



Dezember 2017

Aflatoxine B/G in Marzipan ~ 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

Marzipan

Eines darf in der Vorweihnachtszeit nicht fehlen: Naschereien! Marzipan, der edlen Süßigkeit aus Mandeln, Zucker und Rosenwasser, kann dabei kaum einer widerstehen. Doch so lecker wie es schmeckt - so gefährlich kann es sein. Denn die in der Marzipanmasse enthaltenen Mandeln sind durch falsche oder zu lange Lagerung häufig anfällig für hochgiftige Schimmelpilze, sogenannte Aflatoxine. Diese sind weder am Geruch, Geschmack noch mit dem bloßen Auge erkennbar. Um eine zu hohe Aflatoxinbelastung speziell bei der Einfuhr aus Drittländern zu kontrollieren, hat die Durchführungsverordnung der Europäischen Kommission, die (EG) Nr. 1152/2009, intensive Probennahmen und Untersuchungen festgelegt.

Automatisierte Mykotoxinanalytik

Unbeaufsichtigt, zuverlässig und rund um die Uhr mit dem Robotiksystem FREESTYLE SPE

Konsequent im Tag- und Nachtbetrieb und sogar am Wochenende arbeitet das Robotiksystem FREESTYLE SPE auch die aufwendigsten Applikationen in der Mykotoxinaufreinigung präzise ab. Die Lösung von LCTech für die Handhabung von SPE-Säulen ist so einfach wie wirkungsvoll. Die Säule wird von der z-Achse eines Roboters aufgenommen, luft- und flüssigkeitsdicht gegriffen und über eine integrierte Leitung mit der Spritzenpumpe und einem Ventilsystem verbunden. Diese Einheit garantiert die Einzigartigkeit des Systems und ermöglicht, dass die SPE-Säule sich an jeden Platz der Plattform bewegen lässt.

Jede manuelle SPE-Methode, die sich bereits im Labor bewährt hat, lässt sich einfach und schnell automatisieren. Extrahieren, filtrieren und verdünnen Sie das Marzipan entsprechend der Angaben zur manuellen Bearbeitung. Stellen Sie die Proben in das FREESTYLE SPE, bestücken Sie die Racks mit den LCTech Immunoaffinitätssäulen AflaCLEAN, wählen Sie die Methode in der Software aus und starten Sie das System.

Das FREESTYLE SPE 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 Marzipan und versetzen Sie es mit 2 g Natriumchlorid. Extrahieren Sie die Mischung anschließend durch 100 mL Methanol/Wasser (80/20 (v/v)) und 50 mL n-Hexan, um Fette und Öle zu entfernen. Führen Sie die Extraktion für 20 Minuten durch.

Filtern Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie 7 mL davon mit 43 mL PBS. Um Trübungen und Ausfällungen zu vermeiden, filtern Sie die Probe erneut durch einen Glasfaserfilter. Laden Sie 50 mL Probe anschließend mit einer maximalen Flussrate von 2 mL/min. auf eine Immunoaffinitätsäule AflaCLEAN. Spülen Sie das Vorlagengefäß mit 2 x 5 mL deionisierten Wasser und laden Sie die Spüllösung ebenfalls auf die Säule.

Trocknen Sie die Säule durch einen kurzen Luftstrom und eluieren Sie anschließend mit 2 mL Methanol. Achten Sie darauf, dass das Methanol 5 Minuten in das Säulenbett einwirkt, um eine vollständige Denaturierung der Antikörper und damit die Freigabe der Toxine zu ermöglichen.

Verdünnen Sie das Eluat auf Laufmittelverhältnisse der HPLC und analysieren Sie dann mittels Fluoreszenz oder LC-MS.

Chromatogramme

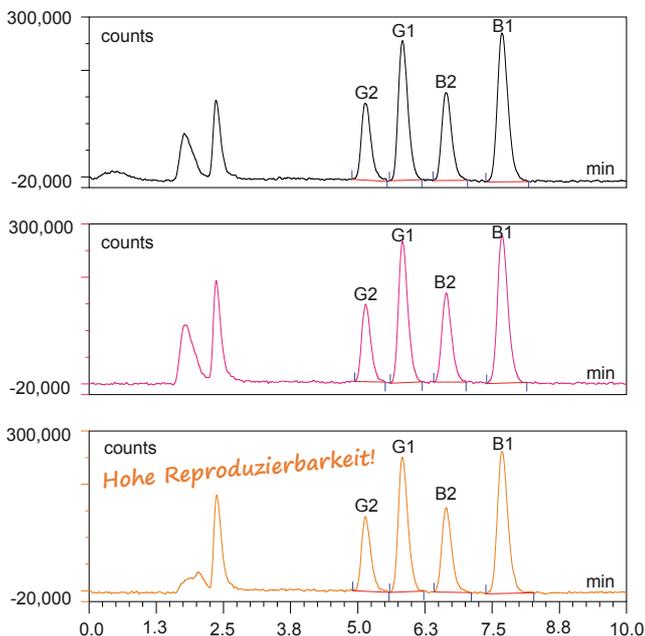


Abbildung von 3 mit Immunoaffinitätsäulen AflaCLEAN aufgereinigten Chromatogrammen (jeweils gespiked mit 10 ppb)

Fazit

Die Chromatogramme zeigen, dass mit AflaCLEAN auch komplexere Matrices, wie z. B. Marzipan, ohne Probleme mit hervorragenden chromatografischen Ergebnissen und hohen Wiederfindungsraten aufgereinigt werden können.

Die Probe ist so gut aufgereinigt, dass ohne Verschleppung eine Chromatographie innerhalb weniger als 10 Minuten möglich ist. Dies ist besonders interessant für Hochdurchsatz-Laboratorien

HPLC-Laufbedingungen (Aflatoxin B/G)

| | |
|------------------------|--|
| Mykotoxin: | Aflatoxin B/G |
| HPLC: | isokratisch |
| Säulenofen: | 36 °C |
| Trennsäule: | RP C-18 (P/N 10522) |
| 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 Marzipan

| Aflatoxine | B1 | B2 | G1 | G2 |
|---|-----|-----|-----|-----|
| Standard* | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Wiederfindungsraten** Marzipan, 10 ppb | 89 | 93 | 84 | 90 |

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

Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

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

HPLC Trennsäule RP C-18
P/N 10522

UVE, Photochemischer Reaktor
P/N 10519

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