Bestimmung organischer Säuren in Lebensmitteln mittels Ionenausschlusschromatographie

Autor(en): **Walter, Petra**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **96 (2005)**

Heft 6

PDF erstellt am: **24.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-981973

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

Bestimmung organischer Säuren in Lebensmitteln mittels Ionenausschlusschromatographie*

Petra Walter, Kantonales Laboratorium Thurgau, CH-Frauenfeld

Einleitung

Bei der Beurteilung von Lebensmitteln kann die Zusammensetzung der organischen Säuren Rückschlüsse auf die Zusammensetzung des Lebensmittels, dessen Behandlung oder auch Verderb zulassen. Organische Säuren sind schwach dissoziierte Verbindungen, deren Bestimmung meist mittels Ionenaustausch-, Ionenausschlusschromatographie oder RP-HPLC mit UV- oder RI-Detektion erfolgt. Mit diesen Methoden war es bisher jedoch nicht möglich alle für Lebensmittel relevanten organischen Säuren in einem Chromatogramm ausreichend zu trennen und zu quantifizieren. Zudem ist die UV- und RI-Detektion relativ unempfindlich. Eine weitere Möglichkeit zur Bestimmung organischer Säuren besteht in der Verwendung der Enzymatik. Diese ist jedoch sehr zeit- und kostenintensiv, ausserdem können so nur einzelne Säuren bestimmt werden. Aus diesem Grund wurde eine ionenchromatographische Methode mit Leitfähigkeits-Detektion gesucht. Die Methodenparameter Säule, Eluentzusammensetzung und Säulentemperatur wurden optimiert, so dass möglichst viele organische Säuren ausreichend getrennt werden. Bei der vorgestellten Methode handelt es sich um Ionenausschlusschromatographie mit inverser Suppression an einem Festphasensuppressor und Leitfähigkeitsdetektion. Hiermit können die folgenden organische Säuren vor allem in flüssigen Lebensmitteln getrennt werden:

Oxalsäure, Zitronensäure, Weinsäure, Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Ameisensäure, Essigsäure, Milchsäure.

Diese Methode weist einen grossen linearen Bereich auf, so dass z.B. in Essig auch grosse Mengen Essigsäure neben kleinen Mengen anderer organischer Säuren problemlos bestimmt werden können.

*Poster präsentiert an der 117. Jahresversammlung der SGLUC vom 8./9. September 2005

Methode

Geräte und Hilfsmittel

- Ionenchromatograph Dionex DX 500, Dionex AG, CH-Olten
- Metrohm Suppressor Module 753, Metrohm AG, CH-Herisau
- J.T. Baker SPE-12G Column Processor, Mallinckrodt Baker, NL-Deventer
- 5 ml Luer Lock Einwegspritzen, B. Braun Melsungen AG, D-Melsungen

Chemikalien

Schwefelsäure p.a. (95–97 %), Merck AG, D-Darmstadt, Acetonitril super gradient, Lab-Scan Ltd., IRL-Dublin, Lithiumchlorid p.a., Kationenaustauscher Dowex 50WX8 H^+-Form 20–50 mesh, Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP) purum, Fluka AG, CH-Buchs, Lösungsmittel: Wasser, bidestilliert.

Standards

Kaliumdihydrogenphosphat p.a., Oxalsäure p.a., Merck AG, D-Darmstadt, Zitronensäure Monohydrat p.a., L(+) Weinsäure p.a., L(–)Äpfelsäure purum, Bernsteinsäure purum p.a., Natriumformiat p.a., Natriumacetat p.a., Natriumlactat puriss, Fluka AG, CH-Buchs.

Lösungen

Eluent A: $c(H_2SO_4)=1{,}9$ mmol/L, 2 % Acetonitril

Standards und Proben werden in Eluent gelöst und verdünnt.

IC-Bedingungen

Säule:	Grom Resin ZC, 8 mm, 250×8 mm, Alltech Grom GmbH, D-Rottenburg-Hailfingen	
Eluent:	Eluent A, isokratisch	
Fluss:	0,6 ml/min	
Säulentemperatur:	60 °C	
Einspritzvolumen:	25 µl	
Detektion:	Leitfähigkeit mit Festphasensuppression	
Suppressor:	Regeneration:	c(LiCl) = 50 mmol/l
	Spülen:	Wasser, bidestilliert

Probenvorbereitung

Die Proben werden in Eluent A verdünnt und über einen Kationenaustauscher gegeben. Dazu wird eine Suspension von 1,5 g Kationenaustauscher Dowex 50WX8 in 2 ml deionisiertem Wasser in eine 5 ml Luer-Lock-Einwegspritze gegeben. Bei stark gefärbten Proben werden anschliessend zusätzlich 0,1 g PVPP zugegeben. Etwa 10 ml Proben- bzw. Standardlösung werden in ca. 15 min. über die so vorbereitete Säule gegeben und verworfen. Die folgenden 5 ml werden für die Analyse

eingesetzt. Somit werden die Probenlösungen sauer gestellt und die Probenkationen entfernt.

Inverse Suppression

Unter chemischer Suppression versteht man in der Ionenchromatographie die Reduzierung der Hintergrundleitfähigkeit des Eluenten und die Überführung des Analyten in eine stärker leitende Form durch Ionenaustausch. Damit erreicht man eine grössere Empfindlichkeit der Detektion. Im herkömmlichen Fall werden Na^+-Ionen aus dem Eluenten durch H^+-Ionen ersetzt. Bei der inversen Suppression werden H^+-Ionen aus dem Eluenten durch Li^+-Ionen ersetzt. Dabei erhöht sich der pH-Wert, wodurch sich die Dissoziation der organischen Säuren und somit deren Leitfähigkeit erhöht. Der Effekt der Reduzierung der Hintergrundleitfähigkeit ist nicht so gross wie bei der herkömmlichen chemischen Suppression, da die Li^+-Ionen immer noch eine relativ grosse Leitfähigkeit besitzen. Die Empfindlichkeit der Detektion ist jedoch deutlich grösser, als wenn man ohne chemische Suppression arbeitet (1, 2).

Resultate

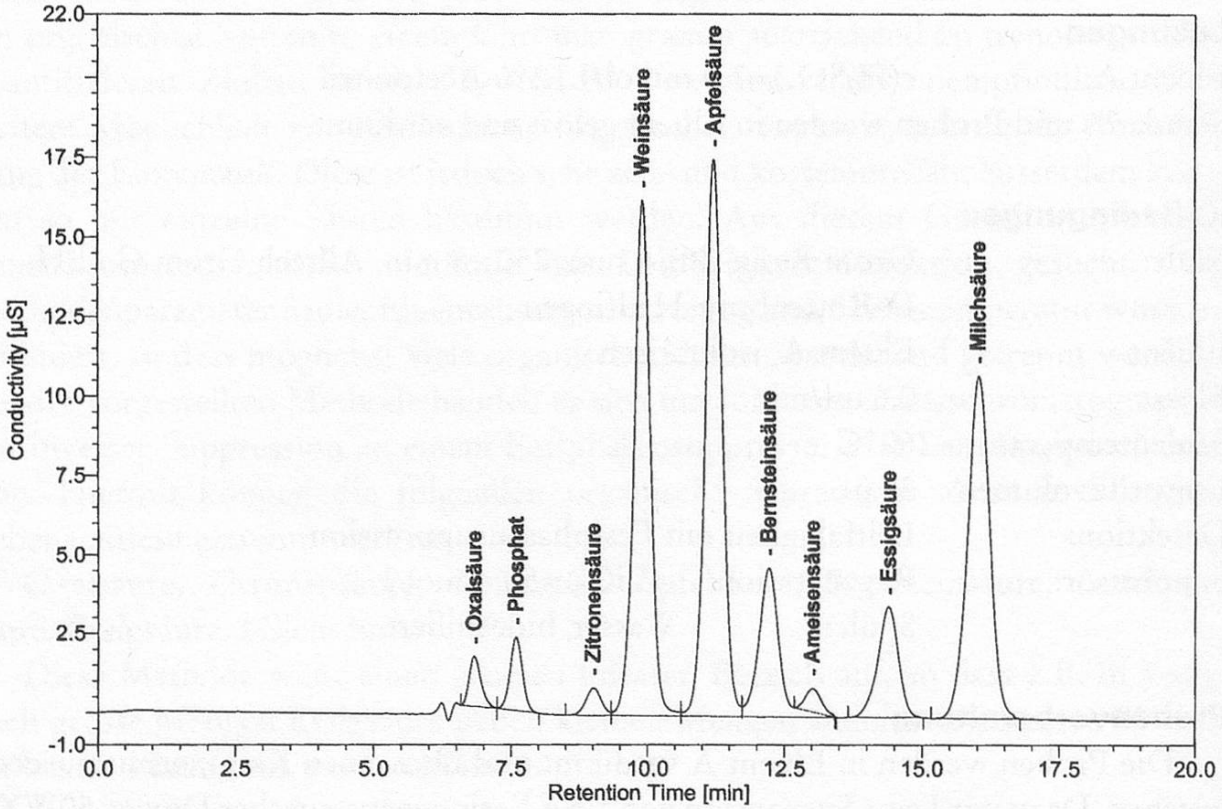

Abbildung 1 **Standardlösung.**
Legende: Oxalsäure 4,4 mg/l, Phosphat 18,5 mg/l, Zitronensäure 6,0 mg/l, Weinsäure 96,2 mg/l, Äpfelsäure 111,3 mg/l, Bernsteinsäure 33,5 mg/l, Ameisensäure 3,8 mg/l, Essigsäure 28,5 mg/l, Milchsäure 149,1 mg/l

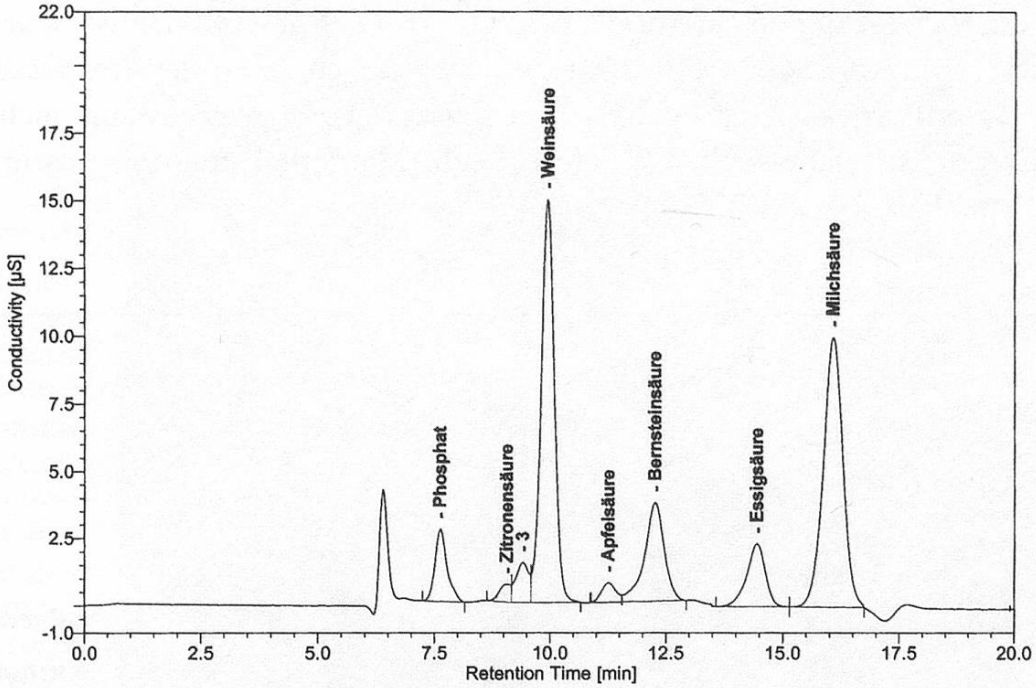

Abbildung 2 **Rotwein 1:20 verdünnt.**
Legende: Phosphat 0,50 g/l, Zitronensäure 80,0 mg/l, Weinsäure 1,67 g/l, Äpfelsäure 93,9 mg/l, Bernsteinsäure 0,59 g/l, Essigsäure 0,41 g/l, Milchsäure 2,87 g/l

In der vorliegenden Rotweinprobe lassen sich Weinsäure, Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Essigsäure und Milchsäure sehr gut bestimmen. Man kann erkennen, dass dieser Wein einem biologischen Säureabbau unterzogen wurde, da nur wenig Äpfelsäure und viel Milchsäure in der Probe enthalten ist.

Die Bestimmung der Zitronensäure wird hier durch eine unbekannte Komponente (Abb. 2, Peak 3) gestört.

Wiederfindungen

Die Wiederfindungen aufgestockter Proben liegen für verschiedene Probenmatrizes im Bereich von 90–110 % (siehe Tab. 1).

Tabelle 1
Wiederfindungen einiger organischer Säuren in verschiedenen Probenmatrizes

	Zitronensäure	*Weinsäure*	*Äpfelsäure*	*Bernsteinsäure*	*Essigsäure*	*Milchsäure*
Wein	96,3 %	96,6 %	101,9 %	108,1 %	100,8 %	95,6 %
Weinessig	109,7 %	93,4 %	95,3 %	92,1 %	98,4 %	n.b.
Apfelsaft	91,2 %	n.b.	n.b.	n.b.	96,2 %	96,4 %
Zitronensaft	99,2 %	93,1 %	96,9 %	n.b.	n.b.	n.b.
Sirup	91,1 %	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.

n.b. = nicht bestimmt.

Methodenvergleich und Ringversuche

Für die Validierung der Methode, die noch nicht abgeschlossen ist, wurden die Ergebnisse von Ameisensäure in Sirup mit den Ergebnissen der Enzymatik verglichen. Unter Berücksichtigung, dass Ameisensäure von Bernsteinsäure nicht basisliniengetrennt ist (siehe Abb. 1), liefern beide Methoden gut übereinstimmende Werte (siehe Abb. 3).

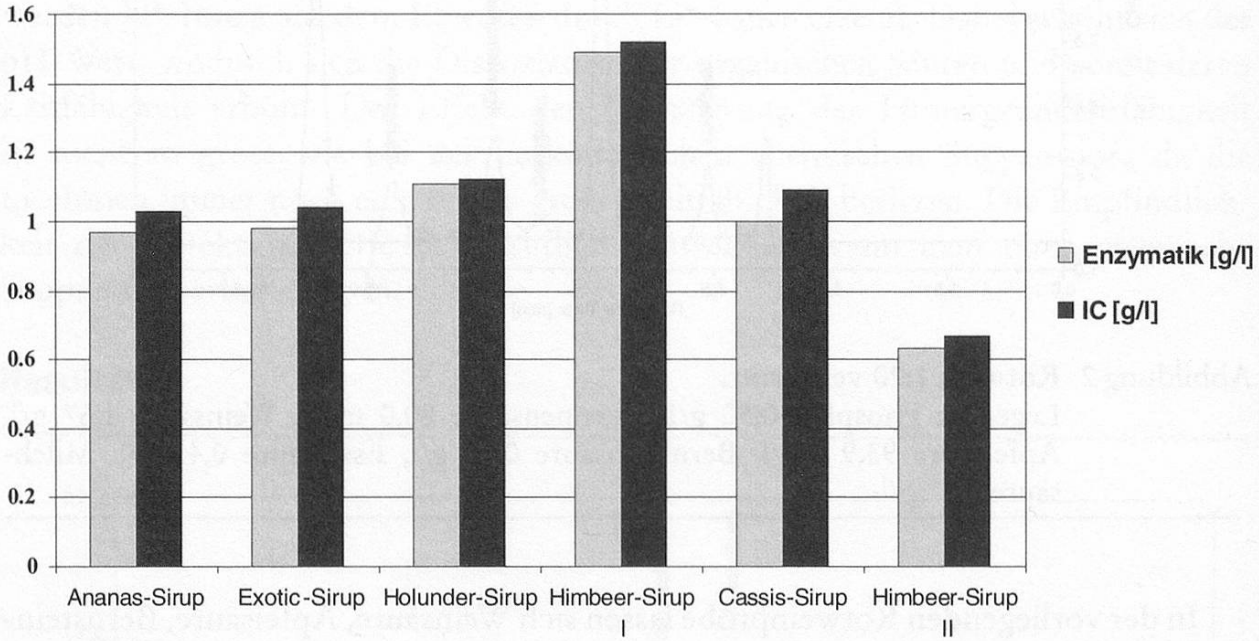

Abbildung 3 **Vergleich der Ergebnisse von Ameisensäure in Sirup, erhalten mit Enzymatik und IC**

Weiterhin wurde an zwei Wein-Ringversuchen teilgenommen. Auch hier stimmen die gefunden Werte vor allem bei den höher konzentrierten Säuren gut mit den Ringversuchs-Mittelwerten überein (siehe Tab. 2).

Tabelle 2
Gegenüberstellung der Ringversuchs-Mittelwerte mit unseren Ergebnissen für eine Rotweinprobe

Bestimmte Säure	*Ringversuch 1 Mittelwert RV [g/l]*	*Ergebnis KL-TG [g/l]*	*Ringversuch 2 Mittelwert RV [g/l]*	*Ergebnis KL-TG [g/l]*
Weinsäure	1,6	1,5	1,9	1,8
Äpfelsäure	1,0	0,9	0,1	0,1
Milchsäure	1,0	1,3	2,5	2,7

Ringversuch 1 = HEVs/agroscope 2004
Ringversuch 2 = HEVs/agroscope 2005

Retentionsreihenfolge weiterer organischer Säuren

Es wurden weitere organische Säuren auf ihr Retentionsverhalten unter diesen Bedingungen getestet (siehe Tab. 3).

Tabelle 3
Retentionszeiten verschiedener organischer Säuren

Organische Säure	*Retentionszeit [min]*
Oxalsäure	7,09
Schleimsäure	8,65/9,63
Brenztraubensäure	8,72
Isozitronensäure	9,13
Zitronensäure	9,25
Galacturonsäure	9,58
Malonsäure	9,87
Weinsäure	10,17
Äpfelsäure	11,50
Citramalsäure	12,15
Bernsteinsäure	12,45
Ameisensäure	13,15
Essigsäure	14,53
Chinasäure	14,85
Glykolsäure	15,33
Fumarsäure	15,52
Carbonat	15,82
Shikimisäure	16,30
Milchsäure	16,42
Propionsäure	17,72

Weiterhin wurden Ascorbinsäure, Salicylsäure und Gluconsäure injiziert. Ascorbinsäure und Salicylsäure ergeben unter diesen Bedingungen keinen Peak innerhalb einer Chromatographiedauer von 20 Minuten. Gluconsäure erzeugt einen langgestreckten flachen Hügel unterhalb der Äpfel-, Bernstein- und Ameisensäure. Geringe Mengen Gluconsäure, wie sie üblicherweise in Wein vorkommen, stören die Bestimmung dieser Säuren jedoch nicht.

Zusammenfassung

Bisher stand keine vernünftige Methode zur simultanen Bestimmung der für Lebensmittel relevanten Säuren zur Verfügung. Mit der hier vorgestellten Methode ist es möglich Oxalsäure, Zitronensäure, Weinsäure, Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Ameisensäure, Essigsäure und Milchsäure in flüssigen Lebensmitteln ausreichend voneinander zu trennen und zu quantifizieren. Der Trennmechanismus basiert auf einer Ionenausschlusschromatographie mit inverser Suppression an einem Festphasensuppressor und nachfolgender Leitfähigkeitsdetektion. Es handelt sich dabei um eine einfache, robuste, schnelle und, im Vergleich zur Enzymatik, kostengünstige Methode. Die Wiederfindungen aufgestockter Proben liegen für verschiedene Probenmatrizes zwischen 90 % und 110 %. Ein Methodenvergleich mit der Enzymatik

und die Teilnahme an zwei Ringversuchen zeigen eine gute Übereinstimmung der Ergebnisse. Weiterhin weist diese Methode einen grossen linearen Bereich auf, so dass z.B. in Essig grosse Mengen Essigsäure neben kleinen Mengen anderer organischer Säuren (z.B. Zitronensäure, Weinsäure, Äpfelsäure, Bernsteinsäure und Milchsäure) problemlos bestimmt werden können.

Résumé

Jusqu'à présent, aucune méthode raisonnable pour la détermination simultanée des acides organiques importants pour des aliments n'était disponible. Avec la méthode présentée ici, c'est possible de séparer suffisamment et de déterminer de l'acide oxalique, de l'acide tartrique, de l'acide malique, de l'acide succinique, de l'acide formique, de l'acide acétique et de l'acide lactique dans des aliments liquides. La méthode s'appuie sur la chromatographie d'exclusion ionique avec suppression inversement à un suppressor de la phase solide et détection conductimétrique suivant. Il s'agit ici d'une simple, robuste, rapide et, comparé à l'enzymatique, méthode économique. Les récuperations des echantillons dopés sont entre 90 % et 110 % pour les aliments liquides différentes. Une comparaison de méthode avec l'enzymatique et la participation à deux essais interlaboratoires montrent un bon accord des résultats. Cette méthode présente un grand domaine linéaire, donc dans par ex. vinaigre grandes quantités d'acide acétique peuvent être déterminées à côté de petites quantités d'autres acides organiques (par ex. acide citrique, acide tartrique, acide malique, acide succinique et acide lactique).

Summary "Determination of organic acids in food by means of ion exclusion chromatography"

Until now, the simultaneous separation and quantification of organic acids, that are relevant to food, was not possible. With the described method it is possible to separate and determine oxalic acid, citric acid, tartaric acid, malic acid, succinic acid, formic acid, acetic acid and lactic acid in liquid food samples. The method is based on ion exclusion chromatography with reversed suppression on a solid phase suppressor followed by conductivity detection. It is an easy, robust, fast and inexpensive method compared to for example the enzymatic method. The recoveries of spiked samples of different matrices are between 90 % and 110 %. A method comparison with the enzymatic method and the participation in two proficiency tests show a good agreement of the results. The method has a wide linear range so that it is possible to determine e.g. high amounts of acetic acid in vinegar beside low amounts of other organic acids (e.g. citric acid, tartaric acid, malic acid, succinic acid and lactic acid).

Key words

Ion exclusion chromatography, organic acids, conductivity, reversed suppression, food

Referenzen

1 «Anwendung der inversen Suppression zur Bestimmung organischer Säuren», Metrohm Information **3/2001**, S. 15–18, (2001)

2 «Comparison of suppressed and non-suppressed detection in ion exclusion chromatography», Metrohm IC Application Note No. O–19

3 Silke Unger, «Organic acids in wine», Metrohm IC Application Work, (2001)

Korrespondenzadresse: Petra Walter, Kantonales Laboratorium Thurgau, Spannerstrasse 20, CH-8510 Frauenfeld, E-Mail: petra.walter@tg.ch