

# Bestimmung von Süßstoffen aus Wasser

H. R. Wollseifen, Düren/D, T. Kretschmer, Düren/D, M. Roedel, Düren/D, H. Riering, Düren/D  
Dr. H. R. Wollseifen, MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG, Neumann-Neander-Str. 6-8, 52355 Düren/D



Süßstoffe werden seit Jahrzehnten in vielen Lebensmitteln und Kosmetika eingesetzt. Viele dieser Stoffe werden unverändert vom menschlichen Körper ausgeschieden und gelangen in die Umwelt. Da Kläranlagen nicht in der Lage sind, die Gehalte dieser Analyten ausreichend abzusinken, sind Süßstoffrückstände ein geeigneter Indikator für anthropogene Verunreinigungen<sup>[1]</sup>. In der Umwelt- und Lebensmittelanalytik nimmt daher die Bedeutung von erfolgreichen Anreicherungs- und Bestimmungsverfahren immer mehr zu. Bei Mineralwässern wird beispielsweise das Vorkommen von Süßstoffen in Bezug auf die geforderte ursprüngliche Reinheit diskutiert und im Rahmen des Lebensmittelmonitorings 2015 von der amtlichen Lebensmittelüberwachung überprüft<sup>[2]</sup>.

## Anschlussanalytik

### Lösungsmittelwechsel

Die Eluate werden unter Stickstoffstrom bei 40 °C bis zur Trockne eingengt und in 1 mL Wasser-Acetonitril (95:5, v:v) wieder aufgenommen.

### Chromatographische Bedingungen

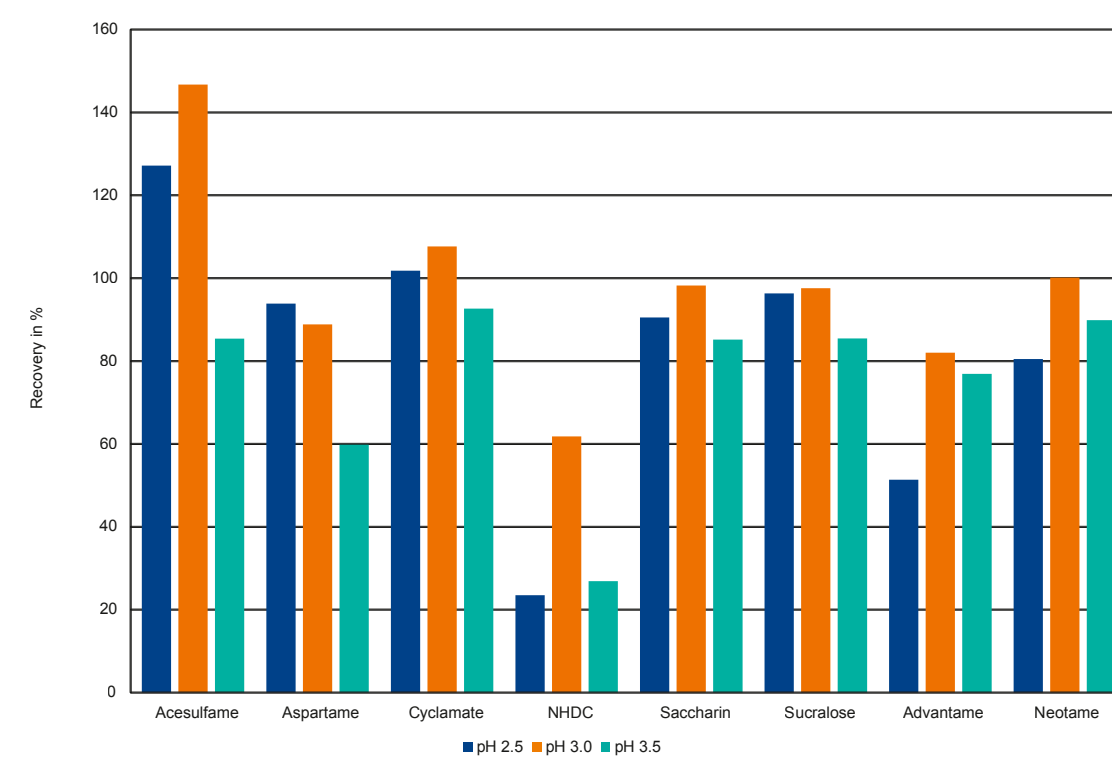
Säule: EC 100/2 NUCLEOSHELL® RP 18plus, 2,7 µm  
Eluent: A) H<sub>2</sub>O (Millipore) + 0,1 % Ameisensäure, B) Acetonitril + 0,1% Ameisensäure  
Gradient: 5–55 % in 5 min, 55–95 % in 1 min, 95 % für 2 min, 95–5 % in 0,1 min, 5 % für 4,9 min  
Fluss: 0,3 mL/min  
Temperatur: 30 °C  
Injektionsvolumen: 10 µL

## Probenvorbereitung

### Einfluss des pH-Wertes bei kleinem Probenvolumen auf HR-X

Probenvorbereitung: Zugabe von 0,25 mL Pufferkonzentrat (1 mol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 2,5, 3,0 oder 3,5)

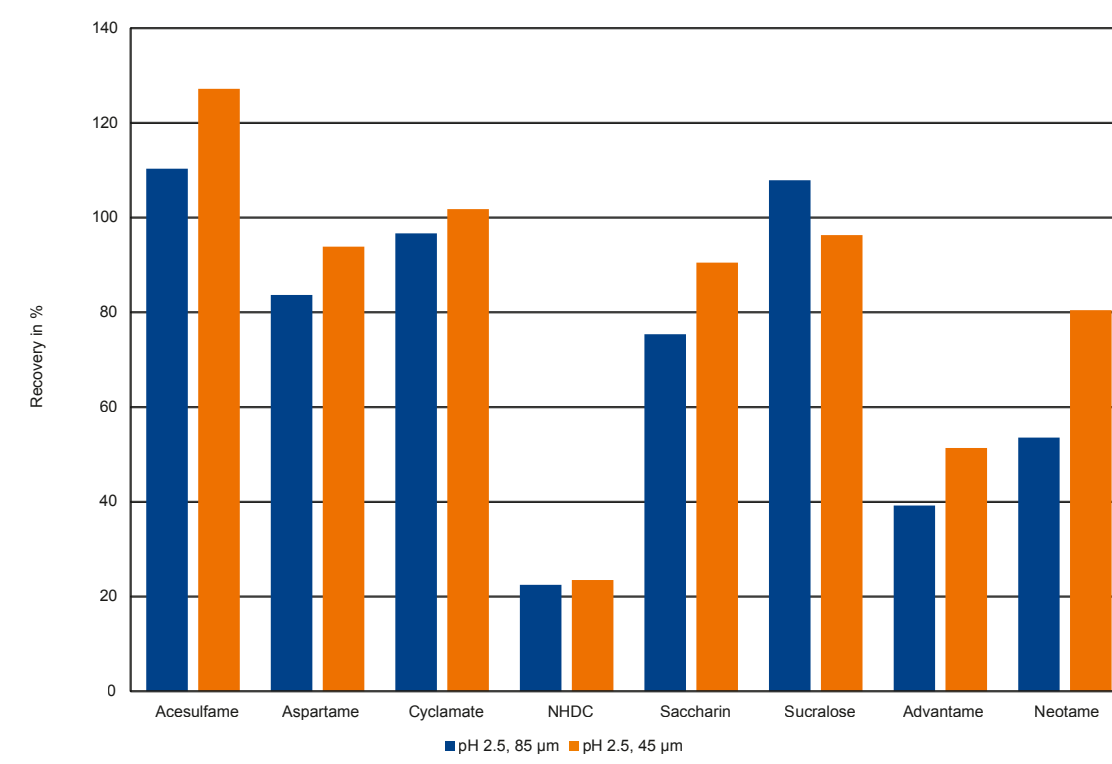
Säulentyp: CHROMABOND® HR-X, 45 µm, 3 mL, 60 mg  
Konditionierung: 3 mL Methanol\*  
Equilibrierung: 3 mL Puffer (25 mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 2,5, 3,0 oder 3,5)\*  
Probenaufgabe: 10 mL Probenlösung (β = 5 ng/mL je Analyt)\*\*  
Waschen: 4 mL Puffer (25 mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 2,5, 3,0 oder 3,5)\*  
Elution: 3 mL Methanol\*



### Einfluss der Partikelgröße bei kleinem Probenvolumen auf HR-X

Probenvorbereitung: Zugabe von 0,25 mL Pufferkonzentrat (1 mol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 2,5)

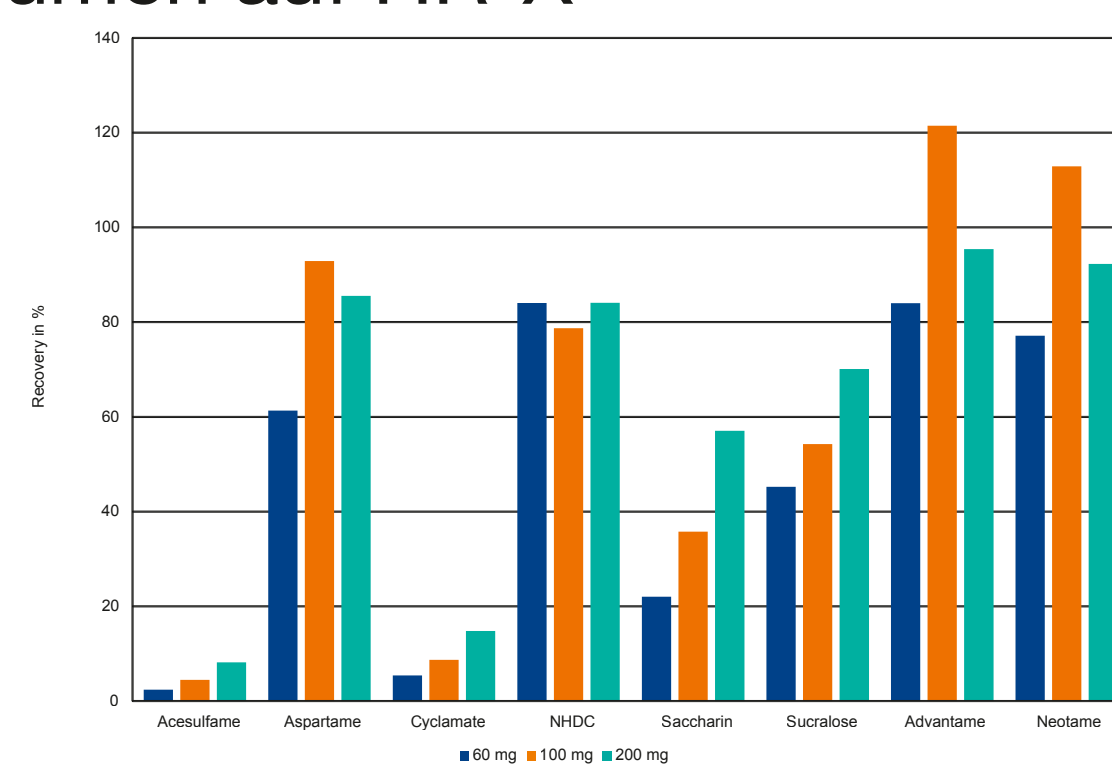
Säulentyp: CHROMABOND® HR-X, 45 µm oder 85 µm, 3 mL, 60 mg  
Konditionierung: 3 mL Methanol\*  
Equilibrierung: 3 mL Puffer (25 mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 2,5)\*  
Probenaufgabe: 10 mL Probenlösung (β = 5 ng/mL je Analyt)\*  
Waschen: 4 mL Puffer (25 mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 2,5)\*  
Elution: 3 mL Methanol\*



### Einfluss Kartuschenfüllmenge bei 1 L Probenvolumen auf HR-X

Probenvorbereitung: Zugabe von 25 mL Pufferkonzentrat (1 mol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 2,5)

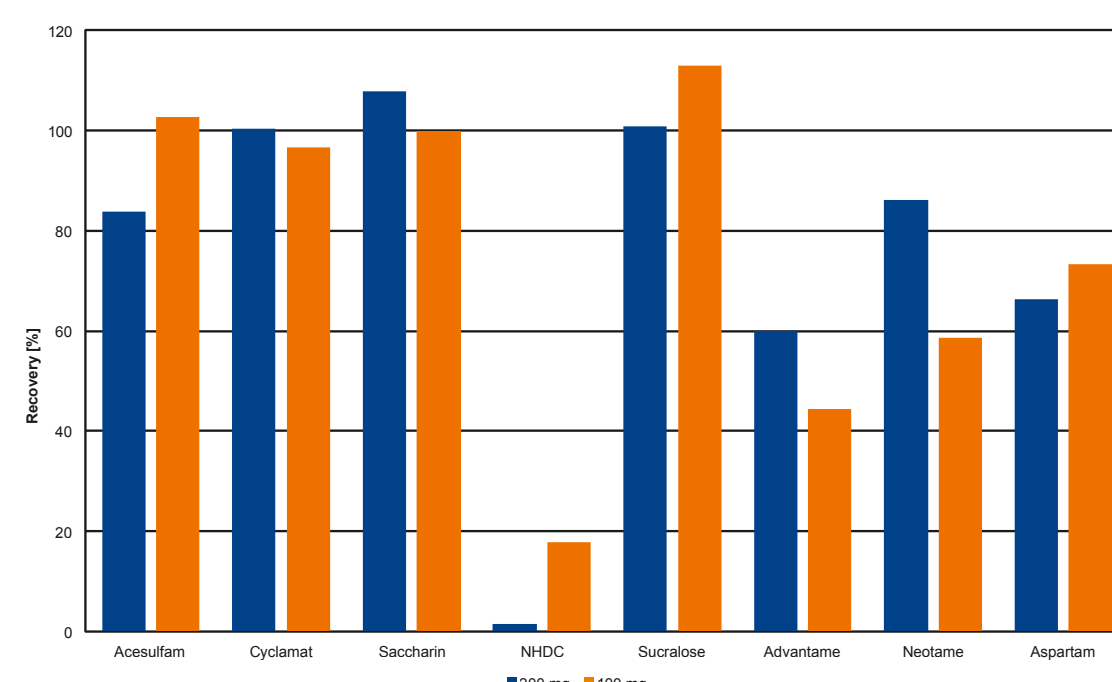
Säulentyp: CHROMABOND® HR-X, 45 µm, 3 mL, 60 mg, 100 mg oder 200 mg  
Konditionierung: 3 mL Methanol\*  
Equilibrierung: 3 mL Puffer (25 mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 2,5)\*  
Probenaufgabe: 1 L Probenlösung (β = 50 µg/L je Analyt)\*\*  
Waschen: 4 mL Puffer (25 mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 2,5)\*  
Elution: 3 mL Methanol\*, für die Füllmengen 100 mg und 200 mg erhöhen sich die aufgegeben Volumina bei der Konditionierung, der Equilibrierung und der Elution von 3 mL auf 5 mL



### Einfluss Kartuschenfüllmenge bei 1 L Probenvolumen auf HR-XAW

Probenvorbereitung: keine erforderlich

Säulentyp: CHROMABOND® HR-XAW, 45 µm, 3 mL, 100 mg oder 200 mg  
Konditionierung: 3 mL Methanol\*  
Equilibrierung: 3 mL H<sub>2</sub>O\*  
Probenaufgabe: 1 L Probenlösung (β = 50 µg/L je Analyt)\*\*  
Waschen: 4 mL H<sub>2</sub>O\*  
Elution 1: 3 mL Methanol\*  
Elution 2: 3 mL Methanol + 1 % NH<sub>3</sub> (vol.)\*



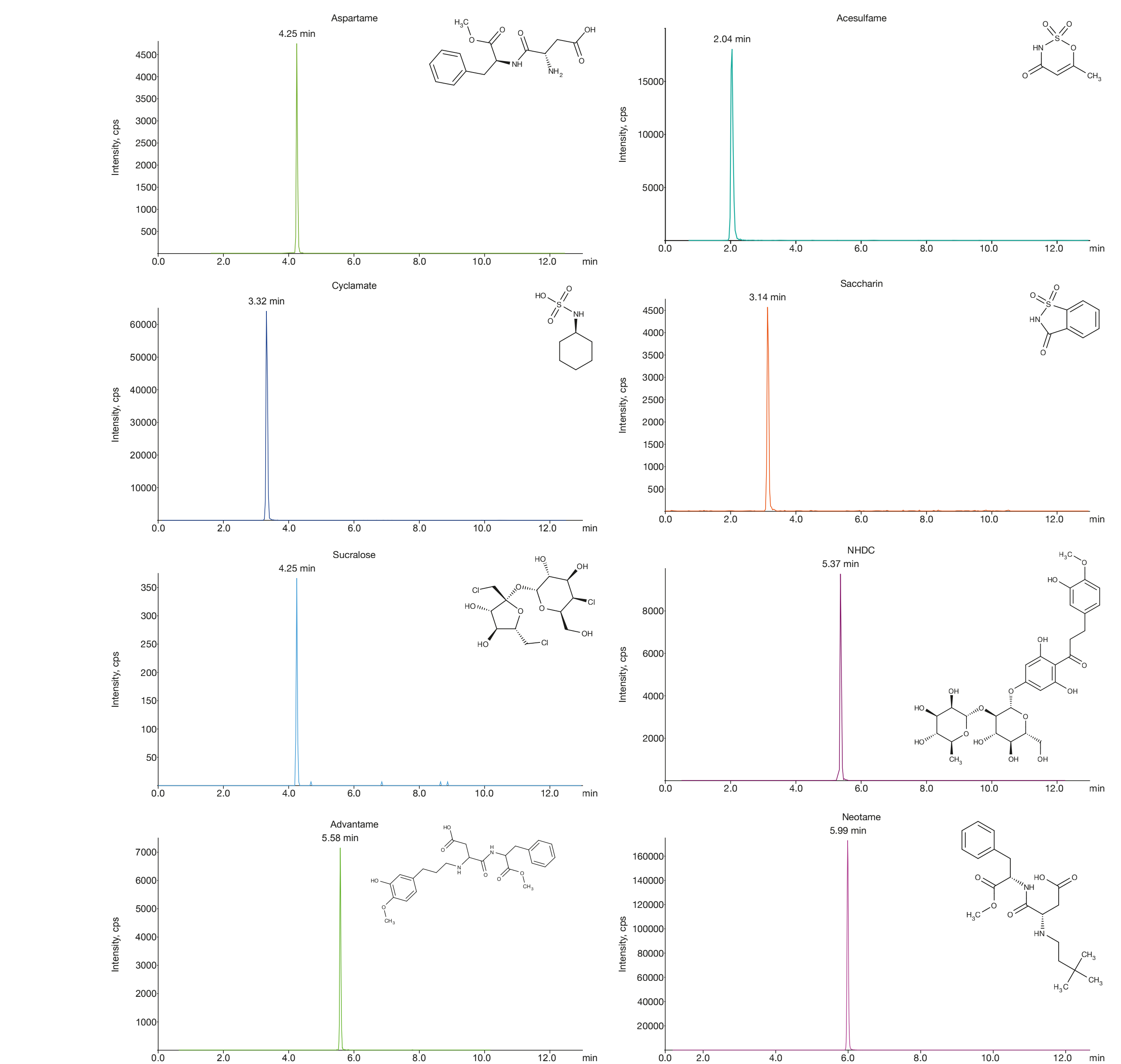
\* Fluss: 1–2 mL/min  
\*\* Fluss: 5–10 mL/min

### Wiederfindungsraten mit HR-X (200 mg, 45 µm) bei 1 L Auftragsvolumen und pH 2,5

| Analyt    | Wiederfindungsrate (%) |
|-----------|------------------------|
| Acesulfam | 8 %                    |
| Aspartam  | 86 %                   |
| Cyclamat  | 15 %                   |
| NHDC      | 84 %                   |
| Saccharin | 57 %                   |
| Sucralose | 70 %                   |
| Advantam  | 95 %                   |
| Neotam    | 92 %                   |

### Wiederfindungsraten mit HR-XAW (200 mg, 45 µm) bei 1 L Auftragsvolumen

| Analyt    | Elution 1 (%) | Elution 2 (%) | Summe (%) |
|-----------|---------------|---------------|-----------|
| Acesulfam | 84 %          | 0 %           | 84 %      |
| Aspartam  | 0 %           | 66 %          | 66 %      |
| Cyclamat  | 100 %         | 0 %           | 100 %     |
| NHDC      | 2 %           | 0 %           | 2 %       |
| Saccharin | 108 %         | 0 %           | 108 %     |
| Sucralose | 0 %           | 101 %         | 101 %     |
| Advantam  | 0 %           | 60 %          | 60 %      |
| Neotam    | 0 %           | 86 %          | 86 %      |



### Parameter der massenspektrometrischen Detektion

API 3200, ion source ESI, positiv/negative ion-switching, Curtain gas 15 psig, Ionspray voltage ± 4500 V, temperature 650 °C, nebulizer gas 40 psi, turbo gas 50 psi, CAD 3.0 psi

### MRM transitions

| Analyt        | RT (min) | [M+H] <sup>+</sup> | [M-H] <sup>-</sup> | Q1    | Q2    |
|---------------|----------|--------------------|--------------------|-------|-------|
| Acesulfam     | 2,04     |                    | 162,0              | 82,1  | 77,9  |
| Aspartam      | 4,25     |                    | 293,1              | 200,1 | 261,1 |
| Cyclamat      | 3,32     |                    | 178,0              | 80,0  | 79,0  |
| Neohesperidin | 5,37     |                    | 611,2              | 303,1 | 125,0 |
| Saccharin     | 3,14     |                    | 182,0              | 42,1  | 105,9 |
| Sucralose     | 4,25     |                    | 395,0              | 35,2  | 359,1 |
| Advantam      | 5,58     | 459,2              |                    | 102,1 | 252,2 |
| Neotam        | 5,99     | 379,3              |                    | 172,2 | 85,2  |

## Diskussion der Ergebnisse

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die Anreicherung der betrachteten Süßstoffe auf CHROMABOND® HR-X bei einem kleinen Probenvolumen (10 mL) wesentlich vom pH-Wert als auch von der Partikelgröße der stationären Phase abhängt. Insbesondere bei sehr polaren Süßstoffen führt die Einstellung der Probenlösung und entsprechendes Konditionieren der Kartuschen zu einer Verbesserung der hydrophoben Wechselwirkung. Mit steigendem Probenvolumen ist eine Erhöhung der Füllmenge in der CHROMABOND® HR-X SPE-Kartusche erforderlich, um weiterhin gute Wiederfindungsraten zu erreichen. Bei größerem Probenvolumen ist jedoch die hydrophobe Wechselwirkung zwischen den Süßstoffen Acesulfam und Cyclamat mit der stationären Phase nicht mehr ausreichend. Für diese Analyten führt die ionische Wechselwirkung mit HR-XAW zu wesentlich höheren Wiederfindungsraten. Die Elution der Süßstoffe von HR-XAW erfolgt mit Methanol und ammoniakalischem Methanol, je nachdem ob die ionische oder die hydrophobe Wechselwirkung zwischen Analyt und Festphasenmaterial dominiert. Die Trennung und Quantifizierung der Süßstoffe in den Festphaseneluatens konnte erfolgreich mit einer NUCLEOSHELL® RP 18plus Säule durchgeführt werden.

### Literatur

- <sup>[1]</sup> I. M. Scheurer, Anal. Bioanal. Chem. 2009, 394 (6), 1585-1594,  
<sup>[2]</sup> Handbuch Lebensmittelmonitoring 2015

MACHEREY-NAGEL GmbH & Co. KG · Neumann-Neander-Str. 6–8 · 52355 Düren · Deutschland



Deutschland und International:  
Tel.: +49 24 21 969-0  
Fax: +49 24 21 969-199  
E-Mail: info@mn-net.com

Schweiz:  
MACHEREY-NAGEL AG  
Tel.: +41 62 388 55 00  
Fax: +41 62 388 55 05  
E-Mail: sales-ch@mn-net.com

Frankreich:  
MACHEREY-NAGEL EURL  
Tel.: +33 388 68 22 68  
Fax: +33 388 51 76 88  
E-Mail: sales-fr@mn-net.com

USA:  
MACHEREY-NAGEL Inc.  
Tel.: +1 484 821 0984  
Fax: +1 484 821 1272  
E-Mail: sales-us@mn-net.com

