

März 2015:

Biotin in Vitamintabletten mittels der Affinitätssäule BioteX

- manuell und automatisiert -



Haben Sie einen speziellen Wunsch, welche Matrix wir testen sollen? Geben Sie uns Bescheid per E-Mail an info@LCTech.de!

Zu Biotin

Biotin ist ein natürlich vorkommendes Vitamin, das zur Familie der B-Vitamine (B7) und zu den wasserlöslichen Vitaminen gehört und ubiquitär in vielen Nahrungsmitteln zu finden ist. Biotin ist besonders in vielen Vitamingetränken, Vitamintabletten und Nahrungsmittelergänzungstoffen mit hohen Konzentrationen (lt. LMIV EU Nr. 1169/2011) zu finden. Die BioteX Affinitätssäulen ermöglichen eine effektive Aufreinigung des Biotin aus verschiedenen Probenmaterialien und die parallele Probenvorbereitung bei der Nahrungsmittelanalyse mittels UV-Bestimmung für die Analytik mittels HPLC oder LC/MS.

Automatisierte Bearbeitung mit FREESTYLE SPE

Besonders schnell ... Besonders einfach ...



Mit dem FREESTYLE SPE bearbeiten Sie Ihre Proben vollautomatisch und rund um die Uhr, sogar am Wochenende. So steht Ihre Probe immer zeitnah für die jeweilige Analyse zur Verfügung.

Jede manuelle Methode, die sich in Ihrem Labor bewährt hat, lässt sich problemlos automatisieren. Mit dem FREESTYLE SPE können Sie unterschiedlichste SPE-Säulenformate von 1 bis 15 mL bearbeiten. So auch die 3 mL Affinitätssäule BioteX von LCTech.

Die Aufarbeitung ist identisch zur manuellen Bearbeitung, geschieht aber autonom und vollautomatisiert. Diese und weitere Vorteile bietet Ihnen die Anwendung mit FREESTYLE SPE:

- Keine Kreuzkontamination
- Besonders schnelle und präzise Bearbeitung
- Sehr gute Wiederfindungsraten
- Sehr einfache und intuitive Software



**FREESTYLE SPE
mit EVAporations-Modul**

Manuelle Bearbeitung →

Protokoll zur manuellen Bearbeitung

Extrahieren Sie 1 g sorgfältig homogenisierter Vitamintabletten mit 100 mL der Extraktionslösung (PBS-Puffer) in einem Mischgefäß bei hoher Geschwindigkeit, z.B. mit einem Ultraturrax.

Filtern Sie den Extrakt durch einen Faltenfilter. Verdünnen Sie 25 mL des Filtrates mit 25 mL PBS-Puffer (pH 7,2). Wenn beim Mischen mit dem Puffer ein Niederschlag auftritt, zentrifugieren oder filtern Sie das Probenvolumen mittels eines Spritzenfilter (PVDF). Lassen Sie nach dem Öffnen der Säule den Lagerpuffer abtropfen.

Nehmen Sie 10-50 mL des verdünnten Rohextrakts (abhängig von der Messempfindlichkeit) und geben Sie sie über die Affinitätssäule BioteX. Die Beladungskapazität von 1000 ng Biotin / 50 mL Probenvolumen darf nicht überschritten werden. Ein geringer Unter- oder Überdruck kann in allen Schritten, in denen Sie Flüssigkeit durch die Säule geben, angelegt werden. Lassen Sie nun die Flüssigkeit vollständig durchlaufen, bis keine Probe mehr in der Säule ist. Um die Säule zu waschen, spülen Sie das Vorlagengefäß mit 10 mL Wasser und geben Sie diese Lösung auf die Säule. Verbleibende Wasserreste entfernen Sie nun mittels eines leichten Gasstromes oder Unterdrucks.

Geben Sie 1 mL Methanol auf die geöffnete Säule und warten Sie solange, bis das Methanol den unteren Luer-Ausgang der Säule erreicht hat. Verschließen Sie sofort die Säule und warten Sie 5 Minuten bis diese inkubiert, um die Analyt-Ligand-Bindung vollständig zu brechen. Nach dem Wiederöffnen fangen Sie das Eluat auf und eluieren Sie mit weiteren 1 mL.

Anschließend verdünnen oder konzentrieren Sie auf die jeweiligen Erfordernisse auf und messen Sie mittels HPLC.

HPLC-Laufbedingungen

Biotin

HPLC: Gradient

Säulenofen: 35° C

HPLC-Trennsäule: EC100/3 Nucleodur Phenyl-Hexyl, 3 µm

Flussrate: 0,6 mL/min

Injektionsvolumen: 10 - 100 µL

UV-Detektor: 215 nm

Laufmittel 1: 1% Phosphorsäure = HPLC-Wasser

Laufmittel 2: 1 % Phosphorsäure = Acetonitril



Affinitätssäule BioteX

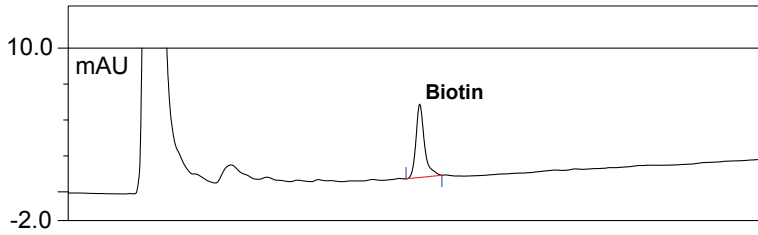
Wiederfindungen

Gehalt an Biotin in Vitamintabletten	
Biotin	
Standard*	100
Wiederfindungsrate** Vitamintabletten 10000 µg Biotin	90

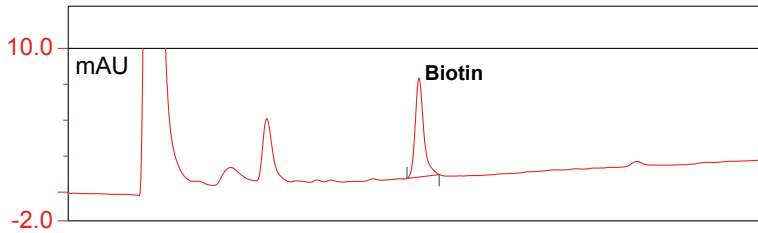
* Standard wurde = 100% gesetzt , ** korrigiert mit nicht gespikter Probe

Chromatogramme →

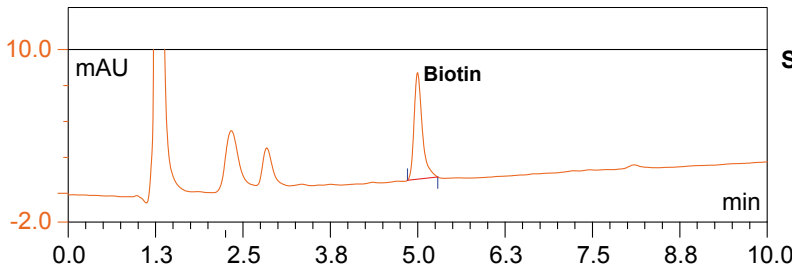
Chromatogramme



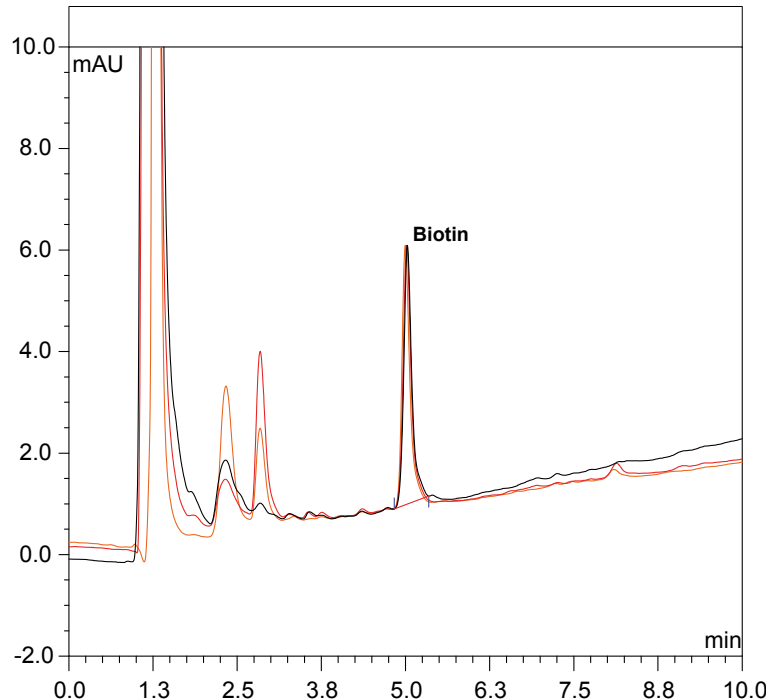
0,5 µg BioteX aufgereinigt mittels FREESTYLE SPE (schwarz).



0,5 µg Biotin aufgereinigt mittels BioteX manuell (rot).



Standard 0,5 µg Biotin (orange).



Überlagerung der Chromatogramme.
Detektion mittels UV bei 215 nm.



Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

BioteX Affinitätssäule (3mL)
für die Biotin / Vitamin B7 Analyse

P/N 14100 / 14101

FREESTYLE SPE
Robotiksystem zur Proben-
vorbereitung

P/N 12663 / 12668

© LCTech GmbH, Deutschland, Stand: März 2015

Sie haben weitere Fragen?
Schreiben Sie uns eine E-Mail an info@LCTech.de