



Februar 2017

Aflatoxine B/G in Feigen ~ manuell und automatisiert ~

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

Probenvorbereitung

MYKOTOXINE

Feigen

Jährlich werden ca. 1,5 Mio. t. Feigen, hauptsächlich im Mittelmeerraum, geerntet. Allein im Jahr 2015 wurden 7250 t Feigen aus der Türkei importiert, die vor allem in getrockneter Form sehr beliebt sind. In letzter Zeit sind Feigen allerdings aufgrund (zu) hoher Gehalte an Aflatoxinen im RASFF Portal der Europäischen Kommission besonders aufgefallen. Von insgesamt 51 Auffälligkeiten bei den Kontrollen im vergangenen Jahr führten 39 sogar zu einem Importverbot. [Quelle: RASFF Portal]

Immunoaffinitätssäulen für die Aufreinigung der Aflatoxine B1, B2, G1 und G2

Die Immunoaffinitätssäulen AflaCLEAN und AflaCLEAN Select eignen sich für die Probenvorbereitung zur Aflatoxin-Analytik mittels HPLC mit Fluoreszenz-Detektion bzw. LC-MS. Die Säulen weisen eine hohe Matrixtoleranz auf und sind in der Lage, die Aflatoxine hochspezifisch zu binden. Mit nur 3 zur Verfügung gestellten Extraktionsprotokollen lassen sich alle Matrices von A wie Aprikose bis Z wie Zimt mit hervorragenden Wiederfindungsraten untersuchen, so auch Feigen. Die Säulen sind im praktischen 3 mL Polypropylen-Format erhältlich. Zusätzlich steht die AflaCLEAN Select Säule als 1 mL Version zur Verfügung. Die Select Version überzeugt bei hohem Probendurchsatz und gleicher Performance mit einem deutlich günstigeren Preis.



Robotiksystem FREESTYLE SPE
mit EVAporations-Modul

Automatisierte Bearbeitung mit dem Probenvorbereitungssystem FREESTYLE SPE

In nahezu jedem analytischen Routinelabor werden Proben über SPE-Säulen gereinigt, um saubere Proben für die nachfolgende Analytik zu erhalten. Zur Erleichterung dieser Routineaufgaben, für die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse sowie die Erreichung guter Wiederfindungen ist die Automatisierung des Prozesses die richtige Lösung. Konsequenterweise im Tag- und Nachtbetrieb arbeitet das automatisierte Probenvorbereitungssystem FREESTYLE SPE auch die langwierigsten Applikationen in der Mykotoxinanalytik präzise ab. Das Robotiksystem kann neben den LCTech Immunoaffinitäts- und SPE-Säulen, für alle Arten von Mykotoxin-Säulen der führenden Hersteller eingesetzt werden.

Protokoll zur manuellen Bearbeitung

Homogenisieren Sie 20 g getrocknete Feigen und versetzen Sie sie mit 2 g Natriumchlorid. Extrahieren Sie die Probe durch 100 mL Methanol/Wasser (80/20 (v/v)) und 50 mL n-Hexan, um Fette und ätherische Öle zu entfernen. Führen Sie die Extraktion 20 Minuten lang durch.

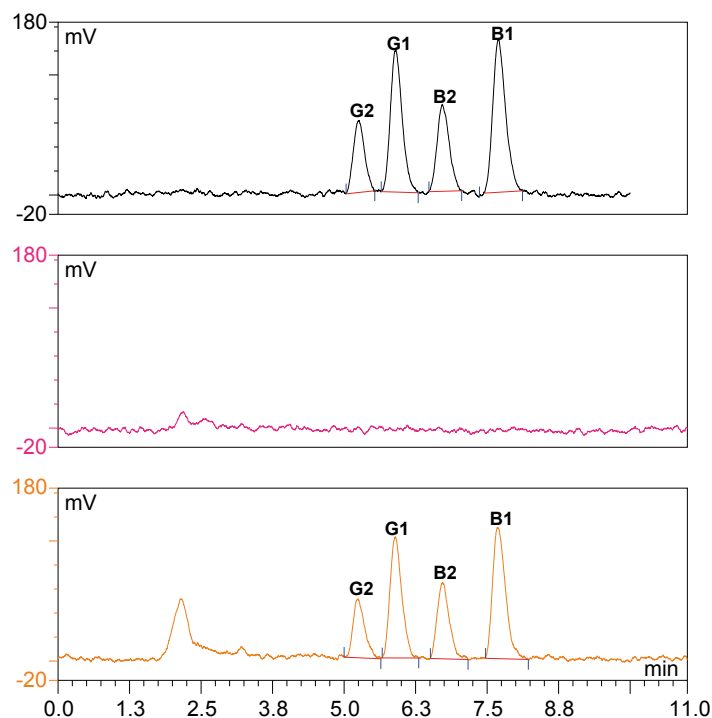
Filtrieren Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie 14 mL davon mit 86 mL PBS. Um mögliche Präzipitationen zu vermeiden, filtrieren Sie erneut durch einen Glasfaserfilter.

Laden Sie die Probe mit einer maximalen Flussrate von 2 mL/min auf eine Immunoaffinitätssäule AflaCLEAN und waschen Sie die Säule anschließend mit 10 mL deionisiertem Wasser, um Störstoffe zu entfernen.

Trocknen Sie die Säule durch einen kurzen Luftstrom und eluieren Sie die Toxine durch Zugabe von 2 mL Methanol. Achten Sie darauf, dass das Methanol 5 Minuten in das Säulenbett einwirkt, um eine vollständige Denaturierung der Antikörper und damit eine vollständige Elution sicherzustellen.

Passen (bzw. verdünnen) Sie das Eluat auf die Laufmittelverhältnisse der HPLC an. Danach wird es mittels Fluoreszenzdetektion in der HPLC und über photochemische Nachsäulenderivatisierung, z. B. mit dem UVE Reaktor von LCTech, gemessen.

Chromatogramme



Schwarz: Standard 14 ng/2 mL Aflatoxine (entspricht 10 ppb)

Rot: Feigen, nicht gespikt

Orange: Feigen, 10 ppb gespikt

HPLC-Laufbedingungen (Aflatoxin B/G)

HPLC:	isokratisch
Säulenofen:	36 °C
Trennsäule:	RP C-18 (P/N 10544)
Flussrate:	1,2 mL/min
Laufmittel:	HPLC-Wasser/Methanol/Acetonitril (60/30/15 (v/v/v))
Fluoreszenzdetektion:	Derivatisierung mit UVE Photochemischer Reaktor
Anregungswellenlänge:	365 nm
Emmissionswellenlänge:	460 nm

Wiederfindungen

Gehalte an Aflatoxin B/G in Feigen

Aflatoxin	B1	B2	G1	G2
Standard*	100	100	100	100
Wiederfindungsraten** Feigen, 10 ppb	90	93	89	87

*Standard wurde 100% gesetzt, **korrigiert mit nicht gespikter Probe
Die Ergebnisse stimmen mit den Performancevorgaben der EC 401/2006 überein (Abs. 4.3.1)



Immunoaffinitätssäulen AflaCLEAN für die Aflatoxine B1, B2, G1 und G2 in Lebens- und Futtermitteln



Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

AflaCLEAN,
Immunoaffinitätssäule für Aflatoxine B/G
P/N 10514 / 11721

UVE, Photochemischer Reaktor
P/N 10519

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