



Februar 2020

Biotin/Vitamin B7 in Hafer und Getreidekost ~ Manuell und automatisiert ~

Haben Sie einen speziellen Wunsch, welche Matrix wir für Sie testen sollen? Kontaktieren Sie uns per E-Mail an: info@LCTech.de

Probenvorbereitung

MYKOTOXINE

Hafer und Getreidekost

Ein guter Tag beginnt für viele Menschen mit einem ausgewogenen Frühstück. Neben Kaffee, Brötchen, Wurst oder Rührei gehört für viele auch das Müsli zur morgendlichen Mahlzeit. Dabei greifen immer mehr zur vitaminreichen Alternative Hafer bzw. Haferflocken, anstatt zu handelsüblichen Müslis. Ob als Haferbrei, auch bekannt als Porridge, oder als Zutat im Smoothie - Hafer ist auf vielen deutschen Frühstückstischen nicht mehr wegzudenken.

Hafer ist eine Pflanzengattung der Süßgräser und wird überwiegend in Regionen mit gemäßigttem Klima und hohen Niederschlägen angebaut, wie beispielsweise in den Mittelgebirgen, im Alpenvorland oder an den Küstenregionen. Und nicht nur aufgrund des heimischen Anbaus gilt Hafer als DAS deutsche Superfood. Das Getreide ist ebenfalls reich an Eiweißen, Ballaststoffen, Mineralstoffen und Vitaminen, unter anderem auch Biotin bzw. Vitamin B7.

SPE-Aufreinigungssäulen für die Analytik von Biotin/Vitamin B7

Biotin ist ein natürlich vorkommendes Vitamin, das zur Familie der B-Vitamine (B7) und zu den wasserlöslichen Vitaminen gehört und ubiquitär in vielen Nahrungsmitteln gefunden werden kann. Die Konzentration von Biotin unterstützt eine vitaminreiche Diät und ist dadurch besonders in vielen Vitamingetränken, Vitamintabletten und Nahrungsmittelergänzungstoffen zu finden. Eigelb, Sojabohnen und Leber zählen zu den Nahrungsmitteln, die einen hohen Biotin-Gehalt aufweisen.

Um zuverlässig und schnell die Einhaltung der deklarierten Biotinmengen zu bestimmen, bietet LCTech die Affinitätssäule BioteX für die Untersuchung verschiedenster Matrices und Lebensmittel an. Die BioteX Affinitätssäulen ermöglichen einen hohen Probendurchsatz und die parallele Probenvorbereitung bei der Nahrungsmittelanalyse mittels UV-Bestimmung oder für die Analytik mittels HPLC oder LC/MS.

Die Säulen sind als praktisches 3 mL Polypropylen Format erhältlich und gekühlt gelagert 9 Monate ab Herstellungsdatum haltbar.

Auf der nachfolgenden Seite finden Sie ein Bearbeitungsprotokoll mit der Verwendung einer BioteX Affinitätssäule.

Bearbeitungsprotokoll

Homogenisieren Sie 10 g Hafer/Getreidekost und extrahieren Sie die Mischung mit 50 mL Wasser. Für die Erzielung einer hohen Extraktionseffizienz, führen Sie die Extraktion mindestens 10 – 30 Minuten durch. Die Extraktion kann auch in Phosphatpuffer durchgeführt werden.

Filtrieren Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie 2,5 mL mit 47,5 mL PBS. Laden Sie die Probe auf die Affinitätssäule Biotex und waschen Sie die Säule anschließend mit 10 mL deionisiertem Wasser.

Eluieren Sie das Biotin mit 2 mL Methanol. Achten Sie darauf, dass das Methanol 5 Minuten in das Säulenbett einwirkt, um eine vollständige Freisetzung des Biotins zu gewährleisten.

Abschließend können Sie das Eluat je nach Chromatographiebedingungen ankonzentrieren, rüchlösen oder injizieren.

Wiederfindungen

Gehalt an Biotin/Vitamin B7 in Hafer/Getreidekost

Biotin/Vitamin B7	
Standard*	100
Wiederfindungsrate** Hafermehl 2 ppm	98
Wiederfindungsrate** Weizenmehl 2 ppm	93

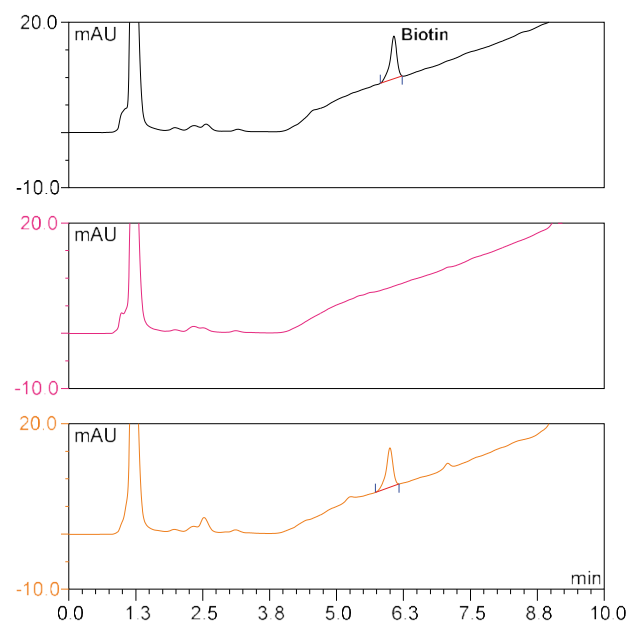
*Standard wurde = 100% gesetzt, **korrigiert mit nicht gespikter Probe

HPLC-Laufbedingungen

(Biotin/Vitamin B7)

Biotin/Vitamin B7	
HPLC:	Gradient
Säulenofen:	35 °C
Trennsäule:	EC100/3 Nucleodur Phenyl-Hexyl, 3 µm
Flussrate:	0,6 mL/min
Laufmittel:	0,1 % Phosphorsäure in HPLC - Wasser (Eluent 1) 0,1 % Phosphorsäure in Acetonitril (Eluent 2)
Gradient:	0 - 2 Minuten Eluent 1, 100 % 2 - 12 Minuten Eluent 1, 90 %, Eluent 2, 10 % Gradientkurve 5 12 - 15 Minuten Eluent 1, 100 %
UV - Detektion	215 nm
Injektionsvolumina	75 µL

Chromatogramme



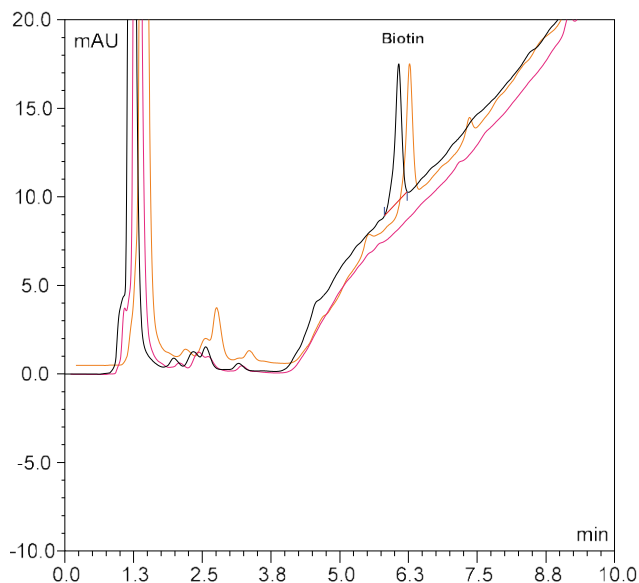
Schwarz: 1 µg/2 mL Biotin, eingengt, in 400 mL Laufmittel rückgelöst

Rot: Hafermehl nicht gespikt, Eluat eingengt, in 400 µL Laufmittel rückgelöst

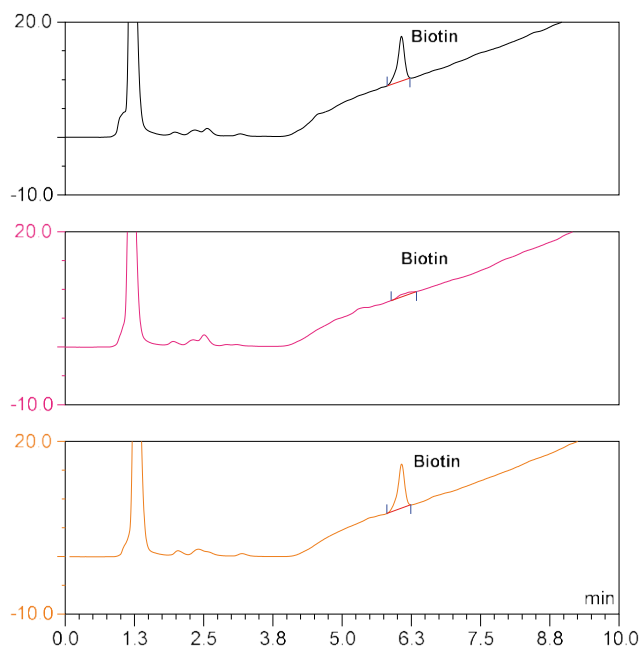
Orange: Hafermehl gespikt mit 2 ppm Biotin, Eluat eingengt, in 400 µL Laufmittel rückgelöst



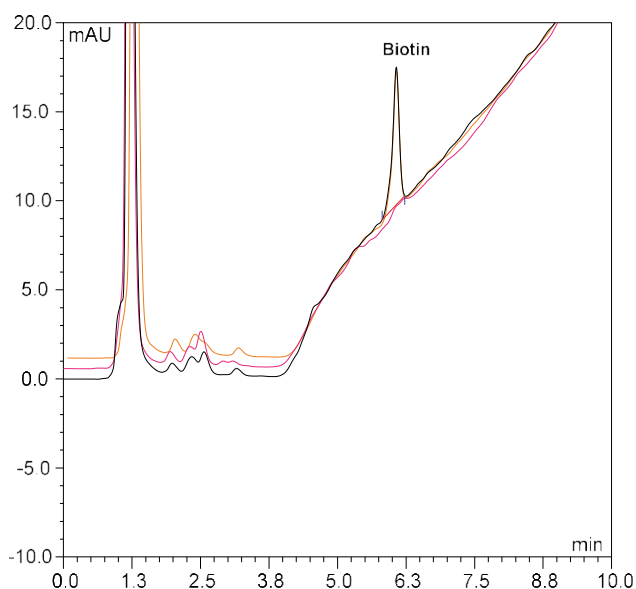
Affinitätssäule Biotex zur Aufreinigung von Biotin/Vitamin B7



Schwarz: 1 µg eingeengt, in 400 mL Laufmittel rückgelöst
Rot: Hafermehl nicht gespikt, Eluat eingeengt, in 400 µL Laufmittel rückgelöst
Orange: Hafermehl gespikt mit 2 ppm Biotin, Eluat eingeengt, in 400 µL Laufmittel rückgelöst



Schwarz: 1 µg/2 mL Biotin, eingeengt, in 400 mL Laufmittel rückgelöst
Rot: Weizenmehl, nicht gespikt, Eluat eingeengt, in 400 µL Laufmittel rückgelöst
Orange: Weizenmehl, Eluat eingeengt, in 400 µL Laufmittel rückgelöst



Schwarz: 1 µg/2 mL Biotin, eingeengt, in 400 mL Laufmittel rückgelöst
Rot: Weizenmehl, nicht gespikt, Eluat eingeengt, in 400 µL Laufmittel rückgelöst
Orange: Weizenmehl, Eluat eingeengt, in 400 µL Laufmittel rückgelöst



Automatisierte Probenaufreinigung mit FREESTYLE SPE

Der gesamte oben beschriebenen Aufreinigungsprozess kann unter Verwendung des FREESTYLE SPE schnell und einfach automatisiert durchgeführt werden. Positionieren Sie die Probe im FREESTYLE SPE, parametrieren Sie in der Software mit wenigen Mausklicken die Methode und starten Sie das System - fertig.

Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

BioteX, Affinitätssäulen
P/N 14100 / 14101

FREESTYLE SPE Robotiksystem für automatisierte
Probenvorbereitung
P/N 12663/12668