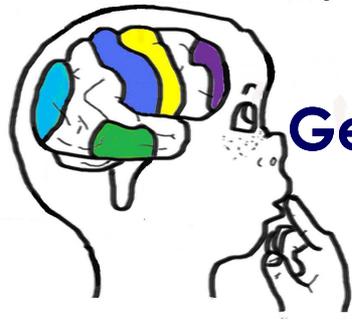


# Bestimmung von freiem und Gesamt-Cholin in Säuglingsnahrung mittels LC-MS/MS

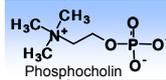
Krümpel, G., Konetzki, J., Becker, E., Kirchhoff E.  
Institut Kirchhoff Berlin GmbH, Albestr. 3-4, 12159 Berlin



## Einleitung

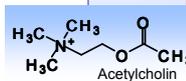
### Was ist Cholin ?

-Quartäre Ammoniumverbindung, die als Mikronährstoff zahlreiche Funktionen im menschlichen Stoffwechsel hat



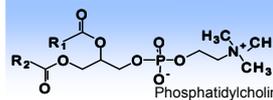
### Welche Funktion hat Cholin ?

Synthese des Neurotransmitters Acetylcholin → spielt eine wichtige Rolle bei der Signalweiterleitung im Gehirn  
-Wichtiger Bestandteil von Membranphospholipiden  
-Methylgruppenüberträger in zahlreichen Metabolismen  
-Entscheidend bei der Gehirnentwicklung von Fötus und Säugling



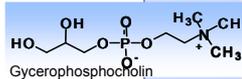
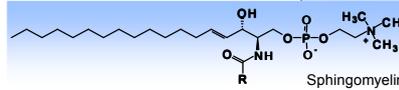
### Wie kommt Cholin vor ?

-Frei  
-Verestert in Form von Acetylcholin sowie die Phosphatester Phosphatidylcholin, Phosphocholin, Glycerophosphocholin, Sphingomyelin  
-Häufigste Form von Cholin in Lebensmitteln: Phosphatidylcholin



### Wo kommt Cholin vor ?

- In Zahlreichen Nahrungsmitteln  
- Cholinreich: Milch, Eier, Fleisch, Weizenkeime  
- Wird vom Körper aus den Aminosäuren Methionin und Serin hergestellt, meist jedoch in unzureichender Menge, deshalb ist die zusätzliche Aufnahme mit der Nahrung erforderlich  
- Für Säuglinge ist eine Aufnahme über die Nahrung erforderlich, deshalb ist für Säuglingsnahrung gemäß Diätverordnung ein Zusatz sowie die Mengenkennzeichnung vorgeschrieben



## Ziel

Etablierung einer validen und routinetauglichen Methode zur Bestimmung von Cholin inklusive der verestert vorliegenden relevanten Verbindungen in Säuglingsnahrung.

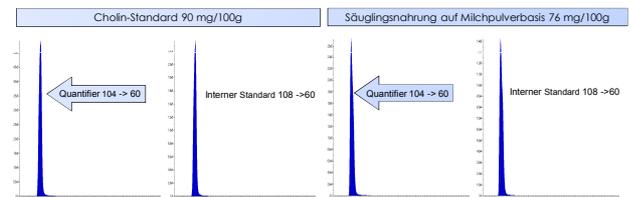
## Prinzip der Methode

Das Probenmaterial wird unter Erwärmen wässrig extrahiert. Zur Bestimmung des Gesamt-Cholin-Gehaltes wird ein **Säureaufschluss** mit Salzsäure durchgeführt, gefolgt von einem **enzymatischen Aufschluss** mittels Phospholipase. Die Detektion erfolgt mittels LC-MS/MS im **ESI(+)-Modus** an einer polar modifizierten RP-Phase, mit anschließender Quantifizierung nach der Methode des Internen Standards mit Hilfe von **isotopenmarkiertem Cholin** (Cholin-D4).

## Ergebnisse

### ✓Spezifität

Die Identifizierung wird über die Retentionszeit, anhand von drei charakteristischen Massenübergängen und deren Intensitätsverhältnissen durchgeführt.



Im Rahmen der Methodenentwicklung wurde gezeigt, dass mit den optimierten Parametern neben frei vorliegendem Cholin auch die für Säuglingsnahrung relevanten Cholinester erfasst werden.

### Linearität

Dreifach Dotierungen analytamer Matrix auf drei Konzentrationsniveaus zeigen die Linearität im Arbeitsbereich zwischen 20-200 mg/100g.

	Feies Cholin	Gesamt-Cholin
✓ <b>Richtigkeit</b> (Wiederfindung)	97 %	96 % *
✓ <b>Wiederholpräzision</b> (V <sub>k</sub> / Horrat)	1,1 % / 0,4	1,4 % / 0,5
✓ <b>Laborinterne Vergleichspräzision</b>	4,9 %	3,3 %
✓ <b>Messunsicherheit</b>	15 %	20 %

\* Referenzmaterial (NIST SRM 1846)

## Fazit

Die Methode ist sehr gut für die Routineanalyse von Erzeugnissen auf Milch- und Milchpulverbasis geeignet. Durch die Detektion mittels MS/MS ist eine hohe Selektivität und Sensitivität gegeben. Dies ist ein entscheidender Vorteil zu alternativen Analysenprinzipien.

Insbesondere im Vergleich zur enzymatischen und biochemischen Methode ist die deutlich größere Robustheit dieser Methode hervorzuheben.

➔ Die vorgestellte Methode ist richtig, präzise, robust und routinetauglich.