



Mai 2019

Aflatoxin B/G in Mandeln ~ 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

Die Mandel

Auf Jahrmärkten oder Weihnachtsmärkten – der Duft von gebrannten Mandeln verzaubert viele jedes Jahr aufs Neue. Dabei ist die beliebte Mandel gar keine Nuss, sondern gehört zu der Gattung der Steinfrüchte. Ihr Ursprung liegt im Gebiet von Kleinasien bis hin zu Mittelasien.

Mandeln kann man in zwei unterschiedliche Arten unterteilen, die Süßmandel und die Bittermandel. Die bittere Mandelart enthält einen hohen Anteil an Blausäure, die jedoch für den Menschen nur im rohen Zustand giftig ist. Zudem gehören Mandeln zu den Top-Lieferanten von Vitamin E, Beta-Carotin, B-Vitaminen und sind zugleich reich an Ballaststoffen.

Ob ganz, gemahlen oder geraspelt - die Steinfrucht ist in vielen verschiedenen Varianten einsetzbar. Doch bei falscher Lagerung oder während eines Verarbeitungsprozesses, kann eine unerwünschte Schimmelbildung und daraus ein zu hoher Anteil an Aflatoxin B/G entstehen. Dies zeigen regelmäßige Grenzkontrollen der EU, bei denen zu hohe Aflatoxin B/G Werte immer wieder zu Zurückweisungen führen. Allein im Jahr 2018 wurden 32 Einfuhren in deren Herkunftsland zurückgewiesen.

Automatisierte Probenaufreinigung: FREESTYLE SPE macht es möglich

Am Tag, in der Nacht und sogar am Wochenende – das automatisierte FREESTYLE System übernimmt unbeaufsichtigt rund um die Uhr Ihre täglichen Routineaufgaben im Bereich Mykotoxinanalytik, damit Ihnen mehr Zeit für andere wichtige Tätigkeiten im Labor bleibt.

Jede manuelle SPE-Methode, die sich in Ihrem Labor bewährt hat, lässt sich direkt auf das System übertragen. Bereits erstellte Methoden können abgespeichert und wiederverwendet, aber auch modifiziert werden. Dabei sind die Anwendungsgebiete vielfältig: von Lebens- und Futtermittel über Umweltproben, bis hin zu forensischen Applikationen und Dopingproben.

Führen Sie einfach die auf der nachfolgenden Seite beschriebenen vorbereiteten Bearbeitungsschritte durch. Positionieren Sie die Mandelprobe anschließend im FREESTYLE SPE, parametrieren Sie in der Software mit wenigen Mausklicks die Methode und starten Sie das System - fertig.



Robotiksystem FREESTYLE SPE

Bearbeitungsprotokoll

Homogenisieren Sie 20 g Mandeln und versetzen Sie diese mit 2 g Natriumchlorid. Extrahieren Sie die Mischung durch 100 mL Methanol/Wasser (80/20 (v/v)) und 50 mL n-Hexan, um Fette und ätherische Öle zu entfernen.

Für die Erzielung hoher Extraktionseffizienz, führen Sie die Extraktion mindestens 20 Minuten durch. Filtrieren Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie 10,5 mL der n-Hexan freien, methanolischen Phase mit 64,5 mL PBS.

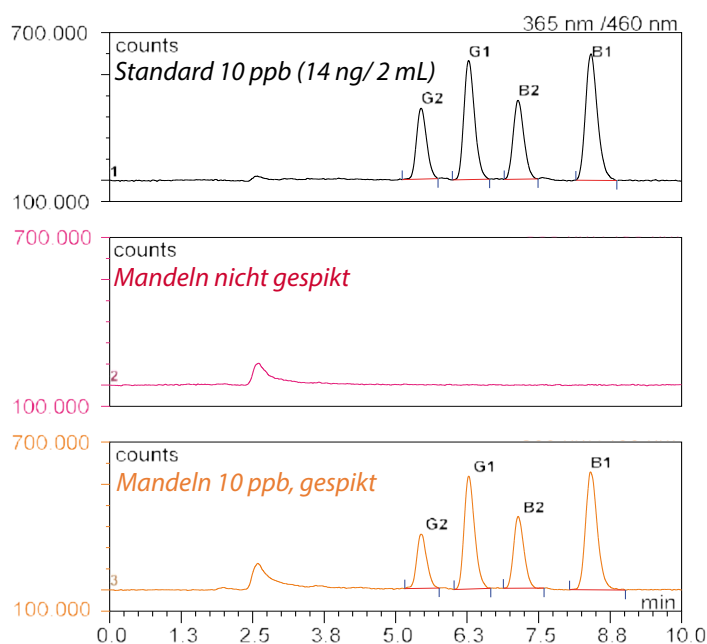
Im Falle starker Trübungen filtrieren Sie erneut durch einen Glasfaserfilter und laden Sie 50 mL der Probe (entspricht 1,4 g Matrix/Säule) mit einer maximalen Flussrate von 2 mL/min auf eine Immunoaffinitätssäule AflaCLEAN.

Waschen Sie das Vorlagengefäß mit 2 x 5 mL deionisiertem Wasser und laden Sie die Spüllösung im Anschluss ebenfalls auf die Säule.

Trocknen Sie die Säule mit einem kurzen Luftstrom und eluieren Sie Aflatoxine mit 2 mL Methanol. Achten Sie darauf, dass das Methanol 5 Minuten in das Säulenbett einwirkt um somit die Denaturierung der Antikörper und somit die vollständige Freisetzung des Toxins zu gewährleisten.

Am Ende verdünnen Sie das Eluat auf das Laufverhältnis der HPLC und die Probe kann mit Fluoreszenz oder LC-MS analysiert werden.

Chromatogramme



HPLC-Laufbedingungen (Aflatoxine B/G)

Mykotoxin:	Aflatoxine 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:	Photochemische Derivatisierung mit UVE
Anregungswellenlänge:	365 nm
Emmissionswellenlänge:	460 nm

Wiederfindungen

Gehalte an Aflatoxine B/G in Mandeln

Aflatoxine B/G	B1	B2	G1	G2
Standard*	100	100	100	100
Wiederfindungsraten** Mandeln, 10 ppb	92	90	92	76

*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
Immunoaffinitätssäulen für Aflatoxin B/G
P/N 10514 / 11721

HPLC Trennsäule RP C-18
P/N 10522

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

UVE Photochemischer Reaktor
P/N 10519