

Ziele

Als matrixtolerantes Verfahren sollte eine einfache HPTLC-Methode für die Acrylamid-Bestimmung in schwierigen Matrices, z.B. Kartoffelchips, erarbeitet werden. Der Signalwert für Kartoffelchips ist nach dem Minimierungskonzept seit 2002 anhaltend bei 1000 µg/kg, wenn auch der Beobachtungswert im Vergleich zum Vorjahr von 1333 µg/kg auf 1200 µg/kg leicht abgesenkt werden konnte. Dem gegenüber steht jedoch ein gegenläufiger Median, der auf knapp 400 µg/kg anstieg. Somit scheint die Minimierung des Acrylamid-Gehaltes in Kartoffelchips anhaltend schwierig. Die Analytik von Acrylamid (AA) wird meist mittels HPLC/MS-MS durchgeführt, da das reaktive, kleine Molekül (71 Da) keinen Chromophor besitzt. In der Planar-Chromatographie sind jedoch selektive Derivatisierungsreaktionen einfach durchzuführen, ebenso wie eine parallele Chromatographie unter identischen Bedingungen.

Ergebnisse und Diskussion

Die neu entwickelte, in allen Schritten automatisierte und validierte planar-chromatographische Methode zur Bestimmung von Acrylamid in Kartoffelchips basiert auf der beschleunigten Lösungsmittel-extraktion (ASE) und anschließender in-situ Derivatisierung des Extraktes in der Startzone auf der HPTLC-Platte. Die Derivatisierung von Acrylamid zu einem fluoreszierenden Produkt (D3-Dansylpropanamid, DPA) erfolgt für alle Proben simultan und ist daher sehr effizient. Zudem verbessert die Derivatisierung zu einem höhermolekularen Produkt die Selektivität der Detektion. Die Trennung (Abb. 1) erfolgt auf einer HPTLC-Kieselgelplatte mit Ethylacetat als mobile Phase. Zur Fluoreszenzverstärkung wird die HPTLC-Platte in eine Polyethylenglykollösung getaucht und mittels Fluoreszenzmessung bei 254/>400 nm ausgewertet.

Ein Vergleich der Kalibrierkurven auf verschiedenen Platten zeigt die sehr gute Wiederholbarkeit der prächromatographischen Derivatisierung. Der Vergleich der Wiederfindungsfunktion mit der externen Standardkalibration zeigt matrixbedingt eine unterschiedliche Steigung und erfordert die Kalibration über die Wiederfindungsfunktion. Die Verwendung von Dansylsulfinsäure (Abb. 3) anstelle von Dansylhydrazin als Derivatisierungs-Reagenz verbesserte nachträglich die selektive Detektion und die LOD. Bei Bedarf können positive Funde mittels Massenspektrometrie (MS) durch ein online-Interface kosteneffizient abgesichert werden (Abb. 4).

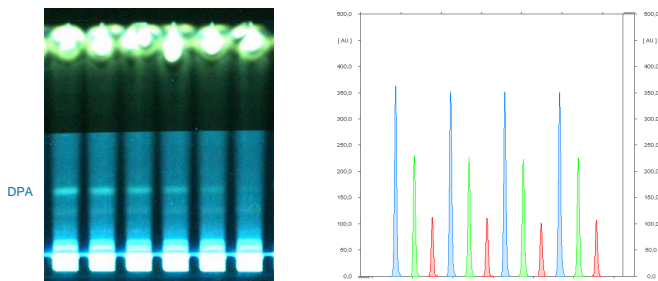


Abb. 1: HPTLC/FLD-Bestimmung bei 254/>400 nm von Acrylamid als DPA in Kartoffelchips dotiert im Bereich von 50 bis 1800 µg/kg (links); Präzision der in-situ Derivatisierung unter Wiederholbedingungen (RSD, n = 4, nur DPA-Peak) der gleichen Kartoffelchips-Probe: 1.4, 1.2 und 2.0 % bei alternierend 1884, 1211 und 518 µg/kg (rechts).

Die Präzision unter Wiederholbedingungen (RSD, n = 4) betrug für die gleiche Kartoffelchipsprobe 1.4 % (1884 µg/kg), 1.2 % (1211 µg/kg) und 2.0 % (518 µg/kg), unter Vergleichsbedingungen (RSD, n = 4) 8.8 % (1884 µg/kg), 6.6 % (1211 µg/kg) und 10.2 % (518 µg/kg). Die Nachweisgrenze (LOD, S/N 3) war 6 ng/Zone bzw. 55 µg/kg in Matrix; die Bestimmungsgrenze (LOQ, S/N 9) 10 ng/Zone bzw. 104 µg/kg in Matrix. Der funktionelle Zusammenhang (Abb. 2) war linear und das Bestimmtheitsmaß besser als 0.9969.

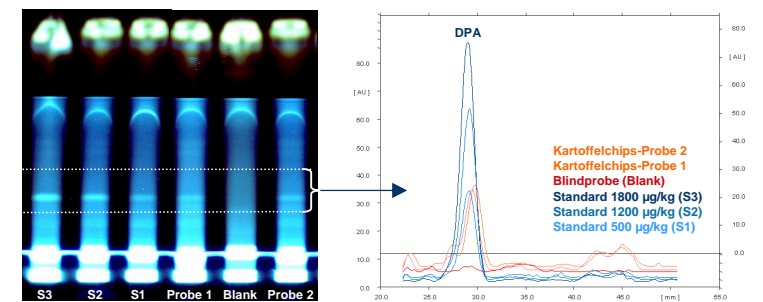


Abb. 3: Dokumentation der HPTLC-Platte mit entsprechendem Fluoreszenzscan von 3 AA-Standardkonzentrationen (500, 1200 und 1800 µg/kg, bestimmt als DPA) in Kartoffelchips-Matrix sowie 2 Kartoffelchips-Proben, jeweils dotiert mit 500 µg/kg AA, und 1 Blindprobe.

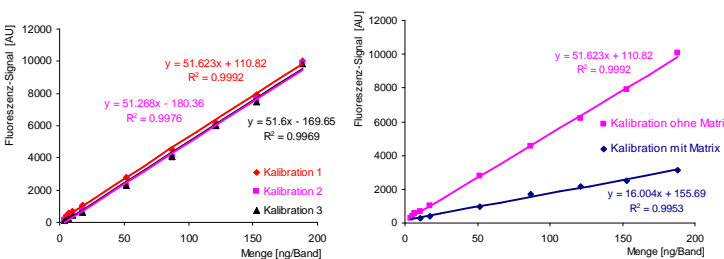


Abb. 2: Vergleich der Kalibrierungskurven auf 3 verschiedenen Platten (links) sowie der Vergleich mit (blau) und ohne Matrix (pink) im Arbeitsbereich von 100 bis 1880 µg/kg (rechts).

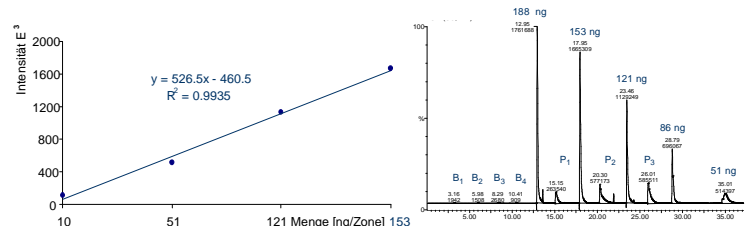


Abb. 4: HPTLC/ESI-MS von DPA im SIM-Modus bei m/z 329 $[M+Na]^+$: Kalibration (links) und Bestätigung positiver Funde (Standards mit unterschiedlichen Mengen, Blindwerten B und Proben P) (rechts).

Zusammenfassung

Die Validierungsdaten zeigen, dass AA auch mittels einer einfachen, orthogonalen HPTLC/FLD-Methode effektiv bestimmt werden kann. Koppelt man das neue Verfahren mit der MS, so ist das durch die Derivatisierung protonierte Molekül höherer Masse (m/z 307) sehr von Vorteil, da es störungsfreier als AA bei m/z 72 und mit einem einfachen MS-System anstelle eines MS/MS detektiert werden kann.

Danksagung

Dank an die Landesstiftung Baden-Württemberg (Projekt Nr. P-LS-E2/25), an Merck, Darmstadt, und an CAMAG, Berlin, für die gewährte Unterstützung.

Literatur

1. A. Alpmann, G. Morlock, 2007, in Einreichung.