

Aflatoxine B/G und Ochratoxin A in Sojaflocken

manuell und automatisiert



Immunoaffinitätssäulen für die Aflatoxine B1, B2, G1 und G2

Die AflaCLEAN-Säulen sind genauso wie OtaCLEAN und Afla-OtaCLEAN im praktischen 3 mL Polypropylen-Format erhältlich. Das Säulenbett besteht aus einem Softgel mit darüber befindlichem Lagerpuffer, der ein Konservierungsmittel enthält. Die Beladungskapazität beträgt 150 ng Aflatoxin B1 absolut. Die Säulen können bei Raumtemperatur oder 4 °C bis 30 °C 24 Monate lang (ab Herstellungsdatum) gelagert werden. Die AflaCLEAN Säulen sind sowohl für die manuelle als auch für die automatisierte Bearbeitung z. B. mit dem LCTech Robotiksystem FREESTYLE SPE geeignet.

Für detailliertere Informationen zu unseren Immunoaffinitätssäulen besuchen Sie unsere Webseite.

Bearbeitungsprotokoll

Extrahieren Sie 20 g Sojaflocken mit 2 g Natriumchlorid in 100 mL Methanol/Wasser (80/20 (v/v)) für 30 Minuten. Geben Sie während der 30-minütigen Extraktion 50 mL n-Hexan zu, um Fette und Öle zu extrahieren. Der Rohextrakt wird filtriert, sollte es zu keiner deutlichen Phasentrennung nach der Filtration kommen, ist eine Zentrifugation bei 3000 xg für 10 Minuten hilfreich.

Sojaflocken

Als eiweißreicher Rohstoff gewinnt der Anbau der Sojabohne weltweit immer mehr an Bedeutung. Bei der Sojabohne handelt es sich um eine Nutzpflanze, die zur Familie der Hülsenfrüchte gehört. Wie man heute weiß, wird sie schon seit langer Zeit vom Menschen kultiviert. Es existieren bereits Nachweise für Sojaanbau in Nordostchina zwischen 1700 und 1100 vor Christus. Soja und somit auch die Sojaflocken enthalten einen hohen Anteil an ungesättigten Fettsäuren sowie jede Menge Eiweiß. Das Besondere an diesem Eiweiß ist, dass es trotz seines pflanzlichen Ursprungs dem tierischen Eiweiß ähnelt. Die Sojaflocken werden aus der Frucht der Sojabohne gewonnen, die zuvor in einem schonenden Verarbeitungsvorgang von der Schale, den Bitterstoffen und dem so genannten Trypsin-Inhibitor befreit wurden, welcher das menschliche Verdauungssystem stören kann. Auf diese Weise verarbeitet sind Sojaflocken leicht verdaulich, vollwertig und auf vielfältige Art und Weise genießbar.



Vorteile der AflaCLEAN-Säule auf einen Blick:

- 3 mL Format für homogene Laufgeschwindigkeit und optimale Aufreinigung
- Herausragend lange Haltbarkeit bis 24 Monate bei Raumtemperatur
- Beladungskapazität: 150 ng Aflatoxin B1
- Wiederfindungen:
B1 > 90 %, B2 > 80 %, G1 > 90 %, G2 > 60 %
- Geeignet für die automatisierte Bearbeitung

Es werden 2 mL der methanolischen (unteren) Phase mit 12 mL PBS-Puffer verdünnt, der 8 % Tween20 enthält, dieser reduziert die unspezifische Bindung von Matrixkomponenten an die IAC-Säule und verhindert die Präzipitation von Matrixkomponenten nach der Verdünnung mit PBS-Puffer.

Bearbeitungsprotokoll Fortsetzung →



Bearbeitungsprotokoll / 2

Laden Sie 14 mL auf eine Immunoaffinitätssäule (AflaCLEAN, Afla-OtaCLEAN oder OtaCLEAN), dies entspricht einer Matrixmenge von 0.4 g. Das Probenvorlagegefäß wird mit 5 mL deionisiertem Wasser gespült und die Spüllösung auf die Immunoaffinitätssäule geladen. Die Säule wird erneut mit 5 mL deionisiertem Wasser gewaschen.

Nachdem die Waschlösung die Säule passiert hat, wird die Säule durch einen Luftstrom getrocknet und mittels 2 mL Methanol eluiert. Das Methanol sollte dazu mindestens 5 Minuten in das Säulenbett einwirken, um eine vollständige Denaturierung der Antikörper und somit die Elution der Toxine zu ermöglichen. Das Eluat wird auf Laufmittel-Verhältnisse verdünnt oder kleinvolumig injiziert und analysiert. Die Proben können so mittels HPLC-Fluoreszenz oder mittels LC-MS/MS analysiert werden.

Fazit

Soja-Proben, hier Sojaflocken, lassen sich mit den Produkten AflaCLEAN und OtaCLEAN aber auch mit der Kombinationssäule Afla-OtaCLEAN auf die wesentlichen Lagerpilzgifte untersuchen. Die selektive Aufreinigung mittels der Immunoaffinitätssäulen AflaCLEAN und Afla-OtaCLEAN lassen eine sensitive, selektive Aufreinigung der Aflatoxine mit sehr guten Wiederfindungsraten und exzellenten chromatographischen Ergebnissen zu.

Die so aufgereinigten Proben können mittels HPLC-Fluoreszenz und photochemischer Derivatisierung oder mittels LC-MS/MS analysiert werden. Ochratoxin A, welches ebenfalls als stark reguliertes Toxin in Soja gefunden werden kann, wird mittels der OtaCLEAN und der Afla-OtaCLEAN ebenfalls hoch selektiv aufgereinigt, um so die geringen tolerierten Toxinmengen, die in Sojamatrizes erlaubt sind, zu bestimmen und zu kontrollieren.

Die Verwendung dieser Produkte erlaubt eine sensitive Mykotoxin-Analytik mittels der HPLC-Fluoreszenz oder der LC-MS/MS, diese können im analytischen Bereich auf verschiedenste Matrizes angewendet werden.

Wiederfindungsraten** Aflatoxine

Aflatoxin	B1	B2	G1	G2
Standard*	100	100	100	100
Sojaflocken AflaCLEAN 10 ppb	102	94	98	95
Sojaflocken Afla-OtaCLEAN 10 ppb	103	93	101	86

Wiederfindungsraten** Ochratoxin A

	Ochratoxin A
Standard*	100
Sojaflocke OtaCLEAN 10 ppb	88
Sojaflocke Afla-OtaCLEAN 10 ppb	89

* Standard wurde auf 100% gesetzt

** Korrigiert mit nicht gespikter Probe / Die Ergebnisse stimmen mit den Performancevorgaben der EC 401 / 2006 (Abschnitt 4.3.1) überein.

Laufbedingungen

	Aflatoxine	Ochratoxin A
HPLC	Isokratisch	Isokratisch
Säulenofen	36 °C	40 °C
Trennsäule	RP C18 PN 10522	RP EC 125/3 nucleosil 120-3 C18
Flussrate, Laufmittel	1.2 mL/min; HPLC-Wasser/Methanol/Acetonitril (60/30/15 (v/v/v))	0.6 mL/min; HPLC-Wasser/Methanol/Acetonitril (40/55/5 (v/v/v))+1% Essigsäure)
Derivatisierung	Photochemisch mittels UVE	ohne Derivatisierung
Fluoreszenzdetektion		
Anregungswellenlänge	365 nm	335 nm
Emmissionswellenlänge	460 nm	465 nm

Diese LCTech Prokute kamen zum Einsatz:

10514	AflaCLEAN
11022	Afla-OtaCLEAN
10515	OtaCLEAN
10519	UVE
10522	HPLC-Säule
10750	Vorsäulenhalter
10523	Vorsäule (Guard)

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