

FISKERIDIREKTORATETS SKRIFTER

Serie Teknologiske undersøkelser

*(Reports on Technological Research concerning Norwegian Fish Industry)*

Vol. II. No. 9.

Published by the Director of Fisheries

Bestemmelse av vitamin A  
i traner og vitaminoljer

*En sammenliknende undersøkelse  
av forskjellige metoder*

Av

OLAF R. BRÆKKAN og GEORG LAMBERTSEN

*med teknisk assistanse av*  
SVERRE HOPEN

1 9 5 2

---

*A. s John Griegs Boktrykkeri, Bergen*



### *Innledning.*

I 1934 anbefalte »The Second Conference on Vitamin A Standardization« den internasjonale enhet for vitamin A definert som den biologiske virkning av 0,6  $\mu\text{g}$   $\beta$ -karotin. Videre ble anbefalt benyttelse av omregningsfaktor 1600 ved spektrofotometriske bestemmelser. Siden førte den fremskredne utforskning av vitamin A's kjemi til at en revisjon ble påkrevd, men da krigen kom og hindret internasjonalt samarbeid, var det først i 1949 at verdenshelseorganisasjonen utnevnte og sammenkalte »The Subcommittee on Fat-Soluble Vitamins«. Subkomiteens anbefalinger er meddelt i WHO Technical Report, Series No. 3 (1950).

Subkomiteen anbefaler at den internasjonale enhet defineres som aktiviteten av 0,344  $\mu\text{g}$  vitamin A-acetat. Denne mengde svarer til 0,3  $\mu\text{g}$  vitamin A-alkohol.

Enheten ble øyensynlig valgt med kontinuitet for øye, og rotteforsøk i stor skala i England og U.S.A. viste overensstemmelse mellom den gamle og nye enhet. Uavhengige forsøk i Sverige bekrefter denne kontinuitet (1,7).  $\beta$ -karotin er en kjemisk mer labil forbindelse enn vitamin A-acetat, og flere land hadde for lengst innført forskjellige »Reference Standards« i form av standardiserte torskelervertraner eller oppløsninger av vitamin A-acetat i egnede oljer. Opptakelsen av krystallinsk vitamin A-acetat som internasjonal standard må således ses som et naturlig og velkomment framskritt.

Som resultat av samarbeid mellom en rekke laboratorier ga analyser av krystallinske vitamin A-preparater  $E_{1\text{ cm}}^{1\%} (325\text{ m}\mu) = 1750$  for vitamin A-alkohol. Da 0,3  $\mu\text{g}$  vitamin A-alkohol er definert som internasjonal enhet, gir dette omregningsfaktor  $\frac{10^6}{0,3 \times 1750} = 1900$ . For vitamin A-acetat ble funnet  $E_{1\text{ cm}}^{1\%} (325\text{ m}\mu) = 1525$ . Da 0,344  $\mu\text{g}$  er definert som internasjonal enhet, gir dette omregningsfaktor  $\frac{10^6}{0,344 \times 1525} = 1900$ .

Vi ser således at den nye omregningsfaktor 1900, er en naturlig konsekvens av enhetens definisjon.

Subkomiteen gir videre en utførlig redegjørelse for anvendelsen av omregningsfaktor 1900, og understreker at den forutsetter at de spektrofotometriske målinger er spesifikke. Da de fleste vanlig analyserte oljer inneholder stoffer med fremmedabsorpsjon i den ultraviolette del av spektret omkring 325—328  $m\mu$ , finner komiteen det nødvendig:

1. å spesifisere de betingelser hvorunder faktoren kan anvendes,
- og 2. å anføre hvordan man, i prinsippet, kan korrigere for fremmedabsorpsjon.

Betingelsene for punkt 1. er at abs. max. ligger innen området 325—328  $m\mu$ , og at absorpsjonskurven stemmer nært overens med kurven for den internasjonale standard målt under samme betingelser mot en oppløsning av den olje den er oppløst i. Absorpsjonen i området 310—350  $m\mu$  uttrykt som desimalfraksjon av abs. max. skal ikke avvike mer enn 0,02 mellom standard og prøve. Det henvises til absorpsjonskurver for vitamin A-acetat og vitamin A-alkohol uttrykt som ovenfor anført og publisert av Morton & Stubbs. (2).

Om betingelsen for punkt 1. ikke oppfylles, men abs. max. ligger mellom 325—328  $m\mu$ , anbefales korreksjon etter en geometrisk framgangsmåte (3, 4, 5). Ligger abs. max. derimot utenfor området 325—328  $m\mu$ , som f.eks. ved hvalleveroljer, anbefales kromatografering, selektiv ekstraksjon eller fotokjemisk destruksjon av vitamin A som analytisk hjelpemiddel.

Det er nå 2 år siden subkomiteens anbefalinger forelå, og man kan slå fast at det i dag foreligger mindre internasjonal overensstemmelse mellom analysemetoder i de forskjellige land enn tidligere. Vi har derfor funnet det hensiktsmessig å redegjøre for stillingen i dag, samt meddele våre erfaringer med hensyn til de forskjellige metoder i den utstrekning vi har materiale for hånden.

Det første land som la subkomiteens anbefalinger til grunn for sine offisielle metoder, var U.S.A.. U.S.P. XIV (6) foreskriver forsåpning etter spesifisert framgangsmåte, det uforsåpbare løses i isopropanol, og målinger foretas ved bølgelengdene 310  $m\mu$ , 325  $m\mu$  og 334  $m\mu$ , hvorpå korrigeres etter formel:

$$E_{\text{korrigeret}} = 7 \cdot E_{325m\mu} = 2,625 \cdot E_{310m\mu} = 4,375 \cdot E_{334m\mu}$$

Det kreves videre parallell bestemmelse etter Carr-Price's metode som identifikasjonsprøve, og forholdet mellom spektrofotometrisk og kolorimetrisk bestemmelse skal ligge mellom 1 og 1,30.

Også Storbritannia har i 1951 Addendum til B.P. 1948 spesifisert ny offisiell metode for bestemmelse av vitamin A. Bestemmelsene

følger i prinsippet subkomiteens anbefalinger. Som oppløsningsmiddel ved målingene benyttes cyclohexan. Ved korreksjon avleses for esterformen ved bølgelengdene 312,5 m $\mu$ , 327,5 m $\mu$  og 337,7 m $\mu$ , og beregning skjer etter formelen:

$$E_{327,5\text{m}\mu(\text{korr})} = 7(E_{327,5\text{m}\mu} - 0,404 E_{312,5\text{m}\mu} - 0,595 E_{337,7\text{m}\mu})$$

Når målingene foretas etter forsåpning, som foreskrevet for medisntran, avleses ved bølgelengdene 312,5 m $\mu$ , 326,5 m $\mu$  og 336,7 m $\mu$ . Beregning skjer etter formel:

$$E_{326,5\text{m}\mu(\text{korr})} = 7(E_{326,5\text{m}\mu} - 0,422 E_{312,5\text{m}\mu} - 0,578 E_{336,7\text{m}\mu})$$

Bølgelengdene for avlesning er altså litt forskjellige fra subkomiteens anbefalinger, som var Morton & Stubbs kurve og formler (2).

Holland har ingen offisiell *foreskrevet* metode for vitamin A bestemmelser. Man søker å gjennomføre bestemmelsene slik at man oppnår det påliteligste resultat for vitamin A-innholdet. De to viktigste offisielle laboratorier, Central Institute for Nutrition Research og State Institute of Public Health, benytter imidlertid samme metoder. Det foretas *alltid* forsåpning, hvorpå abs. kurven for det uforsåpbare måles i isopropanol. Hvis denne oppfylder kravene under punkt 1 i subkomiteens anbefalinger, benyttes omregningsfaktor 1900 direkte. Hvis kurven derimot ikke oppfylder kravene, foretas kromatografering etter en modifisert Gridgeman metode. Vitamin A fraksjonen skal oppfylle ovenanførte krav, og faktor 1900 benyttes direkte. Bestemmelse etter Carr-Price reaksjon utføres alltid på samme fraksjon, og det forlanges 10 % overensstemmelse mellom de oppnådde verdier. Det er å bemerke at Morton-Stubbs korreksjonsmetode ikke er akseptert.

Ingen av de skandinaviske land har ennå foretatt endringer av gjeldende offisielle metoder for medisntran, men et utvalg utarbeider for tiden forslag til den nordiske farmakopøkomité.

Tilbake står kun å nevne at det for handelsanalyser ennå i stor utstrekning forlanges analysert etter den gamle internasjonale metode med faktor 1600. For å tilfredsstille eksportnæringens krav til analyser ved salg til forskjellige land, har Vitaminlaboratoriet i det forløpne år måttet foreta vitamin A-analyser etter hele 8 mer og mindre forskjellige metoder.

Før vi går over til de praktiske resultater, vil det være på sin plass å se litt nærmere på Morton & Stubbs korreksjonsmetode, da det synes å råde en del uklarhet med hensyn til forståelsen av dens prinsipp og hva den innebærer. Med hensyn til den matematiske utledning henvises til Morton & Stubbs originalpublikasjon (3). Videre finnes en rekke publikasjoner som beskriver anvendelsen av metoden og drøfter dens presisjon (8, 9, 10, 11).

Den geometriske korreksjonsmetode betinger at man kjenner abs.

kurven for rent trans-vitamin A, da denne danner grunnlaget for den matematiske oppsetning av korreksjonsformelen. Som en konsekvens av at vitamin A alkohol og vitamin A-ester har forskjellige kurver, og at kurvene igjen varierer med oppløsningsmidlet, finner vi alltid i litteraturen en korreksjonsformel for vitamin A-alkohol og en for vitamin A-ester for hvert oppløsningsmiddel.

Forutsatt at vi således har en teoretisk holdbar korreksjonsformel, vil korreksjonsmetodens nøyaktighet avhenge av riktigheten av to antakelser, nemlig at vitamin A i prøven gir en abs. kurve som er identisk med kurven for rent vitamin A i det måleområde som er lagt til grunn for korreksjonsformelen, og at fremmedstoffenes absorpsjon er lineær i de tre punkter som svarer til formelens valgte bølgelengder. Om ikke disse betingelser oppfylles, vil anvendelsen av korreksjonsmetoden føre til større eller mindre feil i resultatene.

De absorpsjonskurver for rent trans-vitamin A-acetat og ren trans-vitamin A-alkohol som subkomiteen henviser til, er Morton & Stubbs kurver (2). Senere undersøkelser viser at kurvene ikke er så brede omkring abs. maks. som anført (12, 13). Cama, Collins & Morton (14) har nylig publisert reviderte korreksjonsformler ut fra målinger av nye, renere vitamin A-preparater av såvel naturlig som syntetisk opprinnelse. Vi kan således fastslå at de kurver som subkomiteen henviser til som uttrykk for absolutte verdier, ikke er riktige, og dermed vil heller ikke de anbefalte korreksjonsformler for den såkalte WHO's metode være teoretisk holdbare. På den annen side kan korreksjonsformlene for såvel USP XIV-metode som B.P. Addendum 1951-metode geometrisk utledes fra disse nye abs. kurver, og synes således teoretisk sett å være begrunnet.

Som ovenfor nevnt ble det stilt opp to antakelser som må oppfylles om korreksjonsmetoden skal gi riktige resultater. Først forlanges at vitamin A i prøven skal gi en abs. kurve som faller helt sammen med den kurve for rent trans-vitamin A som er lagt til grunn for korreksjonsformelen. Imidlertid foreligger vitamin A i de fleste oljer såvel av naturlig som syntetisk opprinnelse som en blanding av to isomere former, trans-vitamin A og cis- eller neovitamin A. Abs. kurvene for disse to stereoisomere former faller ikke sammen. Robeson & Baxter (15) fant således at abs. max. for neovitamin A var forskjøvet 3  $m\mu$  mot høyere bølgelengder i forhold til abs. max. for trans-vitamin A. Det samme var tilfelle med hele høyre side av kurven. Dalvi & Morton (16) har bekreftet dette forhold. Det synes som om begge former er biologisk likeverdige. Chatain & Debodard (17) oppgir de hittil høyeste ekstinksjonskoeffisienter for neovitamin A, nemlig  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  (328  $m\mu$  = 1720 i isopropanol

og 1650 i cyclohexan, mot henholdsvis 1850 og 1760 for ren trans-vitamin A. De samme forfattere påpeker også unøyaktighetene som oppstår ved ukritisk benyttelse av korreksjonsformler. Av disse data framgår det at når den undersøkte prøve inneholder neovitamin A, hva de fleste fiskeleveroljer gjør, vil anvendelse av korreksjonsmetoder føre til for lave resultater, m.a.o. en undervurdering av oljens vitamin A-verdi. Vanligvis holder traner 30—40 % neovitamin A (15,18). For å illustrere den praktiske betydning, kan anføres at en 100 % neovitamin A-prøve vil korrigeres ned 20 % i isopropanol og 14 % i cyclohexan.

La oss så se på den andre antakelsen som må oppfylles, at fremmedstoffers abs. kurve er lineær i punktene for de tre bølgelengder det måles ved. Dette holder neppe for noen traner eller vitaminoljer, skjønt det ganske sikkert ofte tilnærmet oppfylles under bestemte betingelser. Eksempelvis vil vitamin A<sub>2</sub>, anhydrovitamin A, epoksyder og kitol, hvorav en eller flere finnes i de fleste oljer, lede til at fremmedabsorpsjonen ikke er lineær i det kritiske område, og dermed være en feilkilde ved korreksjonsmetoden.

Til slutt skal påpekes et par praktiske vanskeligheter som gir en betydelig feilkilde ved anvendelse av korreksjonsmetoder. Spektrofotometeret må være meget nøyaktig kalibrert med hensyn til bølgelengdene. Ved måling av abs. maksimum skjer disse på en del av kurven som er relativt flat over et bølgeområde på 2—3  $m\mu$ , mens de to andre avlesninger skjer på den bratteste del av vitamin A's kurve. Selv en liten unøyaktighet med hensyn til bølgelengden gir seg store utslag ved måling og korreksjonsberegning. Omvendt må man alltid stille inn bølgelengdeskalaen meget nøyaktig for disse punkter. Gridgeman (11) gir en meget utførlig drøftelse av de forskjellige praktiske feilkilders innflytelse på resultatene ved anvendelse av Morton-Stubbs korreksjon.

Vi fremlegger her våre egne praktiske erfaringer ved anvendelsen av de nye analysemetoder. I det forløpne år har vi bestemt vitamin A etter 15 forskjellige metoder, idet vi har tatt Cama et. al.'s (14) korreksjonsformler opp til sammenlikning med de offisielle og halvoffisielle metoder vi rutinemessig benytter på handelsanalyser. 35 tilfeldig valgte traner og vitaminkonsentrater er undersøkt parallelt. Resultatene er samlet i tabellene 1—5 (s. 13—19). Vi har funnet det hensiktsmessig først å framlegge mer utførlige resultater fra anvendelsen av de 3 foreskrevne metoder: WHO's metode, U.S.P. XIV-metode og B.P.Add.-51-metode. I tabellene 4—5 er medtatt de nødvendige verdier for en sammenliknende vurdering av samtlige forsøkte metoder.

*Sammenlikning av resultatene ved bestemmelse av vitamin A etter den internasjonale metode av 1934 og den nye WHO's metode.*

(Se også tabell 1, side 13).

Før WHO's anbefalinger av 1950 forelå, ble vitamin A i alminnelighet bestemt ved måling av  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  (328 m $\mu$ ) for det uforsåpbare løst i alkohol og omregning til I. E. ved hjelp av faktor 1600. Det var imidlertid før den nye metode forelå, klart at abs. maks. for vitamin A alkohol ligger ved 325 m $\mu$  målt i alkoholisk oppløsning, og dette punkt var alminnelig benyttet ved bestemmelsen av vitamin A. Vi har av praktiske grunner bestemt  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  (325 m $\mu$ ), da vi dermed får inkludert såvel ukorrigert som korrigeret E-verdi i tabellen. Resultatene fra et utvalg prøver er samlet i tabell 1. Det framgår at det ikke er noe lovmessig forhold mellom resultatene etter de to metoder. Dette framgår klartest av variasjonen i forholdet  $E_{325\text{m}\mu(\text{korrt})}/E_{325\text{m}\mu}$  som i de foreliggende 38 analyser varierer mellom 0,628 og 0,973, med middel 0,833. Denne er et uttrykk for at oljene er av forskjellig opprinnelse, og med til dels sterkt varierende innhold av fremmedabsorberende stoffer. Man ser at direkte anvendelse av omregningsfaktor 1600 på den avleste E-verdi, kan gi sterkt misvisende resultater. Forandringer uttrykt på basis av enheter er anført i % i siste kolonne. Videre skal påpekes at  $\pm$  avvikelse fra middel E-verdi er maks.  $\pm 2,2$  % før korreksjon og maks.  $\pm 12$  % etter korreksjon. For å belyse betydningen av dette kan anføres at mens 2 laboratorier kan vente å få verdier som avviker maks. 4 % før korreksjon, kan ventes hele 24 % avvikelse mellom resultatene etter korreksjon.

*Sammenlikning av resultatene ved bestemmelse av vitamin A etter den tidligere uoffisielle spektrofotometriske metode benyttet i U.S.A. og etter den nye U.S.P. XIV-metode. (Se også tabell 2, s. 14)*

Inntil U.S.P. XIV-metoden for bestemmelse av vitamin A ble offisiell, var alle tidligere metoder basert på biologisk bestemmelse etter rottevekstmetoden. Ved handelsanalyser ble det imidlertid for oljer benyttet spektrofotometrisk bestemmelse, idet  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  (328 m $\mu$ ) for oljen eller det uforsåpbare ble målt, og omregning til U.S.P.-enheter foretatt ved hjelp av faktor 2000. Siden 1. februar 1950 er den nye U.S.P. XIV-metode dessuten opptatt som offisiell A.O.A.C.-metode, og således gjeldende for fortraner i U.S.A. I tabell 2 er satt opp resultatene fra



analysene av en del prøver. Resultatene viser helt tilsvarende bilde som for WHO's metode med abs. alkohol som oppløsningsmiddel, men betraktes forholdet  $E_{325\text{m}\mu(\text{korr.})}/E_{325\text{m}\mu}$  framgår at korreksjonene er prosentvis større. Variasjonen er mellom 0,651 og 1,016 med middelverdi 0,811. Dette skyldes at vi for WHO's metode har benyttet M. & S. første korreksjonsformler som anbefalt av subkomiteen. Siste rubrikk viser % fall i vitamin A-innholdet uttrykt i enheter etter den tidligere uoffisielle metode med faktor 2000 og den nye med korreksjon og faktor 1900. Som en naturlig følge av at korreksjonene reduserer E-verdiene, og dertil den nye faktor er 5 % lavere enn den tidligere benyttede, vil alle analyser gi lavere verdier etter den nye U.S.P.-metode. I prinsippet uttrykker disse tall at man nå i U.S.A. forlanger en større vitamin A-enhet enn den som tidligere ble uoffisielt anerkjent. Dette har bl.a. ført til at mens vanlig New-Foundland og kanadisk torskelevertran tidligere oppfylte U.S.P.'s krav til 850 enheter vitamin A, er større deler av produksjonen utelukket fra det amerikanske marked etter den nye metode (20). Det samme blir også forholdet for den vitamin A-fattigste del av norske gadustraner.

Foreløpige erfaringer med U.S.P. XIV-metoden er meddelt av Morgareidge et.al. (19). Feilgrensen oppgis til ca.  $\pm 8\%$  av det riktige middeltall for en enkelt bestemmelse i 19 av 20 analyser. Som det framgår av tabell 2 gir parallellene for 38 forskjellige analyser overensstemmelse innen  $\pm 2\%$  før korreksjon av E-verdien bestemt i det uforsåpbare, mot  $\pm 6\%$  etter korreksjon.

*Sammenlikning av resultatene ved bestemmelse av vitamin A etter B.P 48-metode og B.P. Add. 51-metode. (Se også tabell 3, s. 15).*

Den britiske farmakopø 1948 beskriver spektrofotometrisk bestemmelse av vitamin A ved måling av  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  (328 m $\mu$ ) i cyclohexan, og benyttelse av omregningsfaktor 1600. P.B. Addendum 1951 foreskriver en ny metode, hvor subkomiteens anbefalinger et lagt til grunn. I tabell 3 er samlet resultatene av en del analyser etter begge metoder. Det framgår at forholdet  $E_{326,5\text{m}\mu(\text{korr.})}/E_{326,5\text{m}\mu}$  er lavere enn for WHO's metode og U.S.P. XIV-metode, nemlig mellom 0,610 og 0,889, middelverdi 0,762. Dette vil si at korreksjonene blir større. Av siste rubrikk framgår at uttrykt i enheter gir den nye metode med få unntakelser et fall i verdiene på opp til 25 %. Adamson et.al. (10) og Gridgeman (11) har drøftet metodens nøyaktighet. På grunnlag av statistisk analyse av resultatene fra 7 forskjellige laboratorier, oppgir de feilgrensen til

ca.  $\pm 15\%$  etter anvendelse av Morton & Stubbs' 3-punkt-korreksjon, mens tilsvarende feilgrense uten korreksjon er ca.  $\pm 2\%$ . Som det framgår av tabell 3 er i det foreliggende arbeid maks. avvikelse mellom paralleller  $\pm 2,5\%$  før korreksjon mot  $\pm 15\%$  etter korreksjon.

*Sammenliknende bestemmelse av vitamin A etter forskjellige anvendte, offisielle eller foreslåtte metoder* (Se også tabellene 4 og 5, s. 16—19).

Vi har i de foregående avsnitt behandlet 3 offisielle metoder. Innledningsvis nevnte vi dessuten at Cama et.al. (14) har framlagt nye kurver og korreksjonsformler etter at subkomiteens anbefalinger med henvisning til Morton & Stubbs' formler forelå. Disse nye korreksjonsformler er utledet av anførte tabeller hvor E-verdiene er uttrykt som desimalfraksjon av abs. maks. I cyclohexan og isopropanol faller kurvene tilsynelatende sammen med tilsvarende lagt til grunn for B.P. Add. 51- og U.S.P. XIV-metoden. Vi har foretatt målinger og beregninger etter alle formler, og utover de variasjoner som metodens prinsipp forårsaker, var resultatene overensstemmende. Vi har her derfor kun tatt med beregninger etter de offisielle metoder for disse oppløsningsmidler (kolonne 7—10).

For målinger i abs. alkohol, som vi vanlig benytter ved bestemmelse etter WHO's metode, har vi derimot tatt korreksjoner etter såvel Morton & Stubbs' formler, som Cama et.al.' formler (kolonne 4—6).

Den uoffisielle hollandske metode, kromatografering etter Gridgeman av det uforsåpbare, er ført opp i kolonne 1. Videre er anført korrigerede E-verdier for disse kurver etter såvel Morton & Stubbs' som Cama et.al.'s formel. (Kolonne 2—3). Her skal bemerkes at etter WHO's krav, behøver de fleste av disse verdier ikke å korrigeres, idet Morton & Stubbs' kurve legges til grunn, men vi har gjort det konsekvent for å få et direkte sammenlikningsgrunnlag.

Bestemmelser av vitamin A ved å måle E-verdiene for oljen løst direkte i abs. alkohol og cyclohexan er anført i kolonne 11—15. Måling av disse verdier og anvendelse av faktor 1600, benyttes ennå meget ved handelsanalyser. Etter WHO's anbefalinger såvel som B.P. Add. 51 er videre bestemmelse av disse verdier og anvendelse av korreksjon offisielle om kurven har riktig abs. maks.

I tabell 4 er satt opp alle målte eller beregnede E-verdier. Vi har funnet dette mest hensiktsmessig framfor å uttrykke resultatene, da man ikke kan benytte samme omregningsfaktor for alle verdier. I tabell 5 er alle verdier beregnet i forhold til kolonne 1, idet  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  (325 m $\mu$ ) etter kromatografering og uten korreksjon er satt lik 100. Denne

bestemmelsesmåte gir etter vår erfaring den tilnærmet riktigste vitamin A-kurve, og minste variasjon mellom paralleller.

Av tabell 5 framgår at alle metoder hvor korreksjon er anvendt etter forsåpning gir E-verdier som er lavere enn etter kromatografi. Særlig lave verdier gir korreksjoner etter Cama et.al. (14), som er 5—10 % lavere enn samme etter benyttelse av Morton & Stubbs' formler (2). De laveste verdier finnes ved bestemmelse etter B.P. Add.-51 over det uforsåpbare, hvor gjennomsnittsverdien for alle analyser ligger på 81 % av det kromatografiske. Det skyldes sikkert at  $E_{1\text{cm}}^{1\%}(328\text{m}\mu) = \text{ca. } 1750$  for vitamin A-alkohol i cyclohexan, mot tilsvarende ca. 1850 i såvel abs. alkohol som isopropanol (14,17,12). Den eneste måte å kompensere for dette forhold vil være å benytte forskjellig omregningsfaktor, eksperimentelt fastlagt for hvert oppløsningsmiddel. Det kan her reises den innvending mot subkomiteens anbefalinger at den ikke har gitt direkter med hensyn til oppløsningsmiddel for de spektrofotometriske målinger.

For øvrig framgår av tabellene 4 og 5 at for traner med lavt vitamininnhold finner vi de største uoverensstemmelser mellom analyseresultatene, mens disse forskjeller mer utjevnes for høypotente traner og konsentrater.

Det synes videre av de framlagte resultater at der i størst mulig utstrekning bør benyttes kromatografisk rensning av det uforsåpbare, istedenfor matematiske korreksjonsmetoder. Den kromatografiske analysemetodikk bør i alle tilfelle være avgjørende der det oppstår tvil.

Med hensyn til den kromatografiske bestemmelse av vitamin A, foreligger foruten Gridgemans metode (18) også andre anbefalte metoder (12, 13). Vi har fortiden dette analytiske problem oppe til bearbeidelse, og kan på det nåværende tidspunkt si at den metode etter Gridgeman som er anvendt i det foreliggende arbeid gir jevnt gode og reproduserbare resultater.

## Summary:

Since the World Health Organizations subcommittee on Fat-Soluble Vitamins published their recommendations for the determination of vitamin A (21), new methods based on their recommendations have been adopted by U.S.P. XIV (6) and B.P. Add.-51 (7). The present paper reports results from the investigation of the effects of these new methods on the evaluation of the vitamin A potency of fish liver oils. Further there have been included applications of the recently published correction equations of Cama et al. (14) and estimations according to the chromatographic procedure of Gridgeman (18).

35 samples of commercial Norwegian fish liver oils and vitamin A concentrates have been analysed according to these methods, and the results are summarized in Tables 1—5. Since these data speak largely for themselves, only brief explanations and comments are given.

The determination according to the WHO's method were carried out in ethanol, and the correction procedure of Morton & Stubbs (2) was applied to the absorption curves. The results show  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  (325m $\mu$ )-values agreeing within  $\pm 3\%$  before application of corrections, compared to  $\pm 12\%$  after.

The corresponding figures for the U.S.P. XIV method were respectively  $\pm 2\%$  and  $\pm 6\%$ , and for the B.P. Add.-51 method  $\pm 2,5\%$  and  $\pm 15\%$ . These figures are in agreement with other reports from applications of the respective methods (10, 11, 19)]

When compared with the E-values from the chromatographic method, all the differently corrected E-values are lower. This is particularly the case where the correction equations are built on the new curves for all-trans-vitamin A (Cama et al., U.S.P. XIV, and B.P. Add.-51) The B.P. Add.-51 values of the unsaponifiable matter give a mean which is only 81 % of the »Gridgeman values«. This is obviously partly caused by the lower  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  (max)-value of vitamin A in cyclohexane, 1750, compared to ca. 1850 in ethanol and isopropanol (22, 23). The authors regret that the subcommittee did not consider the problem of solvent versus conversion factor in their recommendations.

Further work with chromatographic procedures for the estimation of vitamin A are at present in progress at this laboratory.

Tabell 1. Sammenlikning av W.H.O.'s anbefalte metode og den tidligere internasjonale metode med faktor 1600.

Table 1. Comparison of W.H.O.'s recommended method and the previous international method using conversion factor 1600.

Prøve av Sample of	Nr. No.	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (325m $\mu$ ) $\pm$ avvikelse $\pm$ deviation	I. E. A/g f = 1600	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (325m $\mu$ ) (corr.) $\pm$ avvikelse $\pm$ deviation	I. E. A/g f = 1900	$\frac{E_{325\text{m}\mu}}{E_{325\text{m}\mu}(\text{corr.})}$	% fall i vit. A en- heter % drop in A- units
Medisintraner Medicinal Cod Liver Oils.	7	0,517 $\pm$ 0,6%	830	0,431 $\pm$ 8,0%	820	0,835	— 1
	9	0,512 $\pm$ 1,0%	820	0,402 $\pm$ 12,0%	765	0,785	— 7
	10	0,732 $\pm$ 0,5%	1170	0,648 $\pm$ 3,6%	1230	0,885	+ 5
	12	0,478 $\pm$ 2,2%	765	0,361 $\pm$ 1,6%	685	0,755	—10
	15	0,603 $\pm$ 0,6%	965	0,516 $\pm$ 0,8%	980	0,858	+ 2
	18	0,353 $\pm$ 1,3%	565	0,283 $\pm$ 1,3%	535	0,802	— 5
	19	0,376 $\pm$ 1,1%	600	0,289 $\pm$ 0,0%	550	0,768	— 8
	20	1,007 $\pm$ 0,1%	1610	0,889 $\pm$ 2,2%	1690	0,884	+ 5
	21	0,743 $\pm$ 1,9%	1190	0,652 $\pm$ 0,9%	1240	0,878	+ 4
	24	0,356 $\pm$ 0,5%	570	0,266 $\pm$ 4,0%	505	0,747	—11
	26	0,439 $\pm$ 0,0%	700	0,387 $\pm$ 1,2%	735	0,881	+ 5
	51	0,381 $\pm$ 3,0%	610	0,323 $\pm$ 3,0%	615	0,847	+ 1
	54	0,430 $\pm$ 1,5%	690	0,406 $\pm$ 2,0%	770	0,945	+12
	57	0,592 $\pm$ 1,0%	945	0,524 $\pm$ 6,0%	995	0,885	+ 5
Veterinærtraner Veterinary Cod Liver Oils.	1	0,435 $\pm$ 2,0%	695	0,323 $\pm$ 8,0%	615	0,743	—12
	2	0,714 $\pm$ 0,3%	1140	0,565 $\pm$ 4,0%	1075	0,793	— 6
	3	0,512 $\pm$ 1,8%	820	0,363 $\pm$ 4,5%	690	0,709	—16
	4	0,702 $\pm$ 1,5%	1125	0,473 $\pm$ 9,0%	900	0,674	—20
	5	0,678 $\pm$ 0,1%	1080	0,470 $\pm$ 0,8%	890	0,693	—18
	6	1,945 $\pm$ 0,4%	3110	1,724 $\pm$ 2,5%	3280	0,886	+ 6
	14	0,459 $\pm$ 0,8%	735	0,370 $\pm$ 3,5%	705	0,806	— 4
	22	0,550 $\pm$ 0,2%	880	0,345 $\pm$ 6,0%	655	0,628	—26
	23	0,666 $\pm$ 0,2%	1065	0,437 $\pm$ 1,2%	830	0,656	—22
	27	0,523 $\pm$ 0,8%	835	0,452 $\pm$ 2,5%	860	0,865	+ 3
Haitraner Shark Liver Oils.	11	5,640 $\pm$ 0,3%	9020	5,090 $\pm$ 0,3%	9670	0,902	+ 7
	13	1,950 $\pm$ 0,0%	3120	1,436 $\pm$ 11,0%	2730	0,735	—13
	16	1,804 $\pm$ 0,8%	2890	1,524 $\pm$ 2,5%	2900	0,845	$\pm$ 0
	17	2,402 $\pm$ 1,2%	3840	2,164 $\pm$ 3,0%	4110	0,901	+ 7
	37	4,760 $\pm$ 0,4%	7620	3,980 $\pm$ 1,8%	7560	0,835	— 1
Kveitetraner Halibut Liver Oils.	8	22,66 $\pm$ 0,8%	36300	20,63 $\pm$ 2,0%	39200	0,910	+ 8
	34	34,70 $\pm$ 0,5%	55500	30,94 $\pm$ 1,2%	58800	0,891	— 6
	35	31,30 $\pm$ 0,2%	50100	30,46 $\pm$ 2,3%	57900	0,973	+16
	36	4,770 $\pm$ 0,2%	7630	4,170 $\pm$ 1,0%	7920	0,874	+ 4
Vitamin-A- conc.	25	52,40 $\pm$ 2,0%	83800	50,00 $\pm$ 6,0%	95000	0,955	+14
	28	10,12 $\pm$ 1,0%	16200	8,910 $\pm$ 7,0%	16950	0,880	+ 5
	29	57,90 $\pm$ 1,8%	92700	52,80 $\pm$ 4,0%	100300	0,912	+ 8
	30	23,09 $\pm$ 1,2%	36900	22,79 $\pm$ 0,9%	43300	0,985	+18
	31	582 $\pm$ 0,2%	931000	498 $\pm$ 0,8%	945000	0,855	+ 1

Middel (Mean) 0,833

Tabell 2. Sammenlikning av U.S.P. XIV-metode og tidligere uoffisiell spektrofotometrisk metode.

Table 2. Comparison of the U.S.P. XIV-method and the previous unofficial spectrophotometric method.

Prøve av Sample of	Nr. No.	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (325m $\mu$ ) $\pm$ avvikelse $\pm$ deviation	U.S.P. units vit. A/g f = 2000	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (325m $\mu$ ) corr. $\pm$ avvikelser $\pm$ deviation	U.S.P. units vit. A/g f = 1900	$E_{325\text{m}\mu}$ (corr) $E_{325\text{m}\mu}$	% fall i vit. A en- heter % drop in A- units
Medisintran	7	0,513 $\pm$ 0,2%	1025	0,429 $\pm$ 4,8%	815	0,836	—20
Medicinal Cod	9	0,502 $\pm$ 1,8%	1005	0,398 $\pm$ 2,7%	755	0,793	—25
Liver Oil	10	0,729 $\pm$ 0,3%	1460	0,601 $\pm$ 1,8%	1140	0,825	—22
	12	0,476 $\pm$ 2,0%	950	0,367 $\pm$ 2,0%	695	0,770	—27
	15	0,609 $\pm$ 1,2%	1220	0,439 $\pm$ 1,2%	835	0,721	—32
	18	0,358 $\pm$ 0,8%	715	0,250 $\pm$ 0,4%	475	0,698	—34
	19	0,377 $\pm$ 0,5%	755	0,279 $\pm$ 6,0%	530	0,740	—30
	20	1,002 $\pm$ 0,2%	2000	0,815 $\pm$ 1,8%	1550	0,812	—23
	21	0,741 $\pm$ 2,0%	1480	0,575 $\pm$ 3,4%	1090	0,775	—26
	24	0,357 $\pm$ 0,9%	715	0,283 $\pm$ 0,4%	535	0,792	—25
	26	0,445 $\pm$ 1,2%	890	0,383 $\pm$ 2,1%	725	0,860	—19
	51	0,381 $\pm$ 1,8%	760	0,316 $\pm$ 4,8%	600	0,829	—21
	54	0,437 $\pm$ 1,4%	875	0,369 $\pm$ 0,3%	700	0,844	—20
	57	0,597 $\pm$ 0,3%	1195	0,491 $\pm$ 1,0%	935	0,823	—22
Veterinærtraner	1	0,440 $\pm$ —	880	0,313 $\pm$ —	595	0,711	—32
Veterinary Cod	2	0,691 $\pm$ 1,5%	1380	0,535 $\pm$ 0,6%	1015	0,773	—17
Liver Oils.	3	0,485 $\pm$ 0,4%	970	0,373 $\pm$ 1,8%	710	0,769	—27
	4	0,684 $\pm$ 0,7%	1370	0,532 $\pm$ 1,2%	1010	0,778	—26
	5	0,671 $\pm$ 0,8%	1340	0,499 $\pm$ 3,5%	950	0,743	—29
	6	1,923 $\pm$ 0,9%	3850	1,705 $\pm$ 2,5%	3240	0,885	—16
	14	0,467 $\pm$ 0,3%	935	0,356 $\pm$ 1,2%	675	0,762	—28
	22	0,536 $\pm$ 1,0%	1070	0,349 $\pm$ 3,5%	665	0,651	—38
	23	0,645 $\pm$ 1,0%	1290	0,460 $\pm$ 4,5%	875	0,713	—32
	27	0,525 $\pm$ 0,8%	1050	0,407 $\pm$ 0,2%	775	0,775	—26
Haitraner	11	5,630 $\pm$ 0,4%	11260	4,630 $\pm$ 3,0%	8800	0,823	—22
Shark Liver	13	1,978 $\pm$ 0,1%	3960	1,423 $\pm$ 1,0%	2700	0,720	—32
Oils.	16	1,862 $\pm$ 0,3%	3720	1,517 $\pm$ 3,0%	2880	0,812	—23
	17	2,450 $\pm$ 0,3%	4900	2,000 $\pm$ 1,0%	3800	0,815	—23
	37	4,730 $\pm$ 0,2%	9450	4,080 $\pm$ 2,8%	7750	0,862	—18
Kveitetraner	8	21,10 $\pm$ 0,1%	42200	21,43 $\pm$ 2,0%	40700	1,016	—4
Halibut Liver	34	34,90 $\pm$ 0,1%	69800	30,00 $\pm$ 2,4%	56900	0,859	—17
Oils.	35	31,40 $\pm$ 0,5%	62800	27,80 $\pm$ 2,2%	52900	0,885	—16
	36	4,520 $\pm$ 1,2%	9050	4,170 $\pm$ 4,0%	7920	0,923	—13
Vitamin-A-	25	53,00 $\pm$ 1,2%	106000	50,70 $\pm$ 3,5%	96300	0,956	—9
conc.	28	10,07 $\pm$ 0,1%	20150	9,380 $\pm$ 2,4%	17850	0,932	—11
	29	58,20 $\pm$ 1,0%	116400	51,00 $\pm$ 6,0%	96900	0,875	—17
	30	23,09 $\pm$ 1,6%	46200	21,01 $\pm$ 1,0%	39900	0,910	—14
	31	590 $\pm$ 0,2%	1180000	453 $\pm$ 4,3%	861000	0,767	—27

Middel (Mean)

0,811

Tabell 3. Sammenlikning av B.P.-48- og B.P. Add.-51- metode for bestemmelse av vitamin A.

Table 3. Comparison of the B.P.-48- and the B.P. Add.-51 method for the determination of vitamin A.

Prøve av Sample of	Nr. No.	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (326,5m $\mu$ ) $\pm$ middel avvikelse $\pm$ mean deviation	I. E. vit. A pr. gr. I. U. vit. A. per gm. f = 1600	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (326,5m $\mu$ ) (corr) $\pm$ middel avvikelse $\pm$ mean deviation	I. E. vit. A pr. gr. I. U. vit. A per gm. f = 1900	$E_{326,5\text{m}\mu}$ (corr.) $E_{326,5\text{m}\mu}$	% mindre A-enheter % drop in A-units
Medisintraner <i>Medicinal Cod</i>	7	0,485 $\pm$ 0,6%	775	0,335 $\pm$ 0,7%	635	0,691	-18,0
	9	0,477 $\pm$ 0,0%	765	0,362 $\pm$ 3,0%	690	0,759	- 9,8
Liver Oils.	10	0,689 $\pm$ 1,0%	1100	0,506 $\pm$ 2,3%	960	0,734	-12,7
	12	0,445 $\pm$ 0,8%	710	0,340 $\pm$ 6,0%	645	0,764	- 9,2
	15	0,569 $\pm$ 1,8%	910	0,474 $\pm$ 4,0%	900	0,833	- 1,0
	18	0,340 $\pm$ 2,2%	545	0,232 $\pm$ 15,0%	440	0,682	-19,3
	19	0,360 $\pm$ 0,4%	575	0,228 $\pm$ 2,5%	435	0,633	-24,3
	20	0,911 $\pm$ 2,6%	1455	0,725 $\pm$ 11 %	1380	0,796	- 4,5
	21	0,700 $\pm$ 2,0%	1120	0,551 $\pm$ 4,3%	1045	0,787	- 6,7
	24	0,342 $\pm$ 0,6%	550	0,255 $\pm$ 0,2%	485	0,745	-11,8
	26	0,424 $\pm$ 0,1%	680	0,328 $\pm$ 3,5%	625	0,774	- 8,1
Veterinærtraner <i>Veterinary</i>	1	0,408 $\pm$ 1,2%	755	0,280 $\pm$ 2,0%	530	0,686	-19,0
Liver oils.	2	0,670 $\pm$ 0,5%	1070	0,474 $\pm$ 0,6%	900	0,707	-10,0
	3	0,485 $\pm$ 1,3%	775	0,316 $\pm$ 5,2%	600	0,652	-22,5
	4	0,664 $\pm$ 0,4%	1065	0,447 $\pm$ 2,0%	850	0,673	-20,2
	5	0,624 $\pm$ 2,5%	1000	0,475 $\pm$ 5,5%	900	0,761	-10,0
	6	1,802 $\pm$ 0,1%	2880	1,514 $\pm$ 1,0%	2880	0,844	$\pm$ 0,0
	14	0,428 $\pm$ 2,2%	685	0,317 $\pm$ 4,3%	600	0,741	-12,4
	22	0,505 $\pm$ 0,2%	810	0,308 $\pm$ 0,1%	585	0,610	-27,7
	23	0,618 $\pm$ 1,0%	990	0,432 $\pm$ 1,2%	820	0,699	-17,2
	27	0,505 $\pm$ 0,4%	810	0,367 $\pm$ 1,5%	700	0,727	-13,5
	11	5,400 $\pm$ 0,2%	8640	4,090 $\pm$ 5,0%	7760	0,757	-10,0
Håkjerring- traner	13	1,875 $\pm$ —	3000	1,510 $\pm$ —	2870	0,805	- 4,3
Shark Liver Oils.	16	1,736 $\pm$ 0,3%	2775	1,237 $\pm$ 7,0%	2350	0,713	-11,7
	17	2,295 $\pm$ 0,8%	3670	1,674 $\pm$ 5,0%	3180	0,729	-13,4
	37	4,490 $\pm$ 0,4%	7180	3,920 $\pm$ 1,5%	7450	0,874	+ 4,0
Kveitetraner <i>Halibut Liver</i>	8	21,20 $\pm$ 2,0%	33920	16,56 $\pm$ 1,5%	31500	0,781	- 7,1
Oils.	34	33,90 $\pm$ 0,6%	54200	28,00 $\pm$ 0,4%	53200	0,825	- 2,0
	35	30,90 $\pm$ 0,3%	49400	26,40 $\pm$ 3,5%	50200	0,854	+ 2,0
	36	4,440 $\pm$ 0,8%	7100	39,40 $\pm$ 8,0%	7490	0,889	+ 5,0
Vitamin-conc.	25	50,26 $\pm$ 0,5%	80400	41,68 $\pm$ 1,5%	79200	0,829	- 1,5
	28	9,61 $\pm$ 0,3%	15370	7,990 $\pm$ 0,4%	15200	0,831	- 1,1
	29	55,79 $\pm$ 1,4%	89550	44,77 $\pm$ 0,9%	85100	0,799	- 5,0
	30	22,45 $\pm$ 0,2%	35900	18,61 $\pm$ 1,2%	35400	0,829	- 1,4
	31	561,1 $\pm$ 0,9%	898000	405,1 $\pm$ 5,0%	770000	0,721	-14,2

Middel (Mean) 0,762

Tabell 4. Sammenlikning av forskjellige bestemmelsesmetoder for vitamin A.

Table 4. Comparison of different methods for the determination of vitamin A.

		Kromatografisk (Gridgeman)			Over det uforsåpbare After saponification						Direkte i oljen Direct in the oil					
		Abs. alcohol			Abs. alcohol			Cyclohexane		Isopropanol		Abs. alcohol			Cyclohexane	
		$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (325m $\mu$ )	Morton $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ corr. & Stubbs	Cama $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ corr. & al.	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (325m $\mu$ )	Morton $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ corr. & Stubbs	Cama $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ corr. & al.	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (326,5m $\mu$ )	B.P. $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ corr. add.-51	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (325m $\mu$ )	U.S.P. $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ corr. XIV.	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (326,5m $\mu$ )	Morton $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ corr. & Stubbs	Cama $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ corr. & al.	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (328m $\mu$ )	B.P. $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ corr. add.-51.
Prøve av Sample of	Nr. No.	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)
Medisintran Medicinal Cod Liver Oil	7	.438	.424	.392	.517	.431	.397	.485	.335	.513	.429	.530	.443	.412	.506	.403
	9	.480	.450	.415	.512	.402	.341	.477	.362	.502	.398	.509	.443	.412	.525	.433
	10	.653	.654	.615	.732	.648	.613	.689	.506	.729	.601	.746	.659	.627	.719	.616
	12	.420	.408	.411	.478	.361	.316	.445	.340	.476	.367	.497	.415	.390	.477	.404
	15	.536	.514	.480	.603	.516	.475	.569	.474	.609	.439	.604	.493	.464	.578	.463
	18	.310	.317	.300	.353	.283	.259	.340	.232	.358	.250	.383	.299	.284	.364	.284
	19	.353	.292	.280	.376	.289	.270	.360	.228	.377	.379	.381	.303	.289	.289	.284
	20	.949	.919	.867	.101	.889	.797	.911	.725	1.00	.815	1.06	.935	.881	1.03	.826
	21	.705	.676	.648	.743	.652	.601	.700	.551	.741	.575	.814	.687	.656	.788	.593
	24	.308	.310	.292	.356	.266	.236	.342	.255	.357	.283	.373	.278	.255	.376	.326
26	.393	.363	.342	.439	.387	.351	.424	.328	.445	.383	.480	.380	.326	.482	.434	



Veterinærtran	1	.334	.309	.278	.435	.323	.297	.408	.280	.440	.313	.583	.356	.323	.560	.346
<i>Veterinary Liver Oil</i>	2	.603	.521	.497	.714	.565	.500	.670	.474	.691	.535	.790	.563	.504	.613	.275
	3	.395	.367	.334	.512	.363	.313	.485	.316	.485	.373	.622	.351	.277	.732	.542
	4	.590	.620	.586	.702	.473	.419	.664	.447	.684	.532	.871	.593	.483	.786	.479
	5	.566	.557	.521	.678	.470	.418	.624	.475	.671	.499	.832	.556	.572	.801	.508
	6	1.71	1.59	1.48	1.95	1.72	1.52	1.80	1.51	1.92	1.71	2.00	.179	.169	1.96	1.78
	14	.374	.379	.352	.459	.370	.325	.428	.317	.467	.356	.568	.377	.355	.545	.305
	22	.413	.436	.417	.550	.345	.287	.505	.308	.536	.349	.651	.365	.292	.621	.335
	23	.536	.547	.476	.666	.437	.367	.618	.432	.645	.360	.885	.409	.347	.880	(.073)
	27	.465	.483	.456	.523	.452	.391	.505	.367	.525	.407	.635	.492	.472	.614	.412
Håkjerringtran	11	5.10	4.98	4.60	5.64	5.09	4.52	5.40	4.09	5.63	4.63	5.98	4.96	4.68	5.71	3.96
<i>Shark Liver Oil</i>	13	1.73	1.83	1.69	1.95	1.44	1.35	1.88	1.51	1.98	1.42	1.94	1.67	1.54	1.85	1.62
	16	1.67	1.66	1.52	1.80	1.52	1.40	1.74	1.24	1.86	1.52	1.88	1.69	1.60	1.83	1.52
	17	2.23	2.14	1.96	2.40	2.16	1.94	2.30	1.67	2.45	2.00	2.50	2.23	2.10	2.43	2.02
	37	4.20	4.20	3.95	4.76	3.98	3.65	4.49	3.92	4.73	4.08	4.71	4.23	3.96	4.57	3.94
Kveitetran	8	20.3	20.5	19.9	22.7	20.6	18.4	21.2	16.6	21.1	21.4	21.0	19.5	18.4	21.9	19.7
<i>Halibut Liver Oil</i>	34	31.9	31.7	29.3	34.7	30.9	29.7	33.9	28.0	34.9	30.0	33.9	29.6	28.1	33.8	28.3
	35	28.7	28.1	26.1	31.3	30.5	28.2	30.9	26.4	31.4	27.8	30.5	27.8	26.9	30.0	26.9
	36	4.22	4.19	3.85	4.77	4.17	3.78	4.44	3.94	4.52	4.17	4.80	4.40	4.00	4.49	3.87
Vitamin A conc.	25	49.2	53.4	50.8	52.4	50.0	47.0	50.3	41.7	53.0	50.7	51.9	49.7	46.2	51.5	47.1
	28	9.22	9.25	8.64	10.1	8.91	8.82	9.61	7.99	10.1	9.38	9.80	9.63	9.61	9.70	9.02
	29	55.4	52.3	38.1	57.9	52.8	47.9	56.0	44.8	58.2	51.0	60.0	56.5	53.5	58.5	53.1
	30	22.2	21.7	20.2	23.1	22.8	20.3	22.5	18.6	23.1	21.0	22.9	21.6	20.5	22.8	20.6
	31	506	505	457	582	498	434	561	405	590	453	572	463	402	553	466

Tabell 5. Sammenlikning av forskjellige bestemmelsesmetoder for vitamin A.

Table 4. Comparison of different methods for the determination of vitamin A.

		Kromatografisk (Gridgeman)			Over det uforsåpbare After saponification							Direkte i oljen Direct in the oil				
		Abs. alcohol			Abs. alcohol			Cyclohexane		Isopropanol		Abs. alcohol			Cyclohexane	
		$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (325m $\mu$ )	Morton $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ corr. & Stubbs	Cama $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ corr. & al.	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (325m $\mu$ )	Morton $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ corr. & Stubbs	Cama $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ corr. & al.	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (326,5m $\mu$ )	B. P. $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ corr. add. -51	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (325m $\mu$ )	U. S. P. $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ XIV.	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (326,5m $\mu$ )	Morton $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ corr. & Stubbs	Cama $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ corr. & al.	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ (328m $\mu$ )	B. P. $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ corr. add. -51
Prøve av Sample of	Nr. No.	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)
Medisintran	7	100	97	89	118	99	91	111	76	117	98	121	101	94	116	92
Medicinal Cod	9	100	94	86	107	84	71	100	75	105	83	106	92	86	110	90
Liver Oil	10	100	100	94	112	99	94	106	78	112	92	115	101	96	110	94
	12	100	97	98	114	86	75	106	81	114	87	118	99	93	114	96
	15	100	96	90	113	96	88	106	88	119	82	113	92	86	108	86
	18	100	102	97	114	91	84	110	75	116	81	124	96	92	118	92
	19	100	83	79	107	82	76	102	65	107	79	108	86	82	106	80
	20	100	96	92	106	92	85	99	78	105	82	116	97	93	117	84
	24	100	101	95	116	86	77	111	83	116	92	121	90	83	122	106
	26	100	92	87	112	98	89	108	83	113	97	122	97	83	123	111
		100	96 $\pm 7\%$	91 $\pm 8\%$	111 $\pm 6\%$	92 $\pm 11\%$	83 $\pm 14\%$	105 $\pm 6\%$	78 $\pm 13\%$	112 $\pm 6\%$	87 $\pm 12\%$	116 $\pm 8\%$	95 $\pm 7\%$	89 $\pm 8\%$	114 $\pm 6\%$	92 $\pm 15\%$
Veterinærtran	1	100	92	83	131	97	89	122	84	132	94	175	107	97	168	104
Veterinary Liver Oil	2	100	86	82	119	94	83	111	79	115	89	131	93	83	102	46
	3	100	93	85	130	92	79	123	80	123	94	158	89	70	186	138

	4	100	105	99	119	80	71	113	76	116	90	148	100	82	134	81
	5	100	98	92	120	83	74	110	84	119	88	147	98	101	142	90
	6	100	93	86	119	101	89	105	88	112	100	117	104	99	114	104
	14	100	101	94	123	99	87	115	85	125	95	152	101	95	146	81
	22	100	106	101	133	84	70	122	75	130	85	158	88	71	151	81
	23	100	102	89	125	81	68	115	81	121	67	165	76	65	164	(14)
	27	100	104	98	113	97	84	109	79	113	88	137	106	102	132	89
Middel		100	98	91	123	91	79	115	81	121	89	149	96	87	144	90
Mean			±10%	±10%	±8%	±11%	±13%	±6%	±8%	±8%	±12%	±20%	±12%	±19%	±29%	±60%
Håkjerringtran	11	100	90	90	111	100	89	106	80	111	91	117	97	92	112	78
Shark Liver Oil	13	100	106	97	113	83	78	109	87	114	82	112	96	89	107	93
	16	100	99	91	108	91	84	104	74	112	91	113	101	95	110	90
	17	100	96	88	108	97	87	103	75	110	90	112	100	94	109	90
	37	100	100	94	113	95	87	107	93	113	97	112	101	94	109	94
Middel		100	100	92	111	93	85	106	82	112	90	113	99	93	109	89
Mean			±5%	±5%	±2%	±9%	±7%	±5%	±13%	±2%	±9%	±3%	±2%	±3%	±2%	±5%
Kveitetran	8	100	101	98	112	102	91	105	82	104	105	104	96	91	108	97
Halibut Liver Oil	34	100	99	95	109	97	93	106	88	110	94	106	93	88	106	89
	35	100	98	91	109	106	98	108	92	110	97	106	97	94	105	94
	36	100	99	91	113	99	90	105	93	107	99	114	104	95	106	92
Middel		100	99	94	111	101	93	106	89	108	99	108	98	92	106	93
Mean			±1%	±4%	±2%	±5%	±4%	±2%	±6%	±2%	±6%	±5%	±5%	±4%	±2%	±5%
Vitamin A	25	100	108	103	107	102	96	102	85	108	103	106	101	94	105	96
conc.	28	100	101	94	110	97	96	104	87	109	102	107	105	104	106	98
	29	100	94	87	105	95	87	101	81	105	92	109	102	97	106	96
	30	100	98	91	104	103	92	101	84	104	95	104	97	92	103	93
	31	100	100	90	115	98	86	111	80	117	89	113	92	79	109	92
Middel		100	100	93	108	99	91	104	83	109	96	108	99	93	106	95
Mean			±7%	±10%	±6%	±4%	±6%	±4%	±5%	±6%	±7%	±4%	±7%	±12%	±3%	±3%
Middel av alle		100	98	92		94	84		81		91		97	90		91
Mean of all																

## LITTERATUR

- 1) Berättelse över verksamheten vid Statens Institut för Folkhälsan, 1949/50 s. 32, Stockholm 1950.
- 2) R. A. MORTON & A. L. STUBBS, *Biochem J.* **42**, 195 (1948).
- 3) — — *Analyst*, **71**, 348 (1946).
- 4) — — *Biochem. J.*, **41**, 525 (1946).
- 5) R. A. MORTON, *J. Pharm. Pharmacol.*, **2**, 129 (1950).
- 6) »United States Pharmacopoeia XIV«, Mack Publishing Co., New York, 1950 p. 785.
- 7) »British Pharmacopoeia Addendum 1950« (Appendix XV, p. 92).
- 8) B. L. OSER, *Anal. Chem.*, **21**, 529 (1949).
- 9) W. A. MCGILLIVRAY, *Anal. Chem.*, **22**, 494 (1950).
- 10) D. C. M. ADAMSON, W. F. ELVIDGE, N. T. GRIDGEMAN, E. H. HOPKINS, R. E. STUCKEY, and R. J. TAYLOR, *Analyst*, **76**, 445 (1950).
- 11) N. T. GRIDGEMAN, *Analyst*, **76**, 449 (1950).
- 12) W. HJARDE, *Acta Chem. Scand.*, **4**, 628 (1950).
- 13) R. K. BARUA & R. A. MORTON, *Biochem. J.*, **45**, 308 (1949).
- 14) H. R. CAMA, F. D. COLLINS, and R. A. MORTON, *Biochem. J.*, **50**, 48 (1950).
- 15) C. D. ROBESON & J. G. BAXTER, *J. Amer. Chem. Soc.*, **69**, 136 (1947).
- 16) P. D. DALVI & R. A. MORTON, *Biochem. J.*, **50**, 43 (1951).
- 17) H. CHATAIN & M. DEBODARD, *C. R. Acad. Sci.*, **232**, 355 (1951).
- 18) N. T. GRIDGEMAN, G. P. GIBSON & J. P. SAVAGE, *Analyst*, **73**, 662 (1948).
- 19) K. MORGAREIDGE, M. BLITZ, J. R. FOY & J. P. ARON, Report from Food Res. laboratories, Inc. and Nopco Chemical Company, Inc.
- 20) Fisheries Council of Canada, *Bull.*, **4**, No 4, p. 27 (1950).
- 21) World Health Organization, Technical Report, Series No 3 (1950).
- 22) A. MARIANI & A. GAUDIANO, *Rend. Ist. Sup. Sanita*, **13**, 632 (1950).
- 23) J. BOLDINGH and others. *Nature*, **168**, 598, (1951).

Manuskript avsluttet 19-12 1950.