

Bestimmung von Konservierungsstoffen in Lebensmitteln und Kosmetika mittels HPLC

Einleitung:

Die Überprüfung der Einhaltung von gesetzlich festgelegten Höchstmengen an Konservierungsstoffen in Lebensmitteln und Kosmetika kann mittels HPLC durchgeführt werden. Handelsübliche Anwendungskonzentrationen in direkt verzehrten Lebensmitteln liegen bei ca. 0,1 % für Sorbinsäure und Benzoessäure und bei 0,05 % für para-Hydroxybenzoessäure (PHB) und PHB-Ester. Die Bestimmung der im Extrakt enthaltenen Konservierungsstoffe erfolgt mittels HPLC und anschließender UV-Detektion bei verschiedenen Wellenlängen. Dabei erfolgt die Identifizierung anhand der Spektren und der Retentionszeiten. Dies ist von Vorteil, da diverse Probeninhaltsstoffe ebenfalls bei 235 nm absorbieren, wie z.B. Süßstoffe und Antioxidantien.

Mit dem Smartline HPLC-System von Knauer kann eine unkomplizierte und schnelle Analyse von Konservierungsstoffen durch den Einsatz einer Eurospher 100 C8 Säule durchgeführt werden. Die Verwendung des Smartline UV-Detektors 2600 ermöglicht dabei die Wellenlängenumschaltung und gleichzeitige Spektrenaufnahme während der gesamten Analyse. Die Smartline Anlage besteht aus der Pumpe 1000, dem Multiwellenlängen UV-Detektor 2600 mit DAD-Technologie, dem Autosampler 3800, dem Manager 5000 mit Degassereinheit und Niederdruckgradientenmodul und dem Säulenofen 4000.

Methodenparameter:

Säule: Eurospher 100, 125 x 4 mm (B7Y529)
 Eluent: A: Ammoniumformiat-Puffer / Methanol 50 /20
 B: Ammoniumformiat-Puffer / Methanol 50 /70
 Gradient: 0 – 15 min: 100 % auf 100 % B
 15 – 20 min: 100 % B
 Flussrate: 1 ml/min
 Temperatur: 30 °C
 Injektionsvolumen: 20 µl
 Detektion: UV(Smartline 2600) mit Wellenlängenumschaltung:
 0 – 3,75 min: 255 nm
 3,76 – 5,70 min: 235 nm
 5,71 – 25 min: 255 nm

Von den Standardsubstanzen Sorbinsäure, Benzoessäure, PHB, PHB-met, PHB-eth, PHB-prop, PHB-but und 2-Methoxybenzoessäure (ISTD) wurden Stammlösungen mit einer Konzentration von 1 mg/ml erstellt. Als Lösungsmittel für die Standardlösungen wird Wasser/Methanol (60/40, v/v) verwendet. Die chromatographischen Bedingungen (Eluentenkonzentration, Flussrate, Temperatur) wurden soweit optimiert, dass die genannten Konservierungsstoffe möglichst schnell analysiert in einem Lauf werden können. Der Konzentrationsbereich für die Kalibrierung liegt im Bereich von 10 mg/L bis 50 mg/L.

Ergebnisse:

Für alle Standards ergaben sich sehr gute lineare Kalibrierkurven mit Regressionskoeffizienten (r^2) von 0.9998 und besser. Mit der

Wellenlängenumschaltung ist eine ausreichend empfindliche Detektion möglich. Dabei wurden folgende Nachweisgrenzen ermittelt: PHB = 0,5 mg/L, 2-Methoxybenzoessäure = 2,4 mg/L, Benzoessäure = 1,4 mg/L, Sorbinsäure = 0,25 mg/L, PHB-met = 0,52 mg/L, PHB-eth = 0,57 mg/L, PHB-Prop = 0,6 mg/L, PHB-but = 0,75 mg/L. Durch die Spektrenkontrolle ist eine zusätzliche Absicherung der ermittelten Probenwerte jederzeit möglich. Dies gibt eine höhere Sicherheit bei der Bestimmung der genannten Inhaltsstoffe, da gerade in Lebensmitteln und Kosmetika die Wahrscheinlichkeit der Coelution von Begleitstoffen aus der Matrix wahrscheinlich ist. Dies kann einfach mit der Peak Purity Funktion bei Spektrenaufnahme überprüft werden.

