

Nitrit- und Nitratbestimmung in Fruchtsäften mittels UV-Detektion

S. Marten, J. Harms, Wissenschaftliche Gerätebau Dr. Ing. H. Knauer GmbH

Einleitung:

Ein Verfahren zur parallelen Bestimmung von Nitrat und Nitrit mit UV-Detektion wird beschrieben. In Lebensmitteln ist eine gleichzeitige Bestimmung von Nitrit und Nitrat zur Grenzwertkontrolle gefordert. Die akute Toxizität von Nitrat hat dabei aber nur periphere Bedeutung. Die Problematik besteht in der leichten Reduzierbarkeit von Nitrat zu Nitrit, das zum einen mit sekundären Aminen im Magen krebserzeugende Nitrosamine bilden kann und zum anderen bei Säuglingen eine Methämoglobinämie (Sauerstoffunterversorgung) verursachen kann. Um die gesetzlich festgelegten Höchstmengen zu kontrollieren wird eine HPLC-Methode mit wenig Zeit und Materialaufwand vorgestellt.

Mit dem isokratischen Smartline HPLC-System von Knauer kann eine unkomplizierte und schnelle Trennung durchgeführt werden. Die Analyse von Nitrit und Nitrat in Fruchtsäften unter Anwendung der Ionenpaarchromatographie auf Knauer RP-Phasen mit unterschiedlichen Gegenionen (n-Octylammonium bzw. Tetrabutylammonium) wurde untersucht. Die Detektion erfolgt dabei mittels UV bei 210 nm. Die verwendete Smartline Anlage besteht aus der Pumpe 1000, dem UV-Detektor 2500, dem Autosampler 3800, dem Manager 5000 mit Degasser und dem Säulenofen 4000.

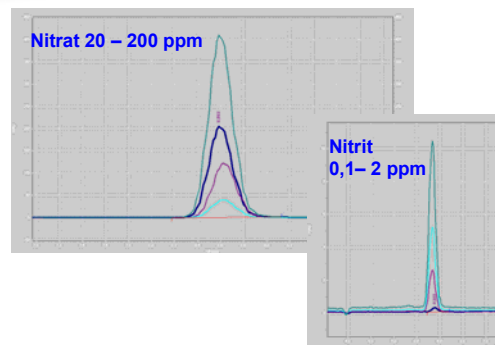
HPLC-Methodenparameter:

Säule: Eurosil Bioselect 300-5 C18, 120 x 4 mm (I7Y413) / Eurospher 100-5 C18, 250 x 4,6 mm (1115Y535)
 Eluent: 0,01 M n-Octylamin, eingestellt auf pH 4 / 5 mM Tetrabutylammoniumhydrogensulfat eingestellt auf pH 6,5
 Fluss: 1 ml/min
 Temperatur: 30 °C / 40 °C
 Injektionsvolumen: 5 µl
 Detektion: UV(Smartline 2500) bei 210 nm

Probenvorbereitung:

Carrez-Lösung I: Lösung von Kaliumhexacyanoferrat(II) in Wasser, p.A., c = 150 g/L
 Carrez-Lösung II: Lösung von Zinksulfat in Wasser, p.A., c = 300 g/L

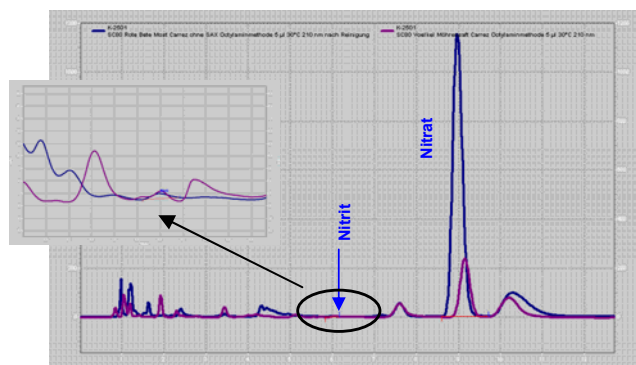
SPE-Aufarbeitung: SAX-Kartusche mit 2 ml MeOH und 4 ml Wasser spülen, 1 ml Probenaufnahme, mit 3 x 1 ml Wasser spülen, Elution mit 2 ml 0,5 M NaCl-Lösung



Vom Nitrit-Standard werden zur Kalibrierung Lösungen im Bereich von 0,1 ppm bis 25 ppm erstellt und analysiert. Für Nitrat wurde der Konzentrationsbereich auf 250 ppm erweitert. Zur Untersuchung werden Frucht- und Gemüsesäfte verwendet, die zur Probenaufarbeitung mit Carrez I und II Lösung im Verhältnis 50:1 versetzt wurden. Nach der Fällung wird der Überstand abzentrifugiert. Zusätzlich kann zur Abtrennung von coelulierenden Begleitstoffen die Probe über eine SPE Anionenaustauscherkartusche gereinigt werden. Das Filtrat wird direkt zur HPLC-Analyse eingesetzt.

Ergebnisse:

Da beide Ionen in stark unterschiedlicher Konzentration vorliegen, ist eine gleichzeitige Bestimmung mit einem Leitfähigkeitsdetektor innerhalb eines eingestellten Empfindlichkeitsbereiches nicht immer realisierbar. Hierin liegt die Stärke dieser Methode mit Ionenpaarchromatographie und UV-Detektion. Bis zu einer Konzentration von 0,1 ppm können beide Ionen problemlos mit der vorgestellten Analytik detektiert werden. Dieser Wert markiert das Quantifizierungslimit für beide Ionen. Der Einsatz unterschiedlicher



Ionenpaarverbindungen als Eluenten soll noch vorhandene Coelutionen verschieben und der besseren Absicherung der Ergebnisse dienen. Für die Standards ergaben sich sehr gute lineare Kalibrierkurven für beide Eluenten mit Regressionskoeffizienten (r^2) von 0.9998 und besser. Die Wiederfindungsraten liegen ohne Festphasenaufarbeitung für beide Ionenarten bei 95 – 98 %, sie werden durch die Carrez-Fällung nicht beeinflusst. Der zusätzliche Einsatz der Festphasenextraktion minimiert die Wiederfindung nur geringfügig, allerdings nimmt die Empfindlichkeit durch die Elutionsverdünnung (1 ml Probenaufnahme / 2 ml Extraktionsvolumen) um den Faktor 2 ab. In den untersuchten Säften wurden Nitritkonzentrationen unterhalb des Quantifizierungslimit von 0,1 ppm detektiert, was zu erwarten war, da nach Auskunft der Hersteller der Grenzwert bei 0,1 ppm liegt und nicht überschritten werden darf. Bei den Nitratwerten wurden starke Unterschiede zwischen den Gemüsesäften festgestellt. So liegt der Nitratwert für einen untersuchten Möhrensaft bei 140 ppm, dagegen wurde für einen Rote Beete Saft ein Nitratwert von 850 ppm (außerhalb des Kalibrierbereiches) abgeschätzt.