

Bestimmung von organischen Säuren in Gemüsesäften

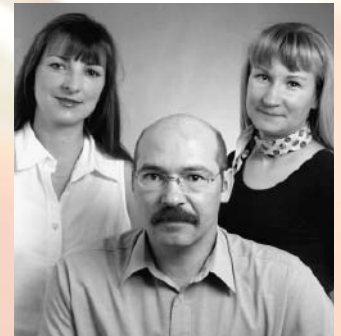
Die Kapillarelektrophorese gewinnt zunehmend an Bedeutung für die Analytik von niedermolekularen ionischen Substanzen. Ihre Matrixstabilität prädestiniert sie auch für die Bestimmung von Ionen, wie z.B. organischen Säuren in Lebensmitteln ohne aufwändige Probenvorbereitung. Durch die geschickte Wahl der Messbedingungen werden die jeweils relevanten Analyten erfasst und können quantifiziert werden.

Die Bestimmung der niedermolekularen ionischen Komponenten in wässrigen Medien ist in der Qualitätsüberwachung von Lebensmitteln heute gängige analytische Praxis. Gegenüber der Ionenchromatographie (IC) stellt die Kapillarelektrophorese (CE) dabei eine grundsätzlich andere Selektivität in der Trennung zur Verfügung und kann als Ergänzung zur IC eingesetzt werden. Die mittels der CE erfassbaren Analyten (anorganische Kationen, Amine, anorganische Anionen, organische Säuren oder auch ungeladene Komponenten) garantieren dem Anwender dabei eine universell einsetzbare Methode innerhalb eines Analysenlabors. Die hohe Matrixtoleranz der Methode verringert den Aufwand der Probenvorbereitung erheblich, da zumeist nur ein einfaches Verdünnen der Probe notwendig ist.

Auch für die Bestimmung der niedermolekularen anionischen Bestandteile in Lebensmitteln kann die CE ein wichtiges analytisches Instrument sein. Um Fermentationsprozesse oder Stabilitäten von Lebensmitteln zu überprüfen oder auch um die



Beate Göttlicher



Jana Boden, Ingo Haumann, Antje Mainka

Qualität oder Authentizität von Lebensmitteln zu kontrollieren ist es nötig, bestimmte anorganische und organische Anionen zu analysieren und so mögliche Zusatzstoffe oder Abbauprodukte zu erkennen. Für die Analytik von Gemüsesäften sind dabei mit am wichtigsten die Essigsäure und die Milchsäure, um Gärungsprozesse zu überwachen. Weitere Säuren, die Lebensmitteln zugesetzt sein können oder natürlich vorkommen, sind unter anderem Oxalsäure, Äpfelsäure, Bernsteinsäure und Glutarsäure.

Da diese Analyten keine ausreichende eigene UV-Aktivität besitzen, wird in der CE das Verfahren der indirekten Detektion angewendet [1]. Als Co-Ion wird in der vorliegenden Publikation Salicylat verwendet. Für die ausreichende Pufferung des Systems wird TRIS eingesetzt, und die Verlangsamung des EOF wird mit CTAH erreicht [2] (genaue Zusammensetzung des Elektrolyten: siehe Legenden). Diese Zusammensetzung gewährleistet die schnelle und reproduzierbare Trennung der meisten niedermolekularen organischen und anorganischen Anionen. Dennoch ist die ausreichende Auflösung zwischen einigen wichtigen Peaks nicht von

vornherein gegeben (Abb.1, unten). Für diese Anionen muss die Selektivität der Trennung noch optimiert werden.

Selektivität in der Kapillarelektrophorese

Um in der CE die Auflösung zwischen bestimmten Ionen gezielt zu beeinflussen, stehen verschiedene Möglichkeiten zur Auswahl. Einerseits können Veränderungen der Parameter Temperatur, Spannung oder Innendurchmesser der Kapillare schon zu einer verbesserten Auflösung zwischen Peaks im Elektropherogramm führen [3]. Andererseits ist die Verbesserung der Selektivität durch die Veränderung des Elektrolytensystems möglich [4]. Hierbei wird gezielt auf die Erhöhung oder Verringerung der Mobilität der Analyten hingearbeitet; wichtigstes Kriterium dafür ist der pH-Wert des Elektrolyten. Durch den pH werden aber sehr oft alle gemessenen Analyten beeinflusst.

Keywords

Kapillarelektrophorese, Selektivität, Lebensmittel, organische Säuren

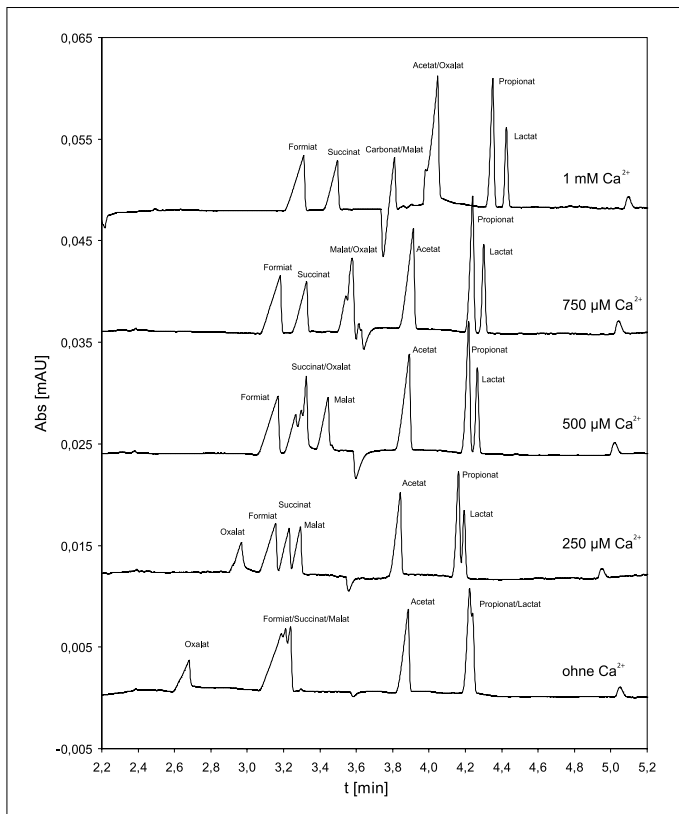


Abb. 1: Optimierung der Ca-Konzentration im Elektrolyten
 Elektrolyt: ELAN III (CEChemicals)
 Kapillare: 75 µm ID; Länge: 60 cm effektiv; 67 cm gesamt
 Gerät: SpectraPhoresis 1000; (Fa. Thermo-Finnigan, Egelsbach)
 Injektion: 10 s Druck
 Detektion: 232 nm, indirekt

Besonders für Spezies, deren pK-Werte sehr ähnlich sind, ist die Selektivität dabei nicht ausreichend. Um gezielt die Mobilität einzelner Ionen zu verändern, sollte man also Verfahren wählen, deren Wirksamkeit sich nur auf einzelne Ionen beschränkt. Dem Elektrolyten werden dafür so genannte selektive Reagenzien zugesetzt. Die Anwendung dieser Elektrolytzusätze ist in der Literatur bereits häufig beschrieben worden [5]. Das Prinzip der Beeinflussung beruht auf einer Ionenpaarbildung oder Komplexbildung einzelner Ionen im Elektrolyten. Dadurch wird der effektive Radius der Ionen vergrößert und je nach verwendetem Reagens oft auch die effektive Ladung der Ionen verringert. Damit ergibt sich ein völlig neues Ladung/Radius-Verhältnis, das eine Verringerung der Mobilität zur Folge hat.

Der erste Schritt bei der Lösung spezieller Trennprobleme sollte in der Praxis also

immer in die Bibliothek führen – zur Suche von Stoffeigenschaften der betreffenden Analyten (meist genügen pKS oder pKL-Werte). Hat man ein geeignetes selektives Reagens gefunden, beginnt die Optimierung der Elektrolytzusammensetzung, die im Folgenden beispielhaft für die Trennung von organischen Säuren dargestellt ist.

Für die Analytik der organischen Säuren in Lebensmitteln hat sich der Einsatz von Calcium als selektives Reagens bewährt [6]. Natürlich können auch andere kationische Zusätze zum Elektrolyten verwendet werden, wie z.B. Barium, Blei oder Silber [7]. Allerdings wird damit der Elektrolyt möglicherweise zum Gesundheitsrisiko für den Anwender. In Abb. 1 ist beispielhaft die Durchführung einer Optimierung mit verschiedenen Calcium-Gehalten im Elektrolyten dargestellt. Am deutlichsten ist die Verschiebung des Oxalat-Ions zu beobachten, das sich von

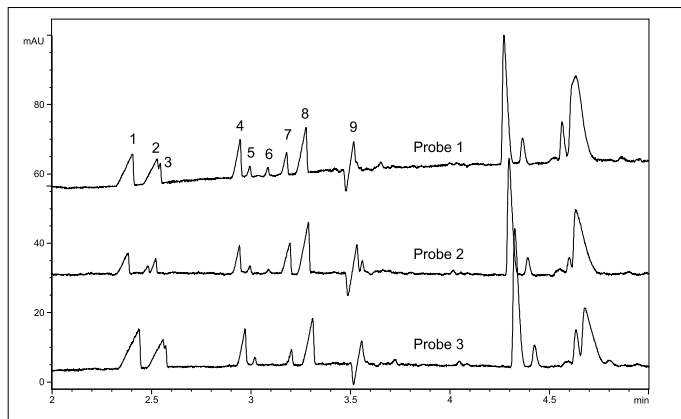


Abb. 2: Analyse von Rote-Bete-Säften
 Verdünnung der Proben: 1:100
 Elektrolyt: ELAN III + 0,3 mM Ca²⁺
 Kapillare: 50 µm ID mit bubble cell; Länge: 56 cm effektiv; 64,5 cm gesamt
 Gerät: HP3D (Fa. Agilent Techn., Böblingen)
 Injektion: 50 mbar/15 s
 Detektion: Sig: 360/40 nm; Ref: 232/20 nm
 Peaks: 1-Chlorid; 2-Nitrat; 3-Sulfat; 4-Oxalat; 5-Formiat; 6-Succinat; 7-Malat; 8-Glutarat; 9-Carbonat

seinem guten ersten Platz bis zum Acetat verschoben lässt. Weniger stark beeinflusst werden das Ion der Äpfelsäure (Malat) und das Lactat, deren Verschiebung aber für die Trennung aller Substanzen notwendig ist. Die beste

Trennung aller Analyten wird bei einer Calcium-Konzentration von 250 bis 300 µM erreicht.

Natürlich könnte die gleiche Optimierung auch mit einem anderen Ziel durchgeführt werden, z.B. der best-

möglichen Auftrennung von Lactat und Propionat. Dann wäre das gewünschte Ergebnis erst bei wesentlich höheren Calcium-Gehalten erreicht worden.

Bestimmung von organischen Säuren in Gemüsesäften

Die so erstellte Methode kann nun für die Analytik von Gemüsesäften eingesetzt werden. Zur Vermessung kamen drei Rote-Bete-Säfte und drei Sauerkraut-Säfte von verschiedenen Herstellern. Es wurden jeweils 1:100-Verdünnungen der Proben hergestellt und direkt ohne weitere Probenvorbereitung injiziert.

Abbildung 2 zeigt die Elektropherogramme der Rote-Bete-Säfte. Die Ähnlichkeit der Elektropherogramme tritt vor allem bei der Betrachtung der Peakgruppe von Oxalat bis Glutarat (Peaks 4 bis 8) hervor. Sowohl in der Anzahl als auch in den auftretenden Verhältnissen

scheinen die Proben das gleiche Muster aufzuweisen. Die Konzentration der anorganischen Anionen wird hauptsächlich durch Reifegrad, Düngung und die Qualität des verwendeten Wassers beeinflusst. Genau wie auch die absolute Konzentration aller Komponenten eher eine Frage der Wasserverfügbarkeit ist, und nicht unbedingt einen Hinweis auf die Lebensmittelqualität zulässt.

Die Analytik der Sauerkraut-Säfte (Abb. 3) wird dominiert von den Hauptpeaks Acetat und Lactat. Auch hier kann bei den Peaks 3 bis 5 eine Ähnlichkeit festgestellt werden, die aber aufgrund der niedrigen Konzentrationen der Peaks nicht in so klarer Ausprägung hervortritt, wie bei der Analytik der Rote-Bete-Säfte. Dieser Umstand ist vor allem der Tatsache zuzuschreiben, dass durch die hohen Konzentrationen an Acetat und Lactat die Probe nicht konzentrierter vermessen werden kann,

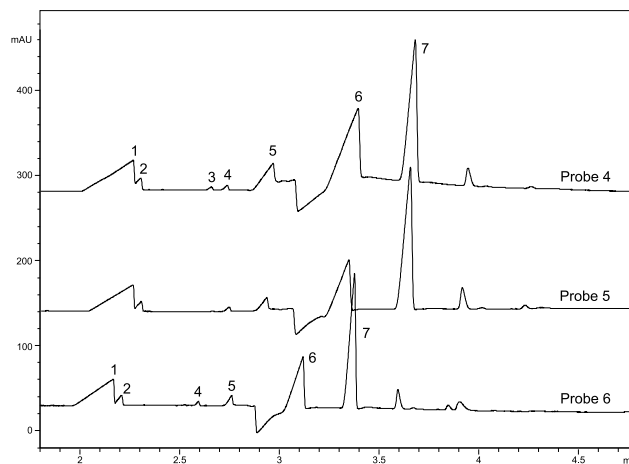


Abb. 3: Analytik von Sauerkraut-Säften

Verdünnung der Proben: 1:100

Elektrolyt: ELAN III + 0,25 mM Ca²⁺

Kapillare: 50 µm ID mit bubble cell; Länge: 56 cm effektiv; 64,5 cm gesamt

Gerät: HP3D (Fa. Agilent Techn., Böblingen)

Injektion: 50 mbar/15 s

Detektion: Sig: 360/40 nm; Ref: 232/20 nm

Peaks: 1-Chlorid; 2-Sulfat; 3-Formiat; 4-Succinat; 5-Glutarat; 6-Acetat; 7-Lactat

ohne dass eine Überladung auftritt. Die organischen Säuren mit hoher Mobilität können daher nur nahe der Nachweisgrenze erfasst werden. Die Ionen Acetat und Lactat können jedoch ohne Probleme analysiert werden.

Das vorliegende Beispiel ist nur ein kleiner Teil dessen, was die CE zu leisten vermag. Die Anwendungsbreite der Methode erlaubt auch die Bestimmung anderer Komponenten in den Proben und unterstreicht damit den universellen Charakter der Kapillarelektrophorese als Analysemethode in der Qualitätskontrolle von Lebensmitteln [8].

Literatur bei den Autoren erhältlich.

Die Autoren

Dr. Jana Boden

1985-91 Chemiestudium an den Universitäten Dresden und Darmstadt, 1996 Promotion in Darmstadt, 1996 wissenschaftliche Tätigkeiten bei der Firma Merck KGaA in Darmstadt, 1997 selbstständige Tätigkeit, seit 1998 in der Ingenieurgesellschaft für Chemische Analytik (ICA).

Dr. Beate Göttlicher

1986-92 Chemiestudium an der Universität Darmstadt, 1997 Promotion in Darmstadt, 1997-98 wissenschaftliche Tätigkeiten bei der Firma Merck KGaA in Darmstadt, seit 1999 in der Ingenieurgesellschaft für Chemische Analytik (ICA).

Dr. Ingo Haumann

1985-91 Chemiestudium an der Universität Darmstadt, 1995 Promotion in Darmstadt, 1996 Methodenentwicklung im Bereich der Analytischen Chemie bei der Firma Merck KGaA in Darmstadt, seit 1998 in der Ingenieurgesellschaft für Chemische Analytik (ICA).

Dr. Antje Mainka

1988-94 Chemiestudium an den Universitäten Leipzig und Darmstadt, 1998 Promotion in Darmstadt, anschließend selbstständige Tätigkeit, seit 1998 in der Ingenieurgesellschaft für Chemische Analytik (ICA).

ICA Ingenieurgesellschaft für Chemische Analytik
Carl-Friedrich-Gauß-Straße 5
63263 Neu-Isenburg
Fax: 06102/327397
ica@ica-analytik.de
www.ica-analytik.de