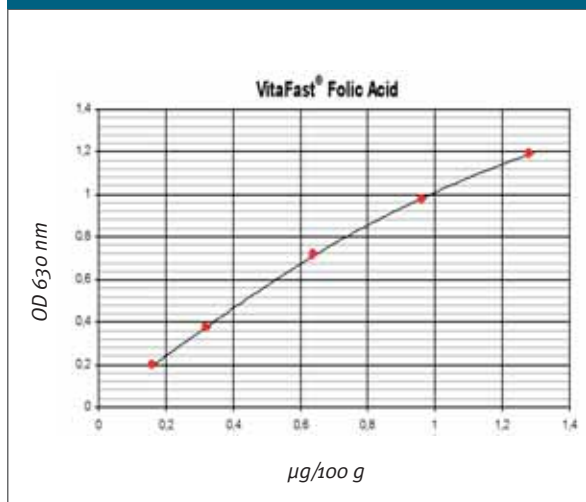


Vitaminanalytik bei Getränken – Wie viele Vitamine enthält das flüssige Obst wirklich?

Bioanalytische Verfahren | Mikrobiologische Vitaminbestimmung | Qualitätssicherung | Vitaminanalytik

Lebensmittel werden heute in vielfältiger Art und Weise mit Vitaminen und Mineralstoffen angereichert, da viele Menschen der Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE) „fünf Mal pro Tag Früchte und Gemüse zu essen“ nicht nachkommen. Die Industrie hat daraufhin das Sortiment an vitaminangereicherten Fruchtsäften erweitert. So enthalten Fruchtsäfte vor allem Vitamin C und B-Vitamine. Durch die Anreicherung deckt eine Portion bzw. 100 ml Saft zu mindestens 15 % die empfohlene Tagesdosis an deklarierten Vitaminen ab. Doch wie hoch ist der tatsächliche Vitamin Gehalt im Endprodukt? Sowohl Hersteller als auch Untersuchungsämter und Handelslaboratorien sollten heute Verfahren zur Hand haben, um schnell und sicher die zugesetzten und natürlichen Vitamingehalte eines Getränkes und auch eines Lebensmittels überprüfen zu können.

Abb. 1: Eichkurve VitaFast® Folsäure/Folic Acid



Standardkurve Folsäure	
Std n	µg/100 g mean
6	0,16
CV (%)	0,197
3,0 %	
Std 2	0,32
6	0,374
3,5 %	
Std 3	0,64
6	0,714
2,3 %	
Std 4	0,96
6	0,975
1,2 %	
Std 5	1,28
6	1,188
2,7 %	

Traditionelle mikrobiologische Verfahren zur Bestimmung der wasserlöslichen B-Vitamine, die sich durch eine hohe Nachweisempfindlichkeit bei gleichzeitig hoher Spezifität auszeichnen, sind im Markt etabliert und werden seit mehreren Jahrzehnten angewandt. Diese mikrobiologischen Bestimmungsverfahren werden ergänzt durch chromatographische Methoden wie HPLC oder LC/MS/MS. Zur Bestimmung der fettlöslichen Vitamine ist die HPLC mit UV-Detektion die Methode der Wahl.

Bei der mikrobiologischen Vitaminbestimmung vermehren sich bestimmte Mikroorganismen nur bei Anwesenheit des zu bestimmenden Vitamins. Diese Mikroorganismen müssen zunächst in einem optimalen Nährmedium gezüchtet werden. Bei Überimpfung in ein Nährmedium, dem das zu bestimmende Vitamin fehlt, unterbleibt das Wachstum. Wird durch Zugabe des Standards oder der Probe das fehlende Vitamin zugesetzt, beginnen die Keime zu wachsen, was durch eine Trübung des Nährmediums sichtbar wird. Diese Trübung kann photometrisch bestimmt werden.

Zu den folgenden Punkten lesen Sie bitte die Veröffentlichung in FLÜSSIGES OBST 1-2009, Seite 22 ff.

Probenextraktion · Assay - Medium · Probenverdünnung
Standardkurve · Mikrotiterplatte ·
Messung und Auswertung

Bei der traditionellen mikrobiologischen Methode muss der eingesetzte Mikroorganismus angezüchtet und durch regelmäßiges Überimpfen ständig vorrätig gehalten werden. Vor der eigentlichen Bestimmung muss der Keim frisch hergestellt und die Keimzahl vor der Einsaat in das Assay-Medium eingestellt werden. Dies erfordert einen hohen Personal- und Zeitaufwand. Die Genauigkeit und die Präzisionsdaten ergeben oftmals keine zufriedenstellenden Ergebnisse.

Das ifp, Institut für Produktqualität in Berlin, hat ein mikrobiologisches Vitamin-Bestimmungsverfahren in Form eines gebrauchsfertigen Tests im Mikrotiterplattenformat entwickelt. Vertrieben wird die Produktlinie unter dem Namen VitaFast® (Abb.1) von der R-Biopharm AG, Darmstadt.

Bereits drei dieser mikrobiologischen Vitamintests, VitaFast® Folsäure, VitaFast® Pantothensäure und VitaFast® Vitamin B1 werden in die neue Sammlung brautechnischer Analysemethoden der MEBAK (Mittleuropäische Brautechnische Analysenkommission), die voraussichtlich Anfang nächsten Jahres erscheint, aufgenommen. Diese Methodenbücher haben eine internationale starke Verbreitung und dienen an verschiedensten Aus- und Weiterbildungsstätten als Lehrmittel. Weitere VitaFast® Tests werden folgen.

Die Vertiefungen einer Mikrotiterplatte sind mit den spezifischen Mikroorganismen beschichtet, die das zu bestimmende Vitamin verstoffwechseln. Somit entfällt die aufwendige Herstellung und Bevorratung von Keimen und Keimsuspensionen. Die Menge der

Tab. 1: Bestimmung von Vitamingehalten in flüssigen Referenzmaterialien mit VitaFast®

Testmaterial		Niacin mg/100 g	Vitamin B1 mg/100 g	Vitamin B2 mg/100 g	Vitamin B6 mg/100 g
FAPAS® 2133 Flüssige Vitamine	Zielwert		6,60 (5,5 - 7,7)		7,71 (6,5 - 9,0)
	VitaFast®		7,29		7,60
FAPAS® 2139 Flüssigkonzentrat	Zielwert		8,12 (6,8 - 9,5)	8,86 (5,3-12,4)	9,02 (7,6 - 10,5)
	VitaFast®		8,60	8,43	9,50
LVU Ringversuch Blutorange	Zielwert	8.9 (5.06 - 11.40)			1.22 (0.97 - 1.85)
	VitaFast®	8.74			1.22

Tab. 2: Folsäuregehalt Intra-assay Varianz von flüssigen Proben und Obst

	Deklariertes Folsäuregehalt (µg/100 g bzw. ml)	mit VitaFast® bestimmter durchschnittlicher Gehalt (µg / 100 g bzw. ml)	Variationskoeffizient (%)
Ananas-Mandarinensaft	30	28 29	1.7 1.7
Multivitaminensaft	30	40 41	1.2 1.2
Trauben-Apfel-Zitronensaft	30	37	3.1
Multivitaminnektar	30	30 33 34	2.8 2.8 2.8
Erdbeere	16*	27	2.4
Kiwi frisch	20*	22	7.9
Mango	31*	40	1.9
Orange	26*	26	1.8

* laut Nährwertrechner

Tab. 3: Biotingehalt Intra-assay Varianz von flüssigen Proben

	Deklariertes Biotingehalt (µg/100 ml)	mit VitaFast® bestimmter durchschnittlicher Gehalt (µg/100 ml)	Variationskoeffizient (%)
Multivitaminensaft	75	76	1.3
12-Fruchtsaft	23	28	2.1

Tab. 4: Niacingehalt Intra-assay Varianz von flüssigen Proben und Obst

	Deklariertes Niacingehalt (mg/100 g bzw. ml)	mit VitaFast® bestimmter durchschnittlicher Gehalt (mg/100 g bzw. ml)	Variationskoeffizient (%)
Energiegetränk	7	7.94	3.7
Bier	1.2	1.98	3.3
Fruchtsaftgetränk	2	2.45	3.2
Orange	0.3*	0.29	1.9

* laut Nährwertrechner

Mikroorganismen in den Kavitäten ist an das jeweils zu bestimmende Vitamin angepasst und optimiert. Zum Testansatz muss lediglich das Assay-Medium sowie das Vitamin selbst in abgestuften Konzentrationen als Standardreihe und der Probenextrakt zugegeben werden. Waschschritte sind nicht notwendig. Der Ansatz wird in einem Brutschrank inkubiert und anschließend mittels Mikrotiterplattenphotometer gemessen und turbidimetrisch ausgewertet. Im Test enthalten sind neben dem Assay-Medium und sterilem Wasser ein charakterisierter Standard, der in einfachen Schritten für eine Standardreihe verdünnt werden muss.

Bei der Auswertung des VitaFast® Folsäure/Folic Acid Tests wird die Folsäure-Eichkurve in einem Mikrotiterplattenphotometer gemessen wie in Abb. 1 ersichtlich.

Zahlreiche Vergleichsstudien wurden mit den VitaFast® Tests durchgeführt und an Hand von Referenzmaterialien validiert. An offiziellen Ringversuchen wurde ebenfalls teilgenommen. Tabelle 1 zeigt eine Übersicht einiger Fruchtsaftdaten daraus. Daten für weitere Referenzmaterialien sind auf Anfrage bei R-Biopharm erhältlich.

In den Tabellen 2 – 6 sind weitere Vitaminuntersuchungen von Säften mit den VitaFast® Tests dargestellt. Bei diesen wird, genauso wie bei dem Referenzmaterial, deutlich, wie gut der deklarierte Vitamingehalt der jeweiligen Proben mit den mit VitaFast® bestimmten Gehalten übereinstimmt.

Die vergleichende Untersuchung von traditioneller Mikrobiologie, HPLC und VitaFast® zeigen ebenfalls, wie aus den Tabellen 7 und 8 deutlich wird, sehr gute Übereinstimmungen.

Der mikrobiologische Mikrotiterplattentest VitaFast® besticht also in der Handhabung und Durchführung. Waschschritte, die bei anderen immunologischen Verfahren notwendig sind, entfallen hier. Der Test zeichnet sich durch eine hohe Präzision und Genauigkeit aus. Der Variationskoeffizient (VK) liegt unter 10%. Die Wiederfindungsraten nach Dotierung von realen Matrices betragen 95-105%. Die hohe Genauigkeit ist im Testformat begründet. Alle Arbeitsschritte und eingesetzten Testreagenzien (Standard, Assay-Medium, Mikroorganismen und Inkubationszeit) sind optimal aufeinander abgestimmt. Es können sowohl nährstoffangereicherte Matrices als auch natürliche Vitamingehalte erfasst werden. Die Probenaufarbeitung ist jeweils darauf zu adaptieren. Bei nährstoffangereicherten Proben reicht in der Regel eine wässrige Heißextraktion der Probe aus. Natürliche Proben sollten hydrolytisch (enzymatisch, Säure) aufgeschlossen werden.

Das Mikrotiterplatten-Format erlaubt einen hohen Automatisierungsgrad, wobei die Investitionen für eine Automatisierung verhältnismäßig gering sind. Der Zeitbedarf für die Testdurchführung reduziert sich im Vergleich zur klassischen mikrobiologischen Vitaminbestimmung um 60-70 %, der Materialeinsatz ist um den Faktor 30 geringer. Der Test wurde für alle wasserlöslichen B-Vitamine und analog wirksamen Substanzen entwickelt. Ausgewählte Aminosäuren (Lysin, Methionin und Cystin) stehen zusätzlich zur Verfügung.

Desweiteren bietet R-Biopharm Immunaффinitätssäulen (IAC) zur Probenaufarbeitung vor der HPLC-Analyse unter dem Namen EASI-EXTRACT® an. Neben der Vitamin B12-IAC wurde die Folic Acid-IAC eingeführt. Herkömmliche HPLC-Verfahren zur Analyse von Vitamin B12 und Folsäure in komplexen Lebensmitteln haben sich als schwierig erwiesen, da oft nur sehr niedrige Konzentrationen des Vitamins vorliegen. Neben vorhandenen Pigmenten können störende Substanzen die Vitamine Folsäure und B12 in einem HPLC-Chromatogramm überdecken. Die EASI-EXTRACT® Immunaффinitätssäulen lösen diese Probleme durch die Verwendung eines hochspezifischen monoklonalen Antikörpers zur Isolierung und Konzentrierung des jeweiligen Vitamins aus der Probe, während gleichzeitig Pigmente und störende Komponenten aus der Säule ausgewaschen werden. Die Verwendung von EASI-EXTRACT® FOLIC ACID bzw. Vitamin B12 Säulen führt zu verbesserter Sensitivität und einer viel reineren Probe für die Analyse per HPLC. Beide Säulen wurden für den Nachweis des jeweiligen Vitamins in einer Reihe verschiedener Nahrungsmittel validiert. Mit Hilfe der Säulen kann Probenmaterial analysiert werden, das 10 – 100.000 µg Folsäure bzw. Vitamin B12 pro 100 g enthält. Neben Säften wurden Vitamintabletten, Vitaminpremixe, Getreide, Mehl, Säuglingsnahrung (Pulver und Milch), diätetisches Milchpulver und Sojamilch bereits erfolgreich analysiert. Außerdem wurden von NIST (National Institute of Standards and Technology) bereitgestellte Referenzproben pulverförmiger Säuglingsnahrung sowie FAPAS® Getreideproben mit den Säulen analysiert. Die Ergebnisse lagen jeweils im angegebenen Bereich.

Tabelle 9 zeigt verschiedene Säfte, die mit der EASI-EXTRACT® Vitamin B12 Immunaффinitätssäule getestet wurde. Tabelle 10 zeigt flüssige Proben, die gespikert wurden und deren Wiederfindung.

Die Tabelle 11 zeigt an dem Beispiel eines bananenhaltigen Frühstücks den durchschnittlichen Gehalt an Folsäure sowie den Variationskoeffizienten. Falls Sie weitere Daten zu anderen Matrices wünschen, können Sie dieses gerne bei R-Biopharm AG anfragen.

Tab. 5: Vitamin B1 Intra-assay Varianz von flüssigen Proben

	Deklariertes Vitamin B1 Gehalt (mg/100 ml)	mit VitaFast® bestimmter durchschnittlicher Gehalt (mg/100 ml)	Variationskoeffizient (%)
Vanillegetränk	0.15	0.17	3.0
Multivitaminsaft	0.60	0.84	0.5
Orangensaft	1.06	1.06	0.7
Fruchtsaftgetränk	0.21	0.29	2.5
Energiedrink	0.15	0.16	4.5

Tab. 6: Pantothensäure Intra-assay Varianz von flüssigen Proben

	Deklariertes Pantothensäure Gehalt (mg / 100 ml)	mit VitaFast® bestimmter durchschnittlicher Gehalt (mg / 100 ml)	Variationskoeffizient (%)
Multivitaminsaft	3	3.48	0.8
Fruchtsaftgetränk	0.9	1.07	2.5
Energiedrink	2	1.83	1.0

Tab. 7: Vergleich unterschiedlicher Methoden zur Bestimmung von Vitamin B 12

	Deklariertes Vitamin B12 Gehalt (µg / 100 g (ml))	VitaFast®	andere Methoden
		Durchschnittlicher Gehalt (µg / 100 g (ml))	
Fruchtmix	1.2	1.61 (n=6)	1.56 interne HPLC
Milchgetränk mit Früchten	0.20	0.20 (n=4)	0.17 extern VitaFast®
Bananenmilchpudding	0.65	0.82 (n=6)	0.90 (externes Labor 1) 0.76 (externes Labor 2) 0.89 (externes Labor 3) Klassischer mikrobiologischer Nachweis AOAC 960.46

Tab. 8: Vergleich unterschiedlicher Methoden zur Bestimmung von Vitamin B1

	Deklariertes Vitamin B1 Gehalt (mg / 100 g (ml))	VitaFast®	andere Methoden
		Durchschnittlicher Gehalt (mg / 100 g (ml))	
Orangensaft	0.7	0.74 (n=6)	0.72 interne HPLC
Multivitaminsaft	0.21	0.23 (n=12)	0.23 interne HPLC

Tab. 9: Bestimmung von Vitamin B12 mit der EASI-EXTRACT® Vitamin B12 Immunaффinitätssäule

Probe	Deklariertes Vitamin B12 Gehalt (µg / 100 g)	mit IAC Vitamin B12 bestimmter durchschnittlicher Gehalt (µg / 100 g)	Variationskoeffizient (% CV)
Energiedrink 1	0.1	0.107 (n=3)	3.9
Energiedrink 2	0.1	0.095 (n=3)	4.2

Tab. 10: Spiking Versuche zu flüssigen Proben mit Vitamin B12

Probe	mit IAC Vitamin B12 bestimmter durchschnittlicher Gehalt (µg / 100 g)	% Wiederfindung (die Proben wurden mit 10 µg / 100 g Vitamin B12 gespickt und die Wiederfindung kalkuliert)
Orange and Peach Fruit Shoot	8.5 (n=2)	85
Blackcurrant and Apple Fruit Shoot	8.0 (n=2)	80
Strawberry Fruit Shoot	8.0 (n=2)	80

Die Produktpalette zur Vitamin-Analytik wird durch die seit vielen Jahren eingeführten Enzymimmunoassays RIDASCREEN®FAST Vitamin B12 und Folsäure und den RIDASCREEN® Biotin ergänzt.

R-Biopharm gewährleistet mit seinem breitgefächerten Angebot an verschiedensten Methoden individuelle Lösungen für die unterschiedlichen analytischen Fragestellungen seiner Kunden.

Tab. 11: Bestimmung von Folsäure mit der EASI-EXTRACT® Folic Acid Immunaffinitätssäule

Probe	Deklariertes Folsäuregehalt (µg / 100 g)	mit IAC Folic Acid bestimmter durchschnittlicher Gehalt (µg / 100 g)	Variationskoeffizient (%)
Bananen Frühstück	100	118 (n=6)	8.3

R-Biopharm AG
 Sylvia Stengl / Produktmanagerin
 An der neuen Bergstraße 17
 D-64297 Darmstadt
 www.r-biopharm.de

Institut für Produktqualität
 Teltowkanalstr. 2
 D-12247 Berlin
 www.produktqualitaet.com

Sommer-Surf-Tipp:

The screenshot shows the website interface for 'www.fluessiges-obst.de'. At the top, there is a navigation bar with links for 'Home', 'Kontakt', 'Impressum', and a search bar. Below this is a main banner area with several vertical panels: 'Fachzeitschrift FLÜSSIGES OBST', 'WHIRLWIND', 'Rohrleitungssysteme', 'Pharmazie', 'Getränke', 'Lebensmittel', and 'Individuelle Lösungen' with the RUL Engineering logo. Below the banner is a news section titled '90 Jahre Burkhardt Fruchtsäfte' with a sub-header 'So fing es 1919 an: Der Küfermeister Christian Burkhardt...' and a date '15.08.2009'. On the left side, there is a sidebar with 'Login - Abo/ARCHIV', 'AKTUELL' (Nachrichten, Redaktionsplan, Mediadaten, Stichwortverzeichnis), and 'VERLAG'.

www.fluessiges-obst.de

confructa medien – BIBLIOTHEK 2009



Getränke Analytik

Tanner / Brunner

Untersuchungsmethoden für die Labor- und Betriebspraxis mit 42 Abbildungen und 30 Tabellen. Verfahren und Schnellmethoden der Getränkeanalytik, die sich in der Laborpraxis bewährt haben und vom rein chemischen Verständnis sowie vom apparativen Aufwand her nicht zu kompliziert sind. Das Buch gibt dem Kellereifachmann und den Studenten der Hochschulen die Möglichkeit, den gestiegenen Anforderungen der heutigen Getränketechnologie- und analytik gerecht zu werden.

ISBN 3-9800498-1-7
Preis: EUR 26,28 + 7% MwSt.



Membranfiltration

Dieses Buch wurde von APV, einem Teil des InvenSys-Konzerns, verfasst und publiziert. Diese Ausgabe ist eine Überstzung der Originalausgabe, die auf Englisch erschienen ist. In der deutschen Version wurden einzelne Ergänzungen und Änderungen übernommen. APV verfügt über langjährige Erfahrungen in der Entwicklung und Lieferung von Membranfiltrationsanlagen für Kunden weltweit, ursprünglich innerhalb der Milchindustrie, heute aber auch in der Lebensmittel-, Getränke-, Pharma- und chemischen Industrie. Dieses Buch soll Kunden, Mitarbeiter, Studierende und andere an der „Welt der Membranfiltration“ Interessierte leicht verständlich an die Membranfiltration und verwandte molekulare Separationstechnologien heranführen.

ISBN 3-7862-0149-8
Preis: EUR 46,73 + 7% MwSt.



Handbuch der Pack- und Palettierertechnik

Dr. Bückle / Huber

Um den in kurzer Zeit sehr komplex gewordenen Bereich der „Pack- und Palettierertechnik“ souverän zu beherrschen, sind praxisorientiertes Know-how und fundiertes Grundlagenwissen von großer Bedeutung. Beides, Theorie und Praxis, erhalten Sie mit diesem Handbuch!

Spezialisten der Pack- und Palettierertechnik erläutern, welche Maschinen für welche Aufgabenstellungen am besten geeignet sind. In gekonnt praxisnaher Form werden dabei auch die Arbeitsverfahren und die erforderlichen Voraussetzungen und Anforderungen erläutert. Zahlreiche Querschnittszeichnungen, Bilder und Abbildungen der Anlagen sorgen beim Leser für schnelles und sicheres Verstehen selbst komplexer Arbeitsweisen und Verfahren.

ISBN3-89947-210-1
Preis: EUR 99,50 + 7% MwSt.

Die Preise verstehen sich zzgl. der jeweils geltenden gesetzlichen Mehrwertsteuer und Versandkosten. Preisänderungen vorbehalten. Bei Versendungen ins Ausland werden anteilige Bankspesen bis max. EUR 10,- berechnet. **Kein Buchhändlererrabatt möglich.** Wir bitten um Ihr Verständnis, dass bestellte Bücher nicht zurückgenommen werden. Bitte zahlen Sie erst nach Erhalt der Rechnung.

Bestellung:

Name: _____ Vorname: _____

Abteilung: _____ Position: _____

Firma: _____

Straße: _____

Land/PLZ: _____ Ort: _____

fon: _____ fax: _____

email: _____

Datum: _____ Unterschrift: _____

Zahlungsmodalität

- Überweisung Scheck anbei
- Kreditkartenservice: **Ja**, ich möchte mit Kreditkarte zahlen, bitte belasten Sie mein Konto.
- American Express Eurocard/Mastercard Visa

Kartennummer

gültig bis

Kartenprüfnummer*



* Bei American Express: Vorderseite, rechts mittig, vierstellig
* Bei Eurocard/Mastercard und Visa: Rückseite letzte drei Ziffern (s. o.)

Karteninhaber

Unterschrift, Datum

Bitte tragen Sie hier Ihre Umsatzsteuer-Ident-Nr. ein:



confructa medien GmbH
verlag und colleg
Raiffeisenstraße 27
D-56587 StraBenhaus
www.confructa-medien.com

Abt. Fachbücher
fon +49 (0) 2634 9235-0
fax +49 (0) 2634 9235-35
abo.buecher@fluessiges-obst.de
www.fluessiges-obst.de