das Profil des Chromatogrammes und Isomerenmuster kann z. B. dazu benutzt werden, Rückschlüsse auf Umstände der Probenherkunft, Stabilität und Umgebungsbedingungen zu ziehen.

Wiederum ein anderes Vorgehen erfordern biologische Proben wie Plasma oder Zellextrakte. Meist müssen die in diesen Probenarten enthaltenen Proteine gefällt werden, da sie sonst die Trennung erheblich stören und zudem unter Anderem die Trennsäule schädigen können. Der Fällungsschritt ist kritisch, weil beim Ausfällen des störenden Proteins die Gefahr von Verlusten an den Analyten besteht. Das Lösungsmittel bzw. die Lösungsmittelmischung zum Zeitpunkt der Fällung muss deshalb sorgfältig ausgewählt und die Methode validiert sein, ansonsten drohen Unterbestimmungen einzelner oder aller zu analysierenden Verbindungen.

### Tocotrienole

Die Tocotrienole sind im Prinzip die in der Seitenkette dreifach ungesättigten Derivate der Tocopherole, die Isomeren  $\alpha$  -  $\beta$  werden entsprechend gleich benannt. Durch die drei Doppelbindungen steigt jedoch das antioxidative Potential der Verbindungen gegenüber den Tocopherolen sehr stark an.

Während in der Vergangenheit meist ausschließlich die Tocopherole, insbesondere  $\alpha$ -Tocopherol, Hauptobjekte von Vitamin-E-Studien waren, zeichnet sich in den letzten Jahren

deutlich ein Trend zur Berücksichtigung auch der Tocotrienole in Untersuchungen ab, zumal sich für alle 8 Formen sehr verschiedene Aktivitäten und Bedeutungen für den Organismus abzuzeichnen begannen.

Die Tocotrienole verhalten sich chromatographisch wie „hydrophobere“ Tocopherole, d. h. sie eluieren in der RP- HPLC mit größeren Retentionszeiten.

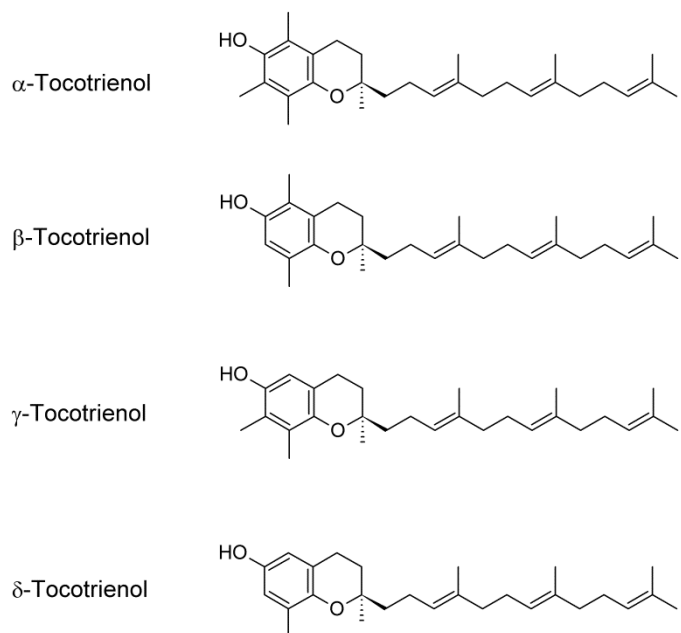


Figure 3: Die Tocotrienolisomere besitzen ein noch deutlich höheres antioxidatives Potential als die korrespondierenden Tocopherole, die Bioverfügbarkeit ist dagegen geringer.

Die Trennung von Tocopherolen und Tocotrienolen ist chromatographisch relativ einfach und sehr empfindlich möglich. Allerdings ist es dabei um so wichtiger, die Eigenschaften der Matrix sowie das Verhalten der Analysenmethode genau zu kennen und das Verfahren der jeweiligen Probe optimal anzupassen. Gelingt das auch noch schnell und effizient, nennen wir bei BioTeSys das „Matrixkompetenz“.

Vitamin E gehört bei BioTeSys zu den sehr häufig nachgefragten Analyten, in Lebensmitteln, Pflanzenextrakten oder auch im Rahmen von Studien mit physiologischen Proben wie Blut oder Zellen. Wenn auch Sie Interesse an einer Tocopherol- oder Tocotrienol-Analyse haben, sprechen Sie mit uns. Wir werden Sie gerne kompetent bei Ihrer Fragestellung beraten. Selbstverständlich behandeln wir alle Informationen, Proben- und Analysendaten mit absoluter Vertraulichkeit.

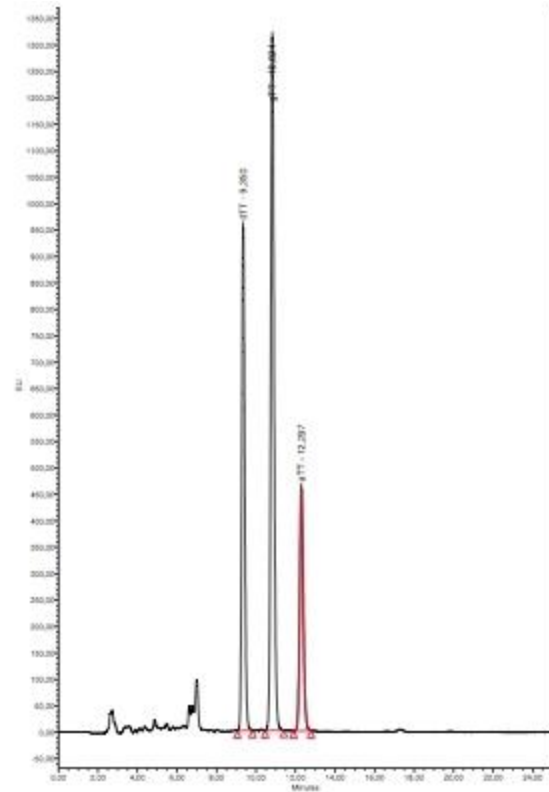


Figure 4: Chromatogramm eines Tocotrienol-Gemischs als Bestandteil eines Nahrungsergänzungsmittels