

Probenvorbereitung für die HPLC-Analytik von Süßwaren

Proben mit Labormøhlen optimal homogenisieren

Dr. Tanja Hanke

Für die zuverlässige Analytik muss gewährleistet sein, dass wenige Milligramm bzw. Gramm des Probenmaterials repräsentativ für das Ausgangsmaterial sind. Dies wird durch die vorherige Zerkleinerung bzw. Homogenisierung mit Labormøhlen sicher gestellt.

Süßwaren unterliegen wie alle anderen Lebensmittel einer strengen Qualitätskontrolle. Die zu bestimmenden Parameter reichen von Nährwert, Feuchte- oder Fettgehalt bis hin zur Quantifizierung bestimmter Inhaltsstoffe wie Vitaminen oder Alkaloiden. Oft werden zur Analyse der Inhaltsstoffe chromatographische Methoden angewandt, z.B. High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Da in der Analytik nur einige Milligramm oder Gramm der Proben benötigt werden, stellt die vorherige Zerkleinerung bzw. Homogenisierung sicher, dass diese kleine Teilmenge die gesamte Ausgangsprobe repräsentiert und so reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden.

Außerdem weisen homogenisierte Proben ein deutlich besseres Extraktionsverhalten auf.

Süßwaren unterscheiden sich stark in ihrer Konsistenz, sie sind unterschiedlich hart, klebrig, fettig oder feucht und oft inhomogen. Ideale Helfer bei dem wichtigen Schritt der Probenvorbereitung sind Labormøhlen wie sie von Retsch in verschiedenen Bauarten angeboten werden. Durch die Wahl einer geeigneten Møhle und des entsprechenden Zubehörs las-

sen sich alle Herausforderungen, die bei der Homogenisierung verschiedenster Proben entstehen, problemlos meistern. Grundsätzlich muss die Zerkleinerung sowohl an die Probeneigenschaften als auch an die Anforderungen der nachfolgenden Analytik angepasst werden, um falsche Aussagen zu vermeiden. Mahlparameter und Zubehör sind so zu wählen, dass die zu untersuchenden Eigenschaften der Probe durch die Behandlung nicht verändert werden. Unterschiedliche Analysemethoden erfordern unterschiedliche Probenvorbereitung und Partikelgrößen. Für die HPLC-Analytik ist eine Feinheit von 0,5 - 0,75 mm optimal. Auf die Analytik von Süßwaren, einschließlich der Probenvorbereitung, ist z.B. das Institut für Qualitätsförderung in der Süßwarenwirtschaft e.V. (IQ.Köln) spezialisiert. Das Institut ist seit Februar 2005 gemäß DIN EN ISO 17025 für die Untersuchung von Lebensmitteln mittels HPLC mit UV/VIS-, Fluoreszenz- und auch Tandem-MS-Detektion sowie mittels Gaschromatographie mit Flammenionisations- und MS-Detektion akkreditiert.

Zerkleinerung harter Bonbons und zähplastischer Toffees

Im IQ.Köln werden Bonbons und Toffees in der Messermøhle Grindomix GM 200 von Retsch homogenisiert. Der Schneideffekt wird bei dieser Møhle durch die scharfen Stahlklingen des Rotors erzeugt, welcher die sichere Zerkleinerung und Homogenisierung sowohl von harten Bonbons als auch von zähplastischen und stark haftenden Toffees ermöglicht. Mit der GM 200 lassen sich repräsentative Proben in wenigen Sekunden produzieren. Variable Drehzahlen, eine umfangreiche Auswahl an Behältern und Deckeln sowie die Autoklavierbarkeit der Mahlwerkzeuge machen die Møhle universell einsetzbar.



Abb. 1: Messermøhle Grindomix GM 200

Mühlen und Siebmaschinen

100 g harte Bonbons werden am IQ.Köln in einem Stahlmahlbecher zunächst einige Sekunden in umgekehrter Drehrichtung mit der Schlagseite des Messerrückens grob vorzerkleinert. Danach wird die Mühle für eine weitere Zerkleinerung der Probe 15 Sekunden vorwärts im Intervall mit 4000 U/min betrieben. Im anschließenden Feinvermahlungsschritt werden die Bonbons ein bis zwei Mal für 6 Sekunden bei 6000 U/min auf Partikelgrößen $< 0,5$ mm reduziert. Durch diese Vorgehensweise lässt sich das Verkleben der Mahlwerkzeuge durch den hohen Zucker- und Stärkesirupanteil, wie es bei anderen Mühlentypen oder Haushaltsmixern auftreten kann, erfolgreich vermeiden. Zähplastische Toffees werden vor der Vermahlung samt Stahlbecher zunächst im Gefrierschrank deponiert und anschließend, ebenso wie die harten, spröden Bonbons, im gefrorenen Zustand zerkleinert. Das Labor-team des IQ.Köln schätzt die Effizienz der GM 200 gerade bei der Vermahlung der schwer zu zerkleinernden Toffees. Die Reinigung aller Bestandteile, die mit der Probe in Berührung kommen (Behälter, Deckel, Messer), erfolgt einfach und schnell in der Spülmaschine.

Vitamin C – Analytik

Bonbons werden oft mit Vitamin C angereichert, welches mittels HPLC nach ASU L00.00-85 quantifiziert werden kann. Ascorbinsäure ist zudem ein sehr häufig genutztes Konservierungsmittel. Zur Analyse löst man die zerkleinerten Bonbons in Wasser, stabilisiert das Vitamin C mithilfe von Metaphosphorsäure und analysiert nach einer Membranfiltration die Probenlösung mittels Umkehrphasen-HPLC und anschließender UV-Detektion. Standardgemäß wird Phosphatpuffer als Laufmittel bei einer Fließgeschwindigkeit von 1 ml/min eingesetzt, unter diesen Bedingungen eluiert Vitamin C nach 3,7 min.

Fetthaltige, körnige Lebensmittel wie Kakaobohnen

Mittelharte, körnige Lebensmittel wie Getreide oder Kakaobohnen werden am besten durch eine Kombination der Zerkleinerungsprinzipien Prall und Scherung vermahlen. Durch ein Prall-Ereignis wird z. B. die Kakaobohne aufgesprengt, die kleineren Teile werden anschließend durch Scherung weiter zerkleinert. Hierfür eignet sich die Ultra-Zentrifugalmühle ZM 200 von Retsch, eine Rotormühle, die das Mahlgut durch Prall und Scherwirkung zwischen umlaufendem Rotor und feststehendem Ringsieb zerkleinert. Das Aufgabegut gelangt durch den Trichter auf den Rotor und wird durch die Zentrifugalbeschleunigung nach außen geschleudert. Beim Auftreffen auf die mit hoher Geschwindigkeit umlaufenden, keilförmigen Rotorzähne erfolgt eine Vorzerkleinerung der Probe, bevor sie anschließend zwischen Rotor und Sieb fein vermahlen wird. Dank der sehr kurzen Verweildauer im Mahlraum werden die Eigenschaftsmerkmale der Probe nicht verändert.

Im IQ.Köln werden 100 g Probe Kakaobohnen in der ZM 200 bei 18.000 U/min und Einsatz eines 1,5 mm Distanzsiebes in weniger als 10 Sekunden vollständig auf eine Größe unter 0,75 mm zerkleinert. Dank des Distanzsiebes, welches nicht so eng am Rotor anliegt, verkleben die Poren nicht durch die fettigen Probenpartikel, außerdem wird weniger Reibungswärme erzeugt. Die vermahlene Probe wird in einer Auffangkassette gesammelt. Das patentierte Kassettenprinzip, bei dem mit dem Mahlgut zwangsläufig auch das Ringsieb entnommen wird, ermöglicht die verlustfreie Rückgewinnung der Probe und erleichtert die Vermeidung von Kreuzkontaminationen. Müssen lediglich kleine Mengen bis 20 ml vermahlen werden, kann optional eine Minikassette genutzt werden.

Ret[®]
sch
Solutions in Milling & Sieving

part of **VERDER**
scientific

RETSCH bietet ein umfangreiches Programm an Mühlen und Siebmaschinen für die Proben-vorbereitung und Partikelgrößenanalyse von Lebensmitteln.

- **Labormühlen für die reproduzierbare und analysenneutrale Zerkleinerung und Homogenisierung**
- **Breite Auswahl an Analysen-siebmaschinen**
- **Einfache, sichere und komfortable Bedienung**



www.retsch.de

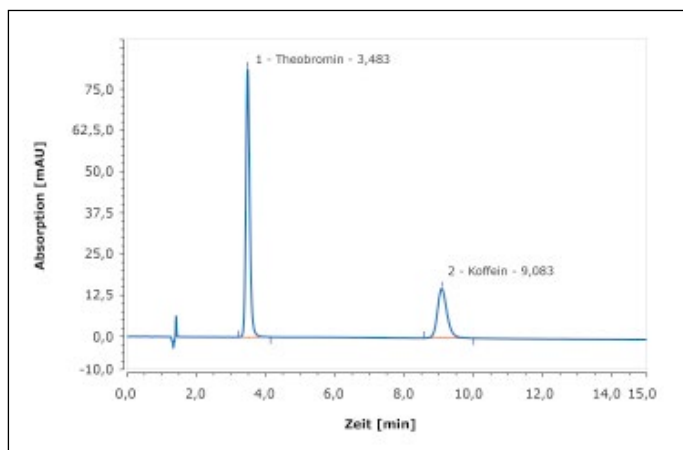


Abb. 2: Chromatogramm Alkaloid Analytik mittels Umkehrphasen-HPLC



Abb. 3a: Ausgangsprobe Kakaobohnen

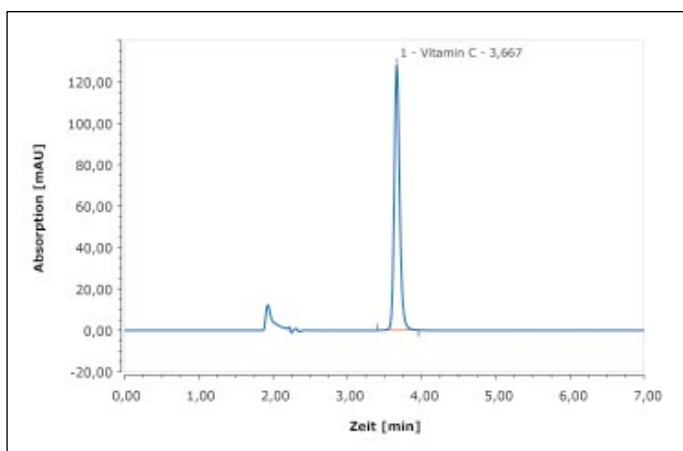


Abb. 4: Chromatogramm Vitamin C Analytik mittels Umkehrphasen-HPLC



Abb. 3b: Kakaobohnen nach der Vermahlung in der Rotormühle ZM 200

Alkaloid-Analytik

Die in Kakaobohnen und Kakaonibs enthaltenen Alkaloide, hauptsächlich Theobromin und Coffein, werden mittels HPLC nach ASU L45.00-1 quantifiziert. Kakaobohnen enthalten bis zu 0,2% Coffein sowie 1–2,5% Theobromin. Die belebende Wirkung von Theobromin auf den menschlichen Organismus ist deutlich schwächer als bei Coffein, es wirkt aber zusätzlich stimmungsaufhellend. Für die Analyse werden die zerkleinerten Bohnen in Wasser gekocht und anschließend einer Klärung unterzogen. Nach einer Zentrifugation und Membranfiltration wird der Überstand mittels Umkehrphasen-HPLC und anschließender UV-Detektion analysiert. Standardgemäß wird ein Wasser/Ethanol-Gemisch (80%/20%) als Laufmittel bei einer Fließgeschwindigkeit von 1 ml/min eingesetzt. Unter diesen Bedingungen eluiert Theobromin nach 3,5 min und Coffein nach 9,1 min.

Fazit

Mit Rotor- und Messermühlen von Retsch können alle Arten von Lebensmitteln schnell, reproduzierbar und analysenneutral homogenisiert oder zerkleinert werden. Umfangreiches Zubehör erlaubt die flexible Anpassung an Materialeigenschaften und Probenmengen. Durch die Möglichkeit der kryogenen Vermahlung, d.h. Versprödung des Mahlgutes mit Trockeneis oder Flüssigstickstoff, werden zäh-elastische Proben oder solche mit flüchtigen Bestandteilen bestens für die Analytik vorbereitet. Somit lässt sich die Effizienz eines Lebensmittelanalytiklabors durch den Einsatz dieser Mühlen erheblich steigern.



Autorin | Kontakt

Dr. Tanja Hanke

Produktmanagement
Retsch GmbH
t.hanke@retsch.com