

# Viel Energie, wenig Aufwand

Probenvorbereitung von Lebensmitteln im analytischen Labor:  
Mit Ultraschallbad oder mit Ultraschallhomogenisator?  
Ein Vergleich.

M. Hamacher, Dr. K. Siebertz

**Messfehler sind häufig auf die Probenahme und Probenvorbereitung von Analyten zurückzuführen. Die dabei angewandten Methoden können häufig noch verbessert werden. Für die Vorbereitung der Analytik von Lebensmitteln ist z. B. oft eine vorherige Homogenisierung der Matrix in Wasser oder Lösungsmitteln notwendig. Mit einem Ultraschallhomogenisator kann eine sehr hohe Energiemenge in kürzester Zeit und mit geringem Applikationsaufwand eingebracht werden.**

**U**ltraschall wird in Wissenschaft und Technik für die vielfältigsten Anwendungen eingesetzt. Das Homogenisieren, Emulgieren, Suspendieren, Desagglomerieren verschiedenster Substanzen, das Beschleunigen chemischer Reaktionen oder das Aufschließen von Zellen sind im Bereich der Probenvor- und -aufbereitung erprobte Einsatzgebiete. Der Energieeintrag ist selbst gegenüber dem Ultraschallbad um ein Vielfaches höher: bis zu  $1500\text{W}/\text{cm}^2$  gegenüber  $1\text{--}5\text{W}/\text{cm}^2$ . Der Einsatz ist einfach, unkompliziert, schnell und führt zu reproduzierbaren Analyseergebnissen. Im Folgenden ist der vergleichende Einsatz der Ultraschallhomogenisation und des Ultraschallbades bei verschiedensten Analysen und verschiedenen Lebensmitteln beschrieben (z. B. Backwaren, Mayonnaise, Käse). Nach der Validierung wurde die Methode für verschiedenste Probenmatrices in die Routine übernommen.

## Aufgabe und Durchführung

Bei der simultanen Bestimmung von Theobromin, Koffein, Süßstoffen sowie Konservierungsstoffen in unterschiedlichen Lebensmitteln mittels HPLC ist eine vorherige Homogenisierung der Probe im



*Wirkprinzip von Ultraschall: Ultraschallschwingungen führen in allen Flüssigkeiten zur Erzeugung von Millionen kleinster Vakuumbälchen, die sofort wieder implodieren und dabei hochwirksame Druckstöße von mehr als 1000 bar erzeugen. Dieser Prozess der sogenannten Kavitation bewirkt je nach gewähltem Energieeintrag beim Einsatz im Labor beispielsweise das Zerkleinern von Partikeln bis in den Nanobereich oder nur deren Desagglomeration, das Aufbrechen von Zellwänden für den Zellaufschluss, das intensive Vermischen von Lösungsbestandteilen, das Absprennen von Schmutz von Oberflächen u.v.m.. ©Bandelin*

Extraktionsgemisch notwendig. Unter Temperaturkontrolle soll schnell ein möglichst homogenes Ergebnis erreicht werden, ohne dass Fremdkontamination zu Fehlbefunden führt.

Es wurden Homogenisation und Analytextraktion aus Lebensmittelproben wie Mayonnaisen, feinen Backwaren, Käse, Feinkostsalaten und Milchprodukten durchgeführt. Dazu wurde ein zur Applikation passender Ultraschallhomogenisator mit entsprechender Sonotrode (Sonopuls 3200 + Sonotrode VS 70T) der Firma Bandelin electronic GmbH & Co. KG verwendet (Bild 1).

Je nach Analytkonzentration in der Probe werden 5–10 g einer zerkleinerten Probe in ein hohes 150 ml-Becherglas eingewogen, interner Standard sowie 50–60 ml Extraktionsgemisch (20% Acetonitril / Kaliumdihydrogenphosphatpuffer) zugesetzt. Optimaler Weise lässt man nun die

Probe über Nacht im Extraktionsgemisch einweichen. Die Homogenisierung erfolgt für 1–2 min bei einem Puls von 0,5 s an/1s aus mit einer Amplitude von 60 % für weichen Schnittkäse, 65 % für Frischkäse, 75 % für feine Backwaren (Stollen) und 85 % für Mayonnaise. Die Beschallung wird, wenn nötig, bis zur vollständigen Homogenisierung wiederholt. Auch kleinere Volumina können beschallt werden, es stehen verschiedene Sonotrodengrößen und -arten für den passenden Einsatz zur Verfügung. Nach der Homogenisierung wird mit Carrez I und Carrez II geklärt, mit Extraktionsgemisch auf etwa 100 ml aufgefüllt, filtriert und für die HPLC weiter mikrofiltriert.

Die vergleichende Homogenisierung im Ultraschallbad erfolgte mit dem Sonorex Super RK 255H für 15 min bei Raumtemperatur.

Nach der Beschallung mit dem Ultraschallhomogenisator werden Reste von der Sonotrode mit dem Extraktionsgemisch abgespült. Anschließend wird die Sonotrode einfach mit Wasser gespült (Spritzflasche), um Verschleppungen zu verhindern. Ein Demontieren zur Reinigung ist nicht notwendig.



Ultraschallhomogenisator.  
© Bandelin

## Ergebnis

Durch den Einsatz des Ultraschallhomogenisators können selbst schwierige Matrices wie feine Backwaren und Mayonnaisen mit hohem Fettgehalt bzw. Schnittkäse problemlos homogenisiert werden (s. Bild 2). Die kontinuierliche Temperaturkontrolle verhindert Fehlbefunde bei thermolabilen Analyten wie z. B. Aspartam. Das Extraktionsergebnis konnte bei allen Analyten und Matrices gegenüber einer Ultraschallbadbehandlung deutlich verbessert werden.

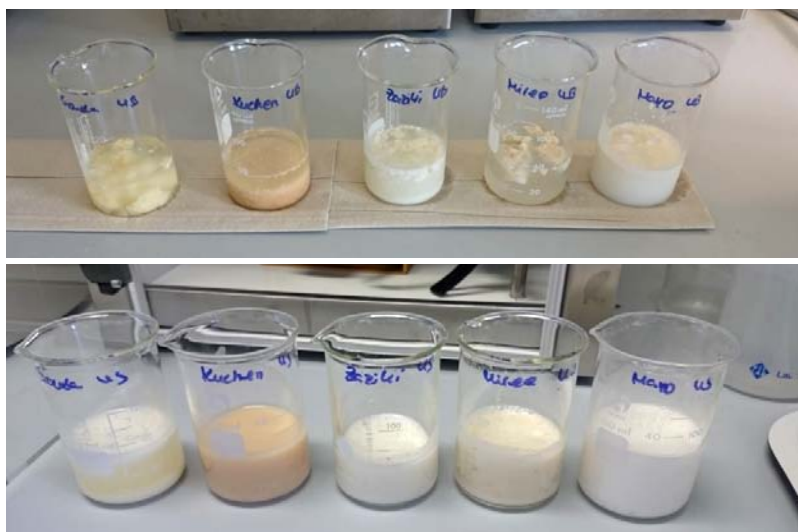


Bild 2: Ergebnis der Probenvorbereitung im Ultraschallbad 15 min, 30 °C (oben), von links nach rechts: Käse (Gouda), Kuchen, Tzaziki, Frischkäse, Mayonnaise. Ergebnis der Behandlung mit dem Ultraschallhomogenisator (45 s bis 2 min), unten. © Bandelin

Insgesamt sind die gemessenen Gehalte von Ringversuchsmaterial leicht oberhalb des angegebenen Mittelwertes zu finden, was vermutlich sowohl in der Verwendung eines internen Standards als auch in der vollständigeren Extraktion durch den Einsatz des Ultraschallhomogenisators begründet ist. Dennoch sind die ermittelten Werte sicher im Bereich des 2 z-scores – i.d.R. < 1 z-score und damit ausreichend genau und reproduzierbar.

Seit 2017 wird die Methode ebenfalls für Ringversuche angewendet. Die Ringversuchsproben umfassten die Bestimmung der Konservierungsstoffe in Feinkostsalaten, der Sorbinsäure, Theobromin und Koffein in einer kakaohaltigen Backware, Süßstoffe und Koffein in Soft Drinks sowie Konservierungsstoffe in Mayonnaise. Auch die sichere Aspartam-Bestimmung im Soft-Drink (z-score – 0,4) schließt einen Abbau des thermolabilen Analyten aus.

Sechsfach-Bestimmungen bei Mayonnaise zeigten eine relative Standardabweichung von 1,3 % bei der Benzoesäure und 0,99 % bei der Sorbinsäure. Durchgeführte Doppelbestimmungen liegen durchweg in einem engen Bereich – damit ist eine sehr gute Reproduzierbarkeit gegeben.

## Fazit

Das Homogenisations- und Extraktionsergebnis der Ultraschallhomogenisierung ist überzeugend. Die Temperaturkontrolle vermeidet Verluste durch thermische Zersetzung empfindlicher Analyten. Im Gegensatz zu Hochleistungsdispersiergeräten ist die Sonotrode ohne Abbau leicht zu reinigen, wodurch Kontaminationen vermieden werden und zeiteffizienter gearbeitet werden kann. Der Einsatz einer Lärmschutzbox ist zu empfehlen, ggf. sollte zusätzlich Gehörschutz getragen werden. Trotz der beschriebenen Nachteile ist die Akzeptanz beim Laborpersonal auf Grund des überzeugenden Homogenisierungsergebnisses und der leichten Reinigung groß, und die Methode wird in der Routine, soweit passend, eingesetzt.

Bandelin stellt auf Anfrage Applikationsprotokolle zu passenden Anwendungen zur Verfügung. Nichtsdestotrotz wird der individuelle Test immer empfohlen. Die Geräte können nach Anforderung im eigenen Labor oder in Anwender-/Fortbildungsseminaren mit eigenen Proben getestet werden.

### AUTOREN

**M. Hamacher**

Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt  
Westfalen (CVUA), Standort Hagen

**Dr. K. Siebertz**

TDCLAB Dr. Siebertz GmbH, Nidderau