

Anwendung der Kapillarelektrophorese in der Lebensmittelanalytik



Jana Boden



Ingo Haumann



Antje Mainka

Keywords

Kapillarelektrophorese, Lebensmittel, Anionen, Kationen, Kohlenhydrate

Einführung

Die Analyse verschiedenster Spezies in Lebensmitteln gewinnt angesichts der zunehmenden industriellen Verarbeitung der Rohstoffe vermehrt an Bedeutung. So ist es nicht mehr nur von Interesse die auftretenden Belastungen der Lebensmittel durch schädliche Inhaltsstoffe (z. B. Pestizide, Arzneimittel- oder Hormonrückstände, Schwermetalle) oder Zusatzstoffe zu überprüfen, sondern es müssen in zunehmendem Maße auch die wichtigen lebensmittelspezifischen Wirkstoffe untersucht werden.

Viele Bestandteile von Lebensmitteln sind ionische Verbindungen und daher ist die Kapillarelektrophorese (CE) in weiten Bereichen der Lebensmittelanalytik ein geeignetes Meßverfahren. Entscheidender Vorteil der CE ist vor allem die Matrixverträglichkeit des Systems. Meist sind keine zeitintensiven Probenvorbereitungstechniken nötig (abgesehen von der Herstellung der Lösungen und Verdünnungen). Für die Routineanalytik zählen die Schnelligkeit und der geringe Chemikalienbedarf der Methode zu den herausragenden Eigenschaften der CE. Das Einsatzgebiet der CE umfaßt beispielsweise die Bestimmung von anorganischen Anionen und Kationen, Carbon säuren, Vitaminen und biogenen Aminen.

Bestimmung von organischen und anorganischen Anionen [1-3]

Die Routineanalytik der organischen und anorganischen Anionen wird hauptsächlich mittels IC durchgeführt. Jedoch ist die simultane Bestimmung von schwachen und starken Säuren sehr zeitaufwendig und anfällig gegen Störungen durch die Probenmatrix. Hier bietet die

CE entscheidende Vorteile. Sie ermöglicht schnelle Trennungen mit hoher Matrixstabilität. Für die Bestimmung der im allgemeinen UV-inaktiven Anionen wird gewöhnlich die indirekte Detektion eingesetzt. Die Simultanbestimmung der organischen und anorganischen Anionen (Abb. 1) wurde mit einem Elektrolyten durchgeführt, der als UV-aktive Komponente Salicylsäure enthält.

Um zu gewährleisten, daß auch die langsameren Anionen, wie Propionat oder Citrat den Detektor erreichen, wurde dem Elektrolyten ein Modifier zugesetzt, der den Elektroosmotischen Fluß (EOF) verlangsamt. Unter den gegebenen Bedingungen bewegt sich der EOF entgegengesetzt zu den Anionen, deshalb können ungeladene oder kationische Probenmatrices zu Beginn der Trennung mit dem EOF wieder aus der Kapillare entfernt werden und stören die Analyse nicht. So konnte eine Honig-Probe ohne aufwendige Probenvorbereitung analysiert werden (Abb. 1B). Die Beeinflussung der Selektivität der Trennung wird durch den Calciumzusatz zum Elektrolyten erreicht. Einzelne Ionen werden durch die Bildung von Ionenpaaren mit Calcium selektiv verlangsamt und können damit in Abhängigkeit von der Calciumkonzentration im Elektrophogramm „verschoben“ werden. Die elektrophoretischen Bedingungen der Trennung sind in der Legende zu Abbildung 1 aufgeführt.

Bestimmung von Kationen und Aminen [4-6]

Der Einsatz der CE ermöglicht die simultane Bestimmung von Ammonium, Alkali-, Erdalkali-, Übergangsmetallen und Aminen. Damit besitzt die CE für einige Applikationen zur Kationenanalytik

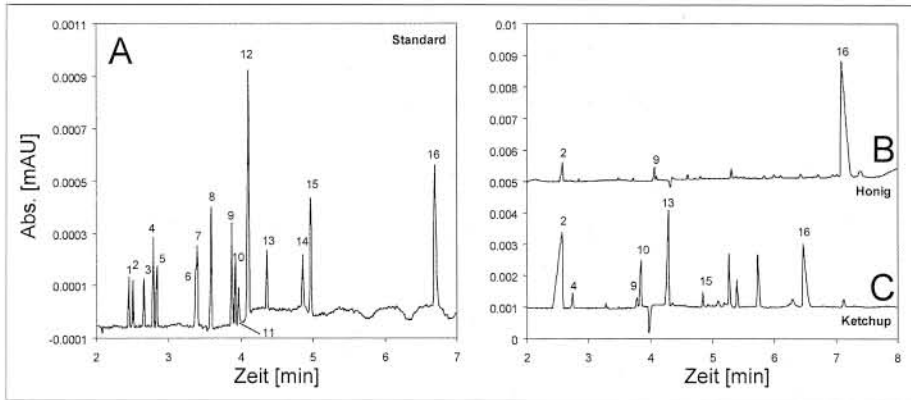


Abb. 1: Bestimmung von Anionen A: Standard: je 25 μM (Peakzuordnung: 1-Bromid, 2-Chlorid, 3-Nitrat, 4-Sulfat, 5-Perchlorat, 6-Fluorid, 7-Malonat, 8-Succinat, 9-Phosphat, 10-Malat, 11-Oxalat, 12-Carbonat, 13-Acetat, 14-Propionat, 15-Lactat, 16-Citrat.); B: Honig (Verdünnung: 1:20); C: Ketchup (Verdünnung: 1:100). CE-Gerät: SpectraPhoresis 1000 (ThermoQuest, Egelsbach) Elektrolyt: 7,5 mM Salicylsäure; 15 mM TRIS; 1 mM $\text{Ca}(\text{OH})_2$; 0,35 mM DOTAOH Detektion: indirekte UV-Detektion (232 nm) Kapillare: 50 μm I.D.; 53 cm effektive Länge; 61 cm gesamte Länge Trennung: -28 kV; 22 $^\circ\text{C}$

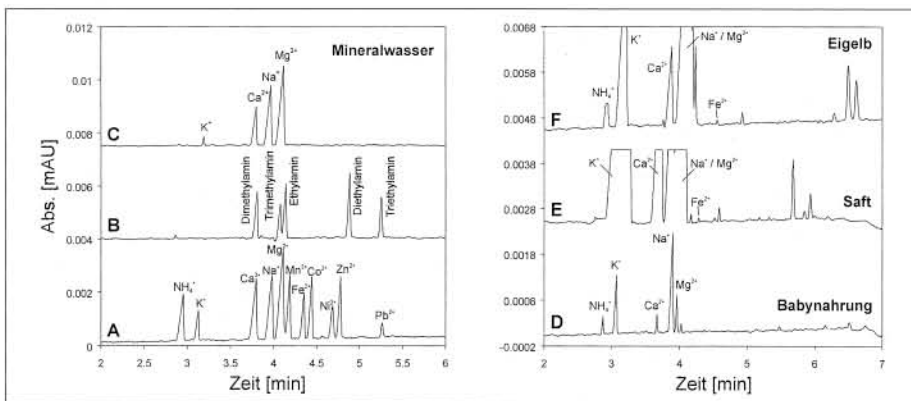


Abb. 2: Bestimmung von Kationen A: Standard: je 1 ppm; B: Standard: je 2 ppm; C: Mineralwasser (Verdünnung: 1:50); D: Babynahrung (Verdünnung: 1:1000); E: Fruchtsaft (Verdünnung: 1:20); F: Eigelb (Verdünnung: 1:100). CE-Gerät: SpectraPhoresis 1000 (ThermoQuest, Egelsbach) Elektrolyt: 5 mM Dimethyldiphenylphosphoniumhydroxid; 10 mM Hydroxyisobuttersäure, 2 mM 18-Krone-6 Detektion: indirekte UV-Detektion (227 nm) Kapillare: 75 μm I.D.; 60 cm effektive Länge; 67 cm gesamte Länge Trennung: 28 kV; 25 $^\circ\text{C}$

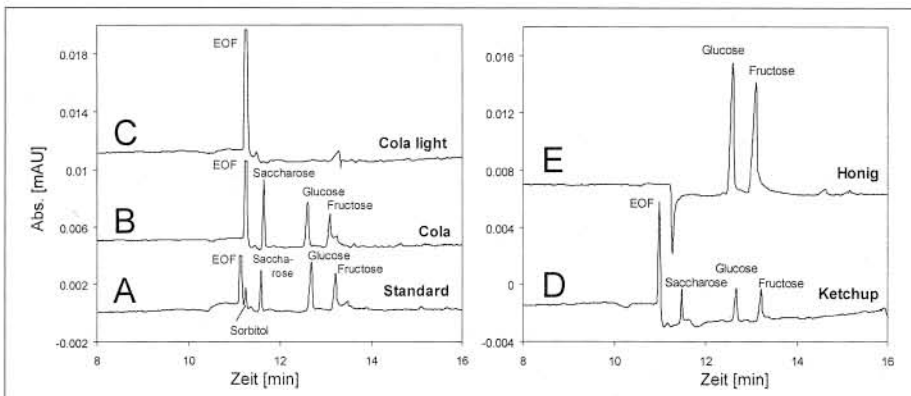


Abb. 3: Bestimmung von Kohlenhydraten A: Standard: je 500 ppm; B: Cola (Verdünnung: 1:50); C: Cola light (Verdünnung: 1:50); D: Ketchup (Verdünnung: 1:100); E: Honig (Verdünnung: 1:300). CE-Gerät: SpectraPhoresis 1000 (ThermoQuest, Egelsbach) Elektrolyt: 7,5 mM Salicylsäure; pH=12,35 (NaOH) Detektion: indirekte UV-Detektion (232 nm) Kapillare: 50 μm I.D.; 105 cm effektive Länge; 112 cm gesamte Länge, Trennung: 30 kV; 25 $^\circ\text{C}$

in Lebensmitteln Vorteile gegenüber den gängigen spektroskopischen Meßverfahren, die allerdings aufgrund der niedrigeren Nachweisgrenzen für die Spurenanalytik der Metallionen besser geeignet sind.

Die Anwendung der indirekten UV-Detektion in der CE erlaubt prinzipiell die Bestimmung aller positiv geladenen Analytione. Für die indirekte Detektion enthält die Elektrolytlösung ein UV-aktives Kation. In den in Abb. 2 gezeigten

Beispielen ist dies das Dimethyldiphenylphosphoniumion [7]. Die weiteren Additive dienen der selektiven Beeinflussung der Ionenbeweglichkeiten und damit der Optimierung der Trennung. In den Abbildungen 2C – 2F sind verschiedene Anwendungsbeispiele dargestellt. Bei Proben wie Leitungswasser (2C) oder der Babynahrung (2D) liegen die Kationen in ähnlicher Konzentration vor und können nach entsprechender Verdünnung simultan bestimmt werden. Viele Lebensmittel enthalten jedoch einzelne Ionen (insbesondere Alkali- und Erdalkalimetalle) in großem Überschuß gegenüber anderen ionischen Bestandteilen. So muß z. B. für die Eisenbestimmung in Eigelb (2F) oder einem joghurthaltigen Fruchtsaft (2E) die Probe in relativ hoher Konzentration gemessen werden. Die dadurch bedingte Überladung der Ionen Kalium, Natrium und Magnesium führt auch zur Deformation des Ammoniumpeaks. Die Analyse dieser Spezies erfordert dann eine höhere Verdünnung der Probe.

Da bei der Kationentrennung in der CE der EOF nicht durch zusätzliche Modifier beeinflusst werden muß, ist die Robustheit der Methode auch bezüglich der Reproduzierbarkeit der Migrationszeiten sehr hoch. Von Nachteil kann es jedoch in einzelnen Fällen sein, daß neben den Kationen auch die neutralen und anionischen Probenbestandteile niedriger Mobilität durch den EOF in die Kapillare transportiert werden. So kann beispielsweise bei der Injektion von Proben mit hohem Proteingehalt die negativ geladene Oberfläche der Quarzglas Kapillare belegt werden und damit die Reproduzierbarkeit der Migrationszeiten abnehmen. Hier kann der Einsatz oberflächenmodifizierter Kapillaren (Lit.), die inzwischen auch kommerziell erhältlich sind, Abhilfe schaffen. Aufgrund der Vielzahl der gleich-

zeitig bestimmbar anorganischen Kationen und der Möglichkeit der Analyse vieler aliphatischer Amine ist die CE eine vielversprechende Alternative und sinnvolle Ergänzung zu den bisher für die Kationenanalytik in Lebensmitteln eingesetzten Methoden.

Bestimmung von Kohlenhydraten

Die Bestimmung von Kohlenhydraten stellt eine besondere Herausforderung in der Analytik dar. Zum einen gestaltet sich die Trennung mit chromatographischen Verfahren als sehr aufwendig (lange Trennzeiten, Spezialsäulen), zum anderen muß für die Detektion auf die Refraktionsindex-Detektion zurückgegriffen werden, da die üblicherweise verwendeten UV/VIS- oder Fluoreszenz-Eigenschaften nicht vorhanden sind.

Die Analyse mittels elektrophoretischer Methoden ist ebenfalls kompliziert [8,9], da keine elektrische Ladung und detektierbaren Eigenschaften vorhanden sind. Deshalb wird häufig eine Derivatisierung der Analyse vorgeschlagen [10, 11], allerdings mit dem Nachteil, daß Derivatisierungen meist zeitaufwendig sind und außerdem die Probe verändert wird. Ein weiterer Nachteil besteht darin, daß mit dieser Methode Mono- und Disaccharide nicht simultan bestimmt werden können.

Eine Lösung dieser Probleme ist durch die Anwendung der indirekten UV-Detektion bei hohen pH-Werten möglich [12,13]. Beispielsweise gelingt unter Verwendung eines speziellen Salicylat-Elektrolyten im pH-Bereich von 11,0 bis 12,5 die Trennung von Saccharose, Glucose und Fructose neben dem Zuckeralkohol Sorbitol (Abb. 3A). Die Trennstufenzahlen betragen zwischen 200000/m und 500000/m. Die Nachweisgrenzen liegen im Bereich von 300–800 µM. Trotz der

relativ hohen Nachweisgrenze können mit dieser Methode die wichtigsten Kohlenhydrate aufgrund der hohen Gehalte in den Lebensmitteln bestimmt werden.

Das vorgestellte Analysenverfahren kann erfolgreich für die Untersuchung verschiedenster Lebensmittel angewendet werden (Abb. 3B-3E).

Die zahlreichen Möglichkeiten zur Optimierung der elektrophoretischen Bedingungen erlauben die gezielte Anpassung des Systems an das jeweilige Trennproblem und die Probenmatrix. Darüberhinaus wird nur eine wenig aufwendige Probenvorbereitung benötigt. Der einzige Probenvorbereitungsschritt besteht jeweils in einer individuellen Verdünnung der einzelnen Proben mit entionisiertem Wasser. Selbstverständlich sind die ausgewählten Proben nur zur Inspiration gedacht, und spiegeln nur einen kleinen Teil der Anwendungsbreite wider.

Weitere Anwendungsbeispiele und Literaturquellen können bei den Autoren erfragt werden.

Literatur

- [1] A. RÖDER, K. BÄCHMANN, J. Chromatogr. **1995**, 689, 305-311
- [2] P. JANDIK, W.R. JONES, J. Chromatogr. **1991**, 546, 431
- [3] P. JANDIK, W.R. JONES, LC-GC Intl. **1992**, 5, 20.
- [4] F. FORET, S. FANALI, A. NADI, P. BOCEK, Electrophoresis **1990**, 11, 780
- [5] M. CHEN, R.M. CASSIDY, J. Chromatogr. **1993**, 640, 425
- [6] Y. SHI, J.S. FRITZ, J. Chromatogr., **1993**, 640, 473
- [7] Dionex GmbH, Application Note 91
- [8] Z. EL RASSI, Y. MECHREF, Electrophoresis **1996**, 17, 275-301
- [9] S. HONDA, J. Chromatogr. **1996**, 720, 337-351
- [10] C. CHIESA, C.S. HORVÁTH, J. Chromatogr. **1993**, 645, 337-352
- [11] S. HOFSTETTER-KUHN, A. PAULUS, E.GASSMAN, H.M. WIDMER, Anal. Chem. **1991**, 63, 1541-1547.
- [12] A. KLOCKOW, A. PAULUS, V. FIGUEIREDO, R. AMADO, H.M. WIDMER, J. Chromatogr. **1994**, 680, 187-200
- [13] A. ZEEMAN, D.T. NGUYEN, G. BONN; Electrophoresis **1997**, 18, 1142-1147.

Weiterführende Literatur beim Verfasser

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 selbständige Tätigkeit, seit August 1998 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 August 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 selbständige Tätigkeit, seit August 1998 in der Ingenieurgesellschaft für Chemische Analytik (ICA).

ICA - Ingenieurgesellschaft für Chemische Analytik
Carl-Friedrich-Gauß-Str. 5
D-63263 Neu-Isenburg
www.ica-analytik.de