



Oktober 2017

Aflatoxine B/G, Ochratoxin A und Zearalenon (A-O-Z) in Mais ~ Separat oder kombiniert ~

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

Probenvorbereitung

MYKOTOXINE

Aufreinigung 3 in 1

Da verschiedene Mykotoxine häufig nicht einzeln, sondern gemeinsam in einer Probe vorkommen, führt die Aufreinigung mehrerer Toxine in einem Arbeitsablauf zu einer enormen Zeit- und Lösungsmittelersparnis. Wenn diese Aufreinigung zusätzlich mit einem nur 3 cm kleinem Säulenformat durchgeführt wird, erhöht sich die Ersparnis nochmals immens.

LCTech hat ein SMART-Säulenformat entwickelt, das individuell auf die zu untersuchenden Toxine kombiniert werden kann. So kann z. B. mit Hilfe der Immunoaffinitätssäulen AflaCLEAN SMART, OtaCLEAN SMART und ZeaCLEAN SMART entweder auf eines der Toxingruppen oder kombiniert auf zwei oder drei Toxingruppen auf einmal untersucht werden.

Die SMART Säulen sind AOAC-konform. Da LCTech sowohl die Antikörper als auch die Aufreinigungssäulen produziert, stellen umfangreiche Qualitätstests während des gesamten Produktionsprozesses die hohe Produktqualität sicher. Die Aufreinigungssäulen sind einzeln für die automatisierte Bearbeitung im FREESTYLE ThermELUTE™ geeignet.

SMART kombiniert



- ✓ Aflatoxine B/G
- ✓ Ochratoxin A
- ✓ Zearalenon

Einfach alle 3 Säulen aufeinander stecken und schon stehen sie zur manuellen Aufreinigung von Aflatoxinen B1, B2, G1, G2, Ochratoxin A und Zearalenon zur Verfügung.



Protokoll zur manuellen Bearbeitung

Homogenisieren Sie 20 g Mais und extrahieren Sie die Probe durch 100 mL Methanol/Wasser (80/20 (v/v)). Führen Sie die Extraktion, je nach Extraktionsapparatur, für 10 - 20 Minuten mit einem Magnetrührer oder für 3 - 5 Minuten mit einem Ultraturax durch, um geringere Extraktionseffizienzen zu vermeiden. Filtrieren Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie 5 mL davon mit 35 mL PBS. Filtrieren Sie den verdünnten Extrakt anschließend nochmal durch einen Whatman Glasfaserfilter, um Trübstoffe zu entfernen.

Stecken Sie die SMART Säulen aufeinander. Positionieren Sie dabei die ZeaCLEAN SMART Säule immer ganz unten, damit die AflaCLEAN SMART Säule die Aflatoxine und die OtaCLEAN SMART Säule die Ochratoxine vorher der Probe entziehen kann. Laden Sie 10 mL der Probe (entspricht 0,25 g Matrix) mit einer maximalen Flussrate von 1,5 mL auf die entsprechende SMART Säule. Spülen Sie das Probengefäß mit 2 mL deionisiertem Wasser und laden Sie diese Spüllösung ebenfalls auf die Säule.

Eluieren Sie die Säulen entweder mittels Acetonitril, oder alternativ die AflaCLEAN SMART und OtaCLEAN SMART mit Methanol und nur die ZeaCLEAN SMART mit Acetonitril. Beachten Sie in jedem Fall, dass das Elutionsmittel vollständig in das Säulenbett eindringt und mindestens 5 Minuten einwirkt, bevor das Eluat aufgefangen wird. Trocknen Sie die Säulen mit einem Luftstoß und fangen Sie so die Reste des Eluates auch noch auf.

HPLC-Laufbedingungen

(Aflatoxin B/G / Ochratoxin A / Zearalenon)

Mykotoxin:	Aflatoxin B/G	Ochratoxin A	Zearalenon
HPLC:	isokratisch	isokratisch	gradient
Säulenofen:	36 °C	40 °C	38 °C
Trennsäule:	RP C-18 (P/N 10544)	RP EC 125/3 nucleosil 120-3 C18	RP C-18 (P/N 10544)
Flussrate:	1,2 mL/min	0,6 mL/min	00.00 - 16:90: 1.0 mL/min (75% A; 25% B) 17.00 - 19:90: 1.0 mL/min (100 % A; 0% B) 20.00: - 26:00: 1.0 mL/min (75% A; 25% B)
Laufmittel:	HPLC-Wasser/Methanol/ Acetonitril (60/30/15 (v/v/v))	HPLC-Wasser/Methanol/ Acetonitril (40/55/5 (v/v/v)) + 1 % Essigsäure	Eluent A: HPLC-Wasser/ Methanol (45/55 (v/v)) + 2 % Essigsäure Eluent B: Wasser/Acetonitril (95/5 (v/v))
Fluoreszenz- detektion:	Derivatisierung mit UVE Photochemischer Reaktor	ohne Derivatisierung	ohne Derivatisierung
Anregungs- wellenlänge:	365 nm	335 nm	274 nm
Emmissions- wellenlänge:	460 nm	465 nm	440 nm

Wiederfindungen

Gehalte an Aflatoxin B/G, Ochratoxin A und Zearalenon in Mais

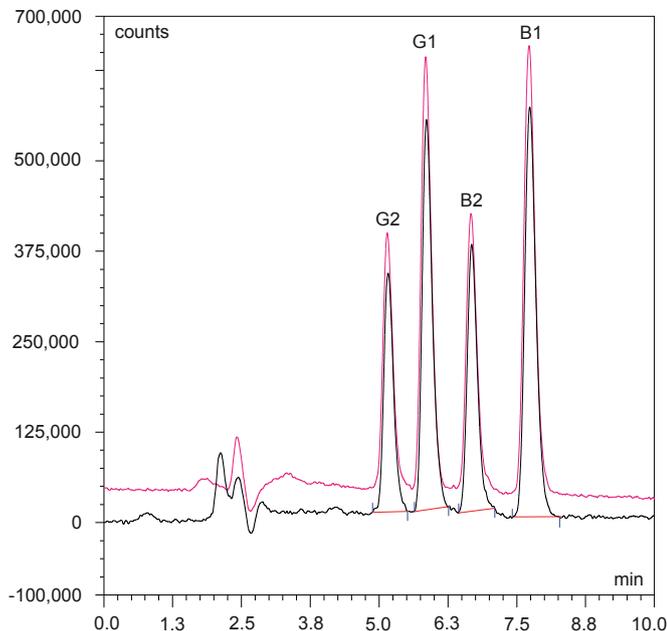
Aflatoxine B/G / Ochratoxin A Zearalenon	B1	B2	G1	G2	OTA	ZEA (250 ppb)
Standard*	100	100	100	100	100	100
Wiederfindungsraten** Mais, 10 ppb	84	91	84	84	92	93

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

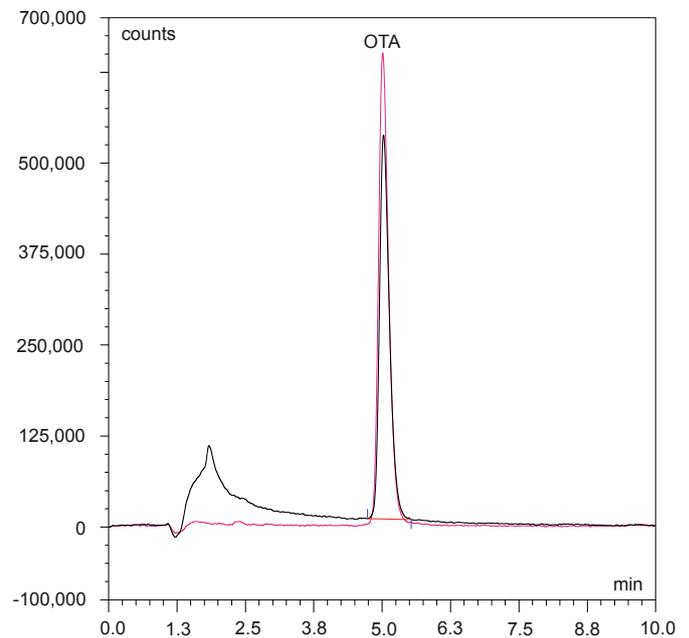


Chromatogramme
finden Sie auf der nächsten Seite.

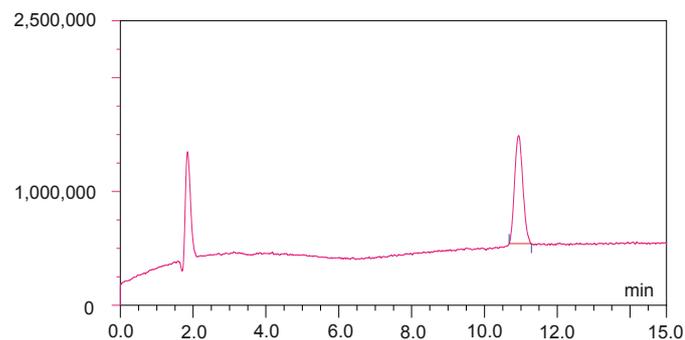
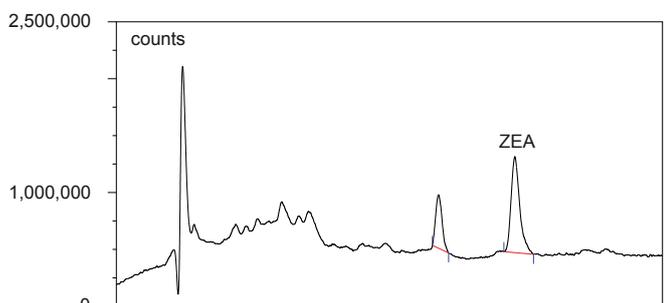
Chromatogramme



Schwarz: Maisprobe 10 ppb Gesamtoxin vorher gespikt
Rot: Standard 10 ppb Gesamtoxin (4 ppb (B1/G1), 1 ppb (B2/G2))



Schwarz: Maisprobe 10 ppb OTA vorher gespikt
Rot: Standard 10 ppb



Schwarz: Maisprobe 200 ppb ZEA vorher gespikt
Rot: Standard 200 ppb



SMART Immunoaffinitätssäulen
mit Säulenspitze

Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

AflaCLEAN SMART, Immunoaffinitätssäule für Aflatoxine B/G
P/N 12862 / 12863

OtaCLEAN SMART, Immunoaffinitätssäule für Ochratoxin A
P/N 13346 / 13351

ZeaCLEAN SMART, Immunoaffinitätssäule für Zearalenon
P/N 14741 / 14742

HPLC Trennsäule RP C-18
P/N 10522

UVE, Photochemischer Reaktor
P/N 10519

Flexibel - Kombinierbar - Effizient - Schnell - SMART

Ob O-Z, A-Z, A-O oder A-O-Z, jede Kombination ist möglich. Aufgrund dessen, dass die Prozesse zusammengefasst werden, wird die Gesamtaufreinigungszeit sowie der damit verbundene Arbeitsaufwand deutlich reduziert. So ist eine zur Verfügungstellung des Säuleneluates (für die anschließende Analyse) in weniger als 15 Minuten möglich (exklusive Extraktionszeit).