Bestimmung von Zuckeralkoholen in Kaugummi mittels Gaschromatographie

Autor(en): **Oesterhelt, G. / Vecchi, M. / Rueher, R.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **71 (1980)**

Heft 4

PDF erstellt am: **23.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-983525

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **71**, 419—426 (1980)
Eingegangen 14. Mai 1980. Angenommen 17. Juni 1980

Bestimmung von Zuckeralkoholen in Kaugummi mittels Gaschromatographie

G. Oesterhelt, M. Vecchi, R. Rueher und *U. Manz*
Forschungsabteilungen der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel

Einleitung

In der komplexen Pathogenese der Zahnkaries stellt der Konsum von Zucker (Saccharose) nachgewiesenermaßen einen wesentlichen ätiologischen Faktor dar. Die Verwendung von Zuckeraustauschstoffen wie Xylit, Sorbit, hydrogeniertem Glucosesirup (Lycasin®, Roquette (France)), die im Gegensatz zu Zucker von den Plaque-Bakterien nicht oder nur in geringem Maße zur zahnschädigenden Säure abgebaut werden können, stellt demnach einen wichtigen Beitrag zur Kariesprävention dar.

Aus diesem Grunde werden heute in vermehrtem Maße Sorbit und Xylit als Zuckeraustauschstoffe auch bei der Herstellung von Kaugummi verwendet.

Damit ergibt sich die Notwendigkeit, den Gehalt der genannten Zuckeralkohole einschließlich Mannit, des steten Begleiters von Sorbit, in Kaugummi zu bestimmen. Kaugummi enthält einen relativ hohen Anteil an unlöslichen Verbindungen (Harze auf Latex-Basis), in die die Polyole in kristalliner Form eingelagert sind. Um deren quantitativen Gehalt zu ermitteln, müssen diese Verbindungen auf extraktivem Wege von der sogenannten Kaugummimasse abgetrennt werden.

R. Schwarzenbach (1) beschreibt eine Trennung von Xylit und Sorbit auf einer Aminphase mittels HPLC. Sorbit und Mannit weisen dabei identische Retentionszeiten auf. Mittels HPLC und unter Verwendung eines Kationenaustauschers gelang *E. G. Samarco* (2) die chromatographische Bestimmung von Sorbit und Mannit in Kaugummi. Nicht getrennt werden jedoch mit dem verwendeten Trennsystem Sorbit und Xylit.

Zur Bestimmung von Zuckeralkoholen ist die Gaschromatographie eine vielfach beschriebene Analysenmethode. Im allgemeinen werden diese als Pertrimethylsilyläther (3) oder Peracetate (4, 5) analysiert. Weniger gebräuchlich sind die Trifluoracetate (6) oder Butylborsäureester (7).

Für die Bestimmung der Zuckeralkohole in Kaugummi wurden von uns die Trimethylsilyläther und die Acetate verwendet. Die gaschromatographische Analyse erfolgte sowohl auf gepackten als auch auf Kapillarsäulen. Zur Extraktion der

Zuckeralkohole aus der Kaugummimasse wurden von uns zwei verschiedene Methoden angewandt. Einerseits wurden die leicht wasserlöslichen Polyole mit Wasser und andererseits direkt mit dem Derivatisierungsreagens aus dem zerkleinerten Kaugummi herausgelöst.

Arbeitsmethodik

Reagenzien

Wasser, bidest.; Pyridin, p. a. wasserfrei (E. Merck); Bistrimethylsilylacetamid (BSA); Trimethylchlorsilan (TMCS), puriss. (Fluka); Essigsäureanhydrid, p. a. (E. Merck); Behensäuremethylester, Bezugssubstanz für die Gaschromatographie (E. Merck); Myristinsäuremethylester, puriss. (Fluka); D(—)-Sorbit für biochemische Zwecke (E. Merck); Xylit für biochemische Zwecke (E. Merck); D(—)-Mannit für biochemische Zwecke (E. Merck).

Extraktion und Derivatisierung

Extraktion mit Wasser und nachfolgende Derivatisierung

2 Kaugummistripes oder -stücke werden gewogen, mit einem Messer oder einer Schere in kleine Stücke oder Streifen geschnitten und in einem Becherglas (100 ml) mit ca. 20—40 ml dest. Wasser versetzt. Der Inhalt wird auf ca. 50 °C erwärmt und die festen Stücke mit einem Glasstab gut durchgeknetet. Nach ca. 5 Minuten wird der wässerige Extrakt in einen vortarierten 250-ml-Rundkolben abdekantiert (evtl. durch Trichter mit Wattebausch filtrieren). Der Extraktionsvorgang mit Wasser wird wie oben beschrieben noch 2mal wiederholt. Die vereinigten wässerigen Auszüge werden im Vakuum zur Trockne eingeengt und anschließend während 5—6 Stunden im Vakuumtrockenschrank bei 60 °C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Eine ganz schwache Luftströmung durch den Vakuumofen soll evtl. Wasserkondensation an der Glasscheibe verhindern. Die Gewichtsdifferenz des Kolbens leer und mit dem Eindampfrückstand ergibt den wasserlöslichen Anteil der eingewogenen Kaugummimasse.

1. Herstellung der TMS-Aether

25 bis 35 mg des getrockneten Kaugummiextraktes werden in ein Serumfläschchen exakt eingewogen und mit 3 ml 1%iger Myristinsäuremethylesterlösung in Pyridin, 3 ml BSA und 300 µl TMCS versetzt. Nach dem Verschließen des Serumfläschchens wird dieses für 1 Stunde auf 60 °C in einem Oelbad erwärmt. Hierauf läßt man die Silylierungslösung auf Raumtemperatur abkühlen. Myristinsäuremethylester dient als interner Standard.

2. Herstellung der Acetyl-Derivate

15—20 mg des getrockneten Kaugummiextraktes werden in ein Serumfläschchen genau eingewogen und mit 0,5 ml einer 0,5%igen Behensäuremethylesterlösung in Pyridin und 0,5 ml Essigsäureanhydrid versetzt. Das verschlossene Se-

rumfläschchen bleibt einen Tag bei Raumtemperatur stehen. Behensäuremethylester dient als interner Standard.

Extraktion und Derivatisierung in einem Arbeitsgang (Schnellmethode)

1. Extraktion und Silylierung

Etwa 50 mg eines Kaugummistripes werden in ein Serumfläschchen genau eingewogen und mit 3 ml 1%iger Myristinsäuremethylesterlösung in Pyridin, 3 ml BSA und 300 µl TMCS versetzt. Das verschlossene Serumfläschchen kommt für 2 Stunden ins Ultraschallbad und wird anschließend 1 Stunde auf 60 °C erwärmt. Die auf Raumtemperatur abgekühlte Lösung ist dann für die gaschromatographische Analyse bereit. Myristinsäuremethylester dient wiederum als interner Standard.

2. Extraktion und Acetylierung

Etwa 20 mg eines Kaugummistripes werden exakt in ein Serumfläschchen eingewogen und mit 0,5 ml einer 0,5%igen Behensäuremethylesterlösung in Pyridin und 0,5 ml Essigsäureanhydrid versetzt. Das verschlossene Serumfläschchen wird 2 Stunden in ein Ultraschallbad gegeben. Anschließend bleibt die Probe über Nacht bei Raumtemperatur stehen. Darauf ist die Lösung für die gaschromatographische Analyse bereit. Behensäuremethylester dient wiederum als interner Standard.

Gaschromatographische Bedingungen

Für die Analyse der Trimethylsilylderivate wurden einerseits eine 3,5 m lange gepackte Glassäule gefüllt mit 5% OV-17 auf Gaschrom Q, 80/100 mesh bzw. auf nach *Aue* (8) desaktiviertem Chromosorb W-AW, 80/100 mesh und andererseits eine 40 m lange mit OV-17 belegte Glaskapillarsäule, die nach *K. Grob* (9) hergestellt worden war, verwendet. Die Analyse auf der gepackten Säule wurde bei einer Säulentemperatur von 140 °C und einer Einspritzblocktemperatur von 210 °C mit einem Gaschromatographen Modell 3920 von Perkin Elmer, ausgerüstet mit einem Flammenionisationsdetektor, ausgeführt. Die Analysentemperatur beim Einsatz der Kapillarsäule betrug 165 °C, verwendet wurde ein Gaschromatograph Modell 2101 AC von Carlo Erba, ausgerüstet mit einem Eingangssplit und einem Flammenionisationsdetektor.

Die Acetylderivate wurden auf einer 2 m langen gepackten Glassäule, die mit 10% Silar 10 C auf nach *Aue* (8) desaktiviertem Chromosorb W-AW, 80/100 mesh gefüllt war, in einem Gaschromatographen Modell 900 von Perkin Elmer, ausgerüstet mit einem Flammenionisationsdetektor, analysiert. Die Säulentemperatur betrug 170—230 °C bei einer Programmrate von 4 °C/min.

Die Einspritzungen erfolgten stets mit Hilfe eines Dosierautomaten (7670 A von Hewlett-Packard). Dosiert wurde jeweils 1 µl.

Die Integration der Peakfläche wurde mit dem Datensystem CDS 240-32 von Varian vorgenommen.

Resultate

Eine ausreichende Trennung der Isomeren Mannit und Sorbit gelingt im allgemeinen nur in Acetatform, die Trennung der Trimethylsilyläther ist schwierig. Andererseits ist nach unseren Erfahrungen die Herstellung der Trimethylsilyläther von den Zuckeralkoholen reproduzierbarer als die der Acetate durchzuführen.

Mit einer 3,5 m langen gepackten OV-17-Säule, deren theoretische Bodenzahl für das TMS-Derivat von Sorbit ca. 4500 war, ist es uns gelungen, eine 80%ige Trennung von Mannit und Sorbit zu erzielen (vgl. Abb. 1). Verwendet man einen

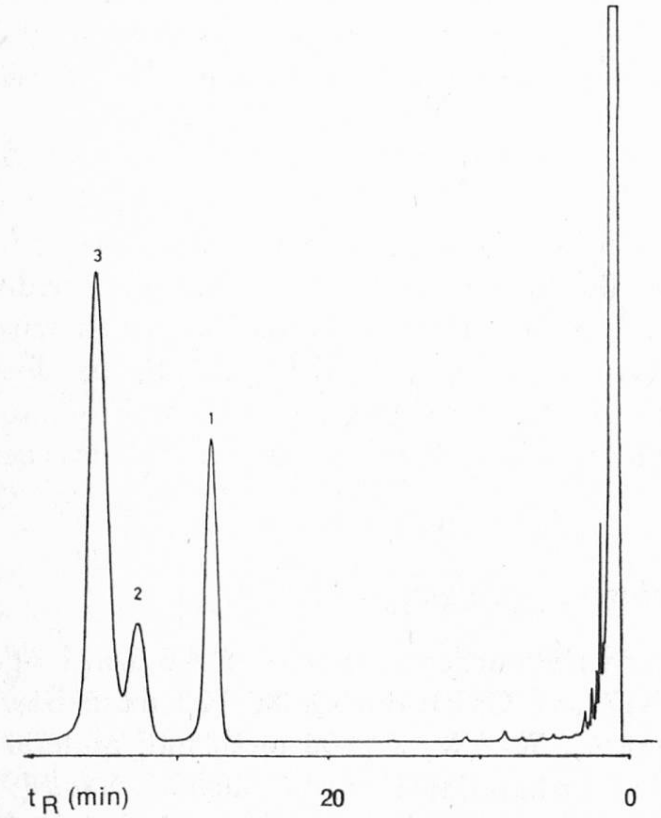

Abb. 1. Gaschromatogramm von den TMS-Derivaten der Zuckeralkohole aus Kaugummi Muster A auf einer gepackten OV-17-Säule
1 = interner Standard
2 = Mannit
3 = Sorbit

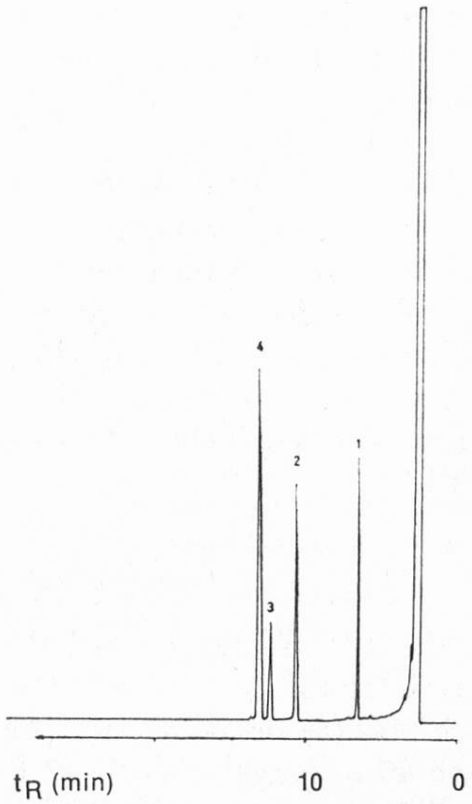

Abb. 2. Gaschromatogramm von den TMS-Derivaten eines Gemisches aus Xylit, Mannit und Sorbit auf einer OV-17-Kapillarsäule
1 = Xylit
2 = interner Standard
3 = Mannit
4 = Sorbit

nach *Aue* (8) desaktivierten Träger, z. B. entsprechend behandeltes Chromosorb W-AW, so ist es nach unseren Erfahrungen unproblematisch, eine Säule dieser Qualität herzustellen. Beim Analysieren auf einer mit OV-17 belegten Kapillarsäule ist die Trennung der beiden isomeren Zuckeralkohole vollständig (vgl. Abb. 2).

Die Trennung der acetylierten Hexite, einschließlich Dulcit, gelingt problemlos mit der Silar 10 C-Säule (vgl. Abb. 3).

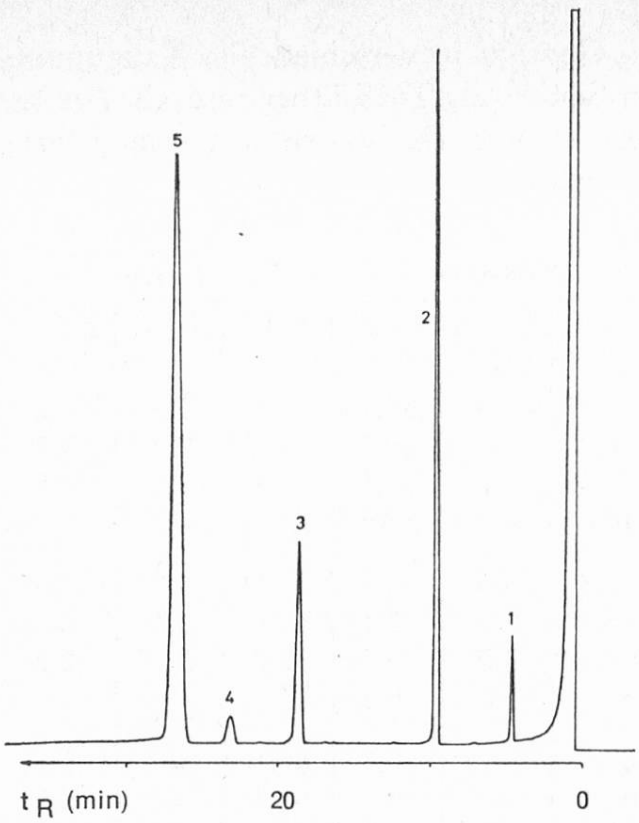

Abb. 3. Gaschromatogramm von den Acetylderivaten der Zuckeralkohole aus Kaugummi Muster B auf einer gepackten Silar 10 C-Säule
1 = unbekannt
2 = interner Standard
3 = Xylit
4 = Mannit
5 = Sorbit

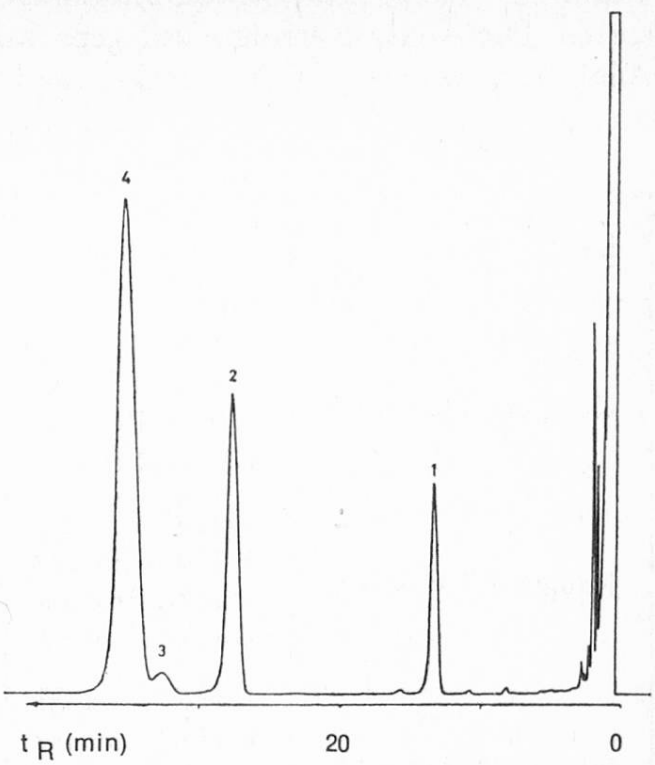

Abb. 4. Gaschromatogramm von den TMS-Derivaten der Zuckeralkohole aus Kaugummi Muster B auf einer gepackten OV-17-Säule
1 = Xylit
2 = interner Standard
3 = Mannit
4 = Sorbit

Um die sehr leicht wasserlöslichen Zuckeralkohole im Kaugummi bestimmen zu können, müssen diese aus der Kaugummimasse zuvor extrahiert werden. Naheliegend ist die Extraktion mit Wasser, doch muß dieses vor der Derivatisierung der Zuckeralkohole wieder vollständig entfernt werden, was sehr zeitaufwendig ist.

Durch Extraktion mit der Derivatisierungslösung, bei gleichzeitiger Bildung der für die gaschromatographische Analyse benötigten Derivate der Zuckeralkohole im Ultraschallbad, konnte die Probenaufbereitung wesentlich vereinfacht werden.

Bei unseren Versuchen wurden beide Extraktionsmethoden an Kaugummis verschiedener Provenienz sowohl durch Analysieren der TMS- als auch der Acetylderivate miteinander verglichen.

Wie es sich zeigte (vgl. Tabelle 1), sind die nach beiden Extraktionsmethoden erhaltenen Resultate in sehr guter Uebereinstimmung. Von jeder Kaugummisorte wurden zwei Wasserextrakte und zwei direkt mit der Derivatisierungslösung hergestellte Extrakte (Schnellmethode) analysiert. Da bei letzteren relativ kleine Probenmengen eingesetzt werden, wurden stets zwei an verschiedenen Stellen des

Tabelle 1. Gehalte an Zuckeralkoholen in Gew.-% in verschiedenen Kaugummisorten. Die Analyse erfolgte auf gepackten Säulen als TMS-äther und als Acetat. Analysiert wurden H_2O-Extrakte und direkt mit Derivatisierungslösung hergestellte Extrakte

Kaugummi		TMS-äther			Acetat		
		Xylit	Mannit	Sorbit	Xylit	Mannit	Sorbit
Kaugummi Muster B	1. H_2O-Extrakt	9,6	1,9	55,9	9,8	2,2	56,2
	2. H_2O-Extrakt	10,0	2,0	57,6	9,7	2,2	55,7
	Direkt, Probe 1	10,1	2,1	58,6	9,8	2,1	57,8
	Direkt, Probe 2	10,7	1,9	57,9			
Kaugummi Muster C	1. H_2O-Extrakt	55,8	3,0	0,4	55,4	3,0	0,3
	2. H_2O-Extrakt	55,4	3,1	0,4	54,8	3,1	0,3
	Direkt, Probe 1	57,3	3,0	0,3	55,2	3,1	0,2
	Direkt, Probe 2	57,6	3,0	0,2			
Kaugummi Muster D	1. H_2O-Extrakt	63,0	—	0,3	60,1	—	0,1
	2. H_2O-Extrakt	63,1	—	0,2	61,2	—	0,1
	Direkt, Probe 1	63,4	—	0,3	62,4	—	0,1
	Direkt, Probe 2	63,6	—	0,2			
Kaugummi Muster E	1. H_2O-Extrakt	59,6	—	0,4	59,8	—	0,4
	2. H_2O-Extrakt	59,3	—	0,1	58,5	—	0,1
	Direkt, Probe 1	60,6	—	0,2	57,0	—	0,1
	Direkt, Probe 2	60,3	—	0,2			
Kaugummi Muster A	Direkt	—	11,4	50,8	—	11,9	50,5

Kaugummistripes genommene Proben untersucht. Wie ersichtlich, sind auch diese Resultate innerhalb der Fehlergrenze identisch, so daß es in der Praxis gleichgültig ist, an welcher Stelle des Kaugummistripes die Probe genommen wird.

Die als Acetat ermittelten Gehalte der Zuckeralkohole stimmen im allgemeinen recht gut mit den als TMS-äther ermittelten überein, doch ist dabei auffallend, daß der als Acetat bestimmte Gehalt der Hauptkomponente etwas größeren Schwankungen unterworfen ist und eher etwas niederer liegt als der als TMS-äther gefundene. Wir ziehen deshalb die Bestimmung der Zuckeralkohole als TMS-äther der Bestimmung als Acetylderivate vor. Gut übereinstimmend sind die als Acetate und als TMS-äther ermittelten Mannitgehalte, obwohl die Trennung von Sorbit auf der gepackten OV-17-Säule nicht vollständig ist. Bei der Ermittlung des Response-Faktors für Mannit wurde jedoch darauf geachtet, daß das Sorbit/Mannit-Verhältnis in der Eichlösung ähnlich wie in den analysierten Kaugummis lag.

Die Abbildungen 1, 3 und 4 zeigen Chromatogramme der derivatisierten Zukkeralkohole von verschiedenen Kaugummisorten, wobei die Extraktion aus der

Latexmasse direkt mit dem Derivatisierungsmittel vorgenommen wurde. Für die Analysen wurden gepackte Säulen verwendet.

Wie aus dem Chromatogramm in Abbildung 2 ersichtlich ist, läßt sich auf einer Kapillarsäule, die mit OV-17 belegt ist, Mannit und Sorbit vollständig trennen. Die quantitative Analyse mit internem Standard auf Kapillarsäule ist mitunter wegen des erforderlichen Splittens bei der Probenaufgabe problematisch. Es wurde deshalb von uns die Analyse der Zuckeralkohole ein und desselben Kaugummis nach allen drei gaschromatographischen Methoden ausgeführt. Tabelle 2 enthält den gewichtsprozentigen Gehalt an Xylit, Mannit und Sorbit des Kaugummis Muster F.

Tabelle 2. Gehalt der Zuckeralkohole in Gew.-% im Kaugummi Muster F, analysiert auf einer gepackten Säule und einer Kapillarsäule als Trimethylsilyläther und als Acetat auf einer gepackten Säule
(Bedingungen siehe gaschromatographische Bedingungen)

TMS-Derivat						Acetat		
OV-17, gepackte Säule			OV-17, Kapillarsäule			Silar 10 C, gepackte Säule		
Xylit	Mannit	Sorbit	Xylit	Mannit	Sorbit	Xylit	Mannit	Sorbit
9,7	7,9	48,0	9,7	7,9	48,1	9,7	7,8	48,3
9,7	7,5	47,2	9,6	7,6	47,2	9,6	7,6	47,8
9,7	7,5	47,9	9,7	7,5	48,4	9,6	7,5	48,0

Analysiert wurden die Trimethylsilyläther auf einer gepackten Säule und einer Kapillarsäule und die Acetate auf einer gepackten Säule. Die Analyse wurde jeweils dreimal ausgeführt, wobei immer eine neue Lösung verwendet wurde.

Ein Vergleich der Werte in Tabelle 2 läßt erkennen, daß mit allen drei gaschromatographischen Methoden sehr gut übereinstimmende Resultate erhalten wurden. Es lassen sich die Zuckeralkohole auf der Kapillarsäule ebenso gut quantitativ bestimmen wie auf den gepackten Säulen. Da nur auf der Kapillarsäule eine vollständige Auftrennung von Mannit und Sorbit erzielt wird, lassen sich damit auch noch sehr niedrige Mannitwerte exakt erfassen. Ein weiterer Vorteil der Kapillargaschromatographie sind die damit erzielbaren kurzen Analysenzeiten.

Dank

Für die Ausführung der Kapillarsäulen-Chromatogramme sind wir Herrn *W. Walther* sehr zu Dank verpflichtet.

Zusammenfassung

Es werden zwei Methoden zur Gehaltsbestimmung der Zuckeralkohole Xylit, Mannit und Sorbit in Kaugummi beschrieben. Als Derivate für die Gaschromatographie werden

entweder die Pertrimethylsilyl- oder Peracetylverbindungen hergestellt. Der zerkleinerte Kaugummi wird vorzugsweise direkt mit dem Derivatisierungsreagens behandelt. Die Analyse kann gaschromatographisch sowohl auf gepackten Säulen als auch auf Kapillarsäulen erfolgen.

Résumé

Deux méthodes de détermination quantitative des polyols xylitol, mannitol et sorbitol dans les chewing-gums sont décrites. Les polyols sont analysés par chromatographie en phase gazeuse sous forme de dérivés soit pertriméthylsilylés soit peracétylés. Le chewing-gum finement haché est traité de préférence directement avec les réactifs de dérivatisation. L'analyse peut se faire tant sur colonnes traditionnelles que sur colonnes capillaires.

Summary

Two methods for the simultaneous and quantitative determination of xylitol, mannitol and sorbitol as either pertrimethylsilyl or peracetyl derivatives in chewing gums are described. Extraction and derivatization of the sugar alcohols is achieved in one step by treating small pieces of chewing gum with the appropriate reagent in an ultrasonic bath. The gaschromatographic analysis is carried out with packed or capillary columns.

Literatur

1. *Schwarzenbach, R.:* A chemically bonded stationary phase for carbohydrate analysis in liquid chromatography. J. Chromatogr. **117**, 206—210 (1976).
2. *Samarco, E. C.:* High pressure liquid chromatographic determination of mannitol and sorbitol in sugarless chewing gums. J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists **60**, 1318—1320 (1977).
3. *Sweeley, C. C., Bentley, R., Makita, M.* and *Wells, W. W.:* Gas-liquid chromatography of trimethylsilyl derivatives of sugars and related substances. J. Am. Chem. Soc. **85**, 2497—2507 (1963).
4. *Gunner, S. W., Jones, J. K. N.* and *Perry, M. B.:* The gas-liquid partition chromatography of carbohydrate derivatives. Part I. The separation of glycitol and glycose acetates. Can. J. Chem. **39**, 1892—1899 (1961).
5. *Manius, G., Mahn, F. P., Venturella, V. W.* and *Senkowski, B. Z.:* GLC determination of sorbitol and mannitol in aqueous solutions. J. Pharm. Sci. **61**, 1831—1835 (1972).
6. *Shapira, J.:* Identification of sugars as their trifluoracetyl polyol derivatives. Nature **222**, 492—793 (1969).
7. *Schweickhardt, C.:* Gaschromatographischer Nachweis von D-Mannit in Körperflüssigkeiten. J. Clin. Chem, Clin. Biochem. **16**, 675—676 (1978).
8. *Aue, W. A., Hastings, C. R.* and *Kapila, S.:* On the unexpected behaviour of a common gas chromatographic phase. J. Chromatogr. **77**, 299—307 (1973).
9. *Grob, K. jr., Grob, G.* and *Grob, K.:* Preparation of apolar glass capillary collumns by the barium carbonate procedure. J. HRC+CC **1**, 149—155 (1978).

G. Oesterhelt
Zentrale Forschungseinheiten
F. Hoffmann-La Roche & Co. AG
CH-4002 Basel