

Bestimmung von Schwefeldioxid in Früchten und Fruchtprodukten durch HPLC-Biosensorkopplung

| | |
|-----------------------------|---|
| Koordinierung: | Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI), Bonn |
| Forschungsstelle I: | Forschungsanstalt Geisenheim, Institut für Oenologie und Getränkeforschung, FG Weinanalytik u. Getränkeforschung Prof. Dr. H. Dietrich |
| Forschungsstelle II: | Universität Bonn Institut für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften FG Lebensmittelchemie Prof. Dr. R. Galensa |
| Industriegruppe: | Verband der Deutschen Fruchtsaft-Industrie e.V., Bonn |
| | Projektkoordinator: Dr. C. Sprenger, Faethe Labor GmbH, Paderborn |
| Laufzeit: | 2005 – 2008 |
| Zuwendungssumme: | € 230.200,-- (Förderung durch BMWi via AiF/FEI) |

Ausgangssituation:

Schwefeldioxid ist eine Verbindung, die in vielerlei Hinsicht für die Lebensmittelindustrie von großem Interesse und deren Wirkungs- und Einsatzspektrum gut bekannt ist. Die exakte Bestimmung der Substanz, vor allem im unteren Konzentrationsbereich (< 10 ppm), ist allerdings mit der offiziellen nasschemischen Analysenmethode (IFU7a) zu unsicher. Dies kann bei der Überprüfung von gesetzlich festgelegten Grenzwerten oder beim Nachweis einer Schwefelung in Produkten sogar zur Rechtsunsicherheit führen, da unterschiedliche Ergebnisse erhalten werden. Die Probleme resultieren vorwiegend aus der großen Reaktivität des Schwefeldioxids, zum anderen bedingt sie wiederum seine vielfältigen technologisch positiven Wirkungen. Unerwünscht ist die Eigenschaft als Pseudoallergen, die bei entsprechend empfindlichen Personen Asthma auslösen kann. Durch die Verabschiedung der EU-Richtlinie 2003/89/EG, die bei der Allergenkennzeichnung auch für SO₂-Gehalte ab 10 mg/kg gilt (seit 25.11.2004), wird der Bedarf an einer zuverlässigen Analysenmethode noch dringender.

Ziel des Forschungsvorhabens war es daher, die analytischen Probleme bei der Erfassung des

Schwefeldioxids in unterschiedlichen Produkten durch den Einsatz der HPLC-Biosensorkopplung zu lösen bzw. zu minimieren. Diese Methode bietet neben der Erfassung im Spurenbereich simultan zusätzlich zur Retentionszeit eine qualitative Absicherung durch das spezifische, enzymatische Signal.

Forschungsergebnis:

Die Methode wurde für zahlreiche Fruchtsäfte, fruchtsafthaltige Getränke, Fruchtprodukte und für eine Vielzahl weiterer Probenmaterialien eingesetzt. Während in allen Fällen für die chromatographischen Analysen einheitliche HPLC-Bedingungen gewählt wurden, mussten die Aufarbeitungsbedingungen bei festen und flüssigen Matrices logischerweise variiert werden. Um in sehr komplexen, festen Proben Störungen im Spurenbereich ausschließen zu können, wurde zusätzlich ein Kombinationsverfahren von Destillation und HPLC-Enzymreaktorkopplung entwickelt und erprobt (DE-HPLC-IMER). Die Schwefeldioxidgesamtgehalte konnten sowohl im Spuren- als auch im Minorkomponenten-Konzentrations-Bereich in allen Proben gemessen werden.

Bei den geforderten Enzymvergleichen erwies sich die gentechnisch hergestellte, pflanzliche Sulfitoxidase der bisher nur zugänglichen tierischen, in einigen Punkten als überlegen, allerdings ist diese ebenfalls für die Methode geeignet. Die (selbst hergestellten) Enzymreaktoren überzeugen durch ihre äußerst hohen Stabilitäts- und Standzeiten. Eine weitere Sulfitoxidase aus einem marinen Organismus konnte nicht erfolgreich immobilisiert werden.

Methodenvergleiche mit den destillativen Verfahren und mit einer FIA-Methode zeigten eindeutig die Vorteile der HPLC-IMER vor allem bei niedrigen Konzentrationen. So kann z.B. als ungeschwefelt deklarierte Bioware auch auf Gehalte von unter 1 ppm überprüft werden. Ein entscheidender Punkt ist hierbei die Identitätsabsicherung. Zumal bei flüssigen Proben ist weiterhin die einfache Probenvorbereitung und die Möglichkeit der schnellen Serienanalytik durch einen programmierbaren Probengeber zu nennen. Dies gilt ebenfalls für die FIA, allerdings nicht im Spurenbereich. Die resultierenden Unterschiede in den gefundenen Gehalten beruhen auf der unterschiedlichen Freisetzung des gebundenen SO₂ im alkalischen bzw. bei den destillativen Methoden im sauren Milieu. Unbekannte Bindungsformen wurden auch nach verschiedenen Schwefelungsversuchen von Traubensäften nicht nachgewiesen, während bereits beschriebene bestätigt werden konnten.

Es zeigte sich, dass durch die HPLC-IMER-Methode mit alkalischer Probenaufarbeitung in allen Fällen mehr Schwefeldioxid ermittelt wurde als bei den destillativen Verfahren mit dem Zusatz von Phosphorsäure. Dies gilt speziell für den unteren, rechtlich relevanten Konzentrationsbereich (10 ppm), wo teilweise bis zu einem Drittel mehr SO₂ gefunden wurde.

Versuche mit dem Einsatz eines coulometrischen Elektrodenarray-Detektors oder mit der DE-HPLC-IMER-Kopplung, die schon niedrige Nachweisgrenze (0,1 ppm) und die qualitative Absicherung noch zu verbessern, führten bisher zu keinem positiveren Ergebnis.

Wirtschaftliche Bedeutung:

2003 betrug der Pro-Kopf-Verbrauch für Fruchtsäfte und Fruchtnektare ca. 42 Liter. Die Herstellerbranche erzielte damit einen Umsatz von 3,6 Mrd. Euro. Alle an der Produktion von Fruchtsäften und Fruchtnektaren beteiligten Un-

ternehmen unterziehen sich einer umfangreichen Qualitätskontrolle bei der Herstellung sämtlicher Erzeugnisse. Dies ist aus Wettbewerbs- und Kostengründen unbedingt notwendig, da sich kein Betrieb fehlerhafte Chargen leisten kann. Die Fruchtsaftbranche selbst umfasst rund 445 Unternehmen. 424 sind im Verband der Fruchtsaft-Industrie organisiert. Der überwiegende Teil der Unternehmen (97 %) sind KMU, die somit in besonderem Maße von den Ergebnissen dieses Vorhabens und seinem Beitrag zur Qualitätssicherung profitieren.

Vor allem bei der Beurteilung von Produkten mit niedrigen SO₂-Gehalten im unteren, rechtlich relevanten Konzentrationsbereich, gibt es oft Probleme, die in kritischen Fällen durch Ablehnung oder Beanstandung der Ware zu finanziellen Verlusten führen können. Nach den bisherigen Messungen ergibt die HPLC-Biosensorkopplung in einer gegebenen Probe immer den höchsten SO₂-Wert. Insofern wäre man damit automatisch auf der rechtlich sicheren Seite, wenn der gefundene Gehalt unter dem Grenzwert liegt. Ebenfalls die Deklarationsüberprüfung von Angaben wie „schwefelfrei“ bei Bioware oder bei Herstellern, die bewusst Produkte „garantiert“ ohne Zusatzstoffe anbieten wollen, ist so eindeutig möglich.

Die entwickelte Methode ist einfach zu handhaben und durch die langen Standzeiten der Enzymreaktoren und der Detektorelektroden auch preiswert. Die Umrüstung eines entsprechenden vorhandenen HPLC-Systems ist problemlos.

Publikationen (Auswahl):

1. FEI-Schlussbericht 2008.
2. Theisen, S., Hänsch, R., Kothe, L., Leist, U. und Galensa, R.: A fast and sensitive HPLC method for sulphite analysis in food based on a plant sulphite oxidase biosensor. *Biosens. Bioelectr.* 126, 175-181 (2010).
3. Theisen, S.: HPLC-IMER as a Fast and Sensitive Method for the Determination of Sulfur Dioxide in Foodstuffs. Dissertation Universität Bonn (2009).
4. Theisen, S., Kothe, L. und Galensa, R.: HPLC-IMER as a sensitive method for analysis of SO₂ in fruit juices. 27th Intern. Symp. on Chromatography, Münster, 21.-25.09.2009 (Poster) (2009).
5. Tschoepe M., Herzig B., Sprenger C., Theisen S. und Galensa R.: Bestimmung von Schwefeldioxid in Aprikosen und daraus

hergestellten Fruchtprodukten mittels HPLC/
Biosensorkopplung (Enzymreaktorkopplung).
Regionaltagung NRW der Lebensmittelche-
mischen Gesellschaft, Bonn, 8.03.2006, Le-
bensmittelchem. 60 (6), 138 (2006).

Weiteres Informationsmaterial:

Forschungsanstalt Geisenheim
Institut für Oenologie und Getränkeforschung
FG Weinanalytik und Getränkeforschung
Rüdesheimer Str. 28, 65366 Geisenheim
Tel.: 06722/502 311, Fax: 06722/502 310
E-Mail: h.dietrich@fa-gm.de

Universität Bonn
Institut für Ernährungs- und Lebensmittel-
wissenschaften, FG Lebensmittelchemie
Endenicher Allee 11-13, 53115 Bonn
Tel.: 0228/733798, Fax: 0228/73-3757
E-Mail: galensa@uni-bonn.de

Forschungskreis der Ernährungsindustrie e.V. (FEI)
Godesberger Allee 142-148, 53175 Bonn
Tel.: 0228/372031, Fax: 0228/376150
E-Mail: fei@fei-bonn.de

... ein Projekt der **Industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF)**

gefördert durch/via:

