

Analysebedingungen

System CE

- Kapillarelektrophorese Beckman PA 800 *enhanced* (AB Sciex, Germany, Darmstadt) mit PDA-Detektor [200 - 400 nm]
- Kapillare: uncoated fused-silica capillary; Länge 60/70 cm, Ø 50 µm; vor jeder Analyse: Spülen mit NaOH 0,25 mol/L (2 min) und Äquilibrieren mit Trennpuffer (2 min)
- Trennpuffer: 100 mM Na₂B₄O₇ (pH ca. 8,8) + 1,0 % β-cyclodextrin
- Temperatur: 20 °C, Spannung: 30 kV (ca. 100 - 110 µA)
- Injektion an der Anodenseite für 20 s (hydrodynamic mode, 0,5 psi)
- Detektion bei λ = 225 nm an der Kathodenseite (10 cm vor dem Kapillarende)

System UPLC

- Acquity UPLC® HClass (Waters), PDA eλ detector [200-400 nm], QDa detector [ESI+, ESI-, single quadrupole, 100-800 Da], quaternary solvent manager, sample manager FTN (Inj.-Vol.: 1 µL), column manager (40°C)
- Mobile Phase: A: H₂O + 0.1% HCOOH, B: CH₃CN + 0.1% HCOOH
- Gradientenelution:
Zeit[min]/%A:%B: 0/99:1, 2/99:1, 10/50:50, 12/0:100, 13/0:100, 13,1/99:1, 15/99:1
- Flussrate: 0,5 mL/min
- Stationäre Phase: Waters Acquity UPLC® HSS-T3, 2,1×100mm, 1,8 µm
- Detektion PDA: Auswertung bei λ = 225 nm
- Detektion QDa: neg. Mode, ausgewählte *m/z*-Werte

Aufarbeitung A (Heißwasserextraktion):

Der Inhalt von 1 oder 2 Kapseln wird exakt in einen 100-mL-Jodzahlkolben eingewogen, mit 30 mL siedendem Wasser versetzt und für 30 Minuten in einem siedenden Wasserbad erhitzt (gelegentlich umschwenken). Nach der Zugabe von 20 mL Wasser bei RT werden 2,00 mL I.S.-Lösung¹ zugegeben, gut gemischt und für weitere 5 min im Ultraschallbad extrahiert. Die Lösung wird durch einen Membranfilter (0,45 µm) in ein Probenglas filtriert². Zur qualitativen UPLC-Analyse werden 1 mL des Filtrates verwendet, zur quantitativen CE-Analyse werden 100 µL des Filtrates mit 100 µL CE-Trennpuffer gemischt³.

Aufarbeitung B (Kaltwasserextraktion – „Fermentations“-Bedingungen)

Der Inhalt von 1 oder 2 Kapseln wird exakt in einen 100-mL-Jodzahlkolben eingewogen, mit 30 mL Wasser versetzt und für 30 Minuten bei 38°C im Trockenschrank inkubiert (gelegentlich umschwenken). Nach der Zugabe von 20 mL Wasser werden 2,00 mL I.S.-Lösung¹ zugegeben, gut gemischt und für weitere 5 min im Ultraschallbad extrahiert. Die Lösung wird durch einen Membranfilter (0,45 µm) in ein Probenglas filtriert² und vor der Analyse (1:1, v/v) mit Trennpuffer verdünnt³. Diese Aufarbeitung dient zum indirekten Nachweis einer aktiver Myrosinase durch den Abbau der Glucosinolate. Durch den Vergleich beider Elektropherogramme (Aufarbeitungen A / B) kann durch das Fehlen der GSL-Peaks der indirekte Nachweis eines enzymatischen Abbaus erbracht werden. Eine quantitative Bestimmung der Enzymaktivität erfolgte nicht.

¹ p-Hydroxybenzoesäurepropylester gelöst in Wasser-Methanol 1:1 (v/v); c= 1,5 – 2 mg/mL.

² Die ersten Tropfen des Filtrates verwerfen, alternativ kann auch zentrifugiert werden.

³ Grund: Vermeidung von Substanzverlusten durch Präzipitationen im gekühlten Autosampler-Vial.