



August 2019

Aflatoxine B/G in Erdnüssen ~ 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

Erdnüsse

Ist die Erdnuss eine echte Nuss? Zumindest steckt es im Namen der Frucht. Im eigentlichen Sinne handelt es sich bei der Erdnuss um eine Hülsenfrucht. Folglich sind Erdnüsse mit Bohnen und Erbsen verwandt. Im Gegensatz zu echten Nüssen, ist die Fruchtwand der Erdnüsse nicht verholzt, sondern nur eine Hülse. Auch der Anteil an Omega-3-Fettsäuren ist bei Hülsenfrüchten deutlich geringer als bei Nüssen. Erdnüsse sind nicht nur lecker und nahrhaft, sondern sind in der Lebensmittel- und Futtermittelindustrie auch nicht mehr wegzudenken.

Da die Erdnuss im rohen Zustand Blähungen und Bauchschmerzen verursacht, findet man in deutschen Supermärkten keine rohen Ernüsse, sondern nur gekochter oder gerösteter Form. Bei der weiteren Verarbeitung der Erdnüsse können bei falschen Lagerbedingungen Mykotoxine entstehen, die für den Menschen in einem zu hohen Anteil giftig sein können. Aus diesem Grund werden von der Europäischen Union strenge Einfuhrkontrollen durchgeführt.

Vollautomatisierte Mykotoxinanalytik mit FREESTYLE ThermELUTE™

Für viele Laboratorien besteht die Herausforderung darin, in kürzerer Zeit so viele Proben wie möglich zu analysieren. Um diese Aufgabe zu erleichtern, hat LCTech neben der Immunoaffinitäts-Säule **AflaCLEAN** auch die **AflaCLEAN SMART** Säule entwickelt.

Durch die Verwendung der 3,5 cm kleinen SMART Säule erreicht man einen besonders hohen Probendurchsatz von 500 Proben / Woche. Das **FREESTYLE ThermELUTE™** ermöglicht zudem eine vollautomatisierte Mykotoxinanalytik mit so sensitiven Ergebnissen, dass mühelos weit unterhalb der Grenzwerte gemessen werden kann.

Jede Probe kann mit der AflaCLEAN SMART Säule im FREESTYLE ThermELUTE™ bearbeitet werden. Dies stellt eine 100 % Performance bei jeder Probe sicher und verhindert zuverlässig eine Kreuzkontamination.



ThermELUTE™ Greifer injiziert SMART Säule

Bearbeitungsprotokoll

Homogenisieren Sie 20 g Erdnüsse und versetzen Sie die Probe 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 Öle zu entfernen. Für die Erzielung hoher Extraktionseffizienz, führen Sie die Extraktion mindestens 10 Minuten durch. Filtrieren Sie den Rohextrakt und zentrifugieren Sie zur Unterstützung der Phasentrennung zwischen der wässrigen und der n-Hexan-Phase bei 3000 x g. Verdünnen Sie 7 mL der n-Hexan freien Phase mit 43 mL PBS.

AflaCLEAN:

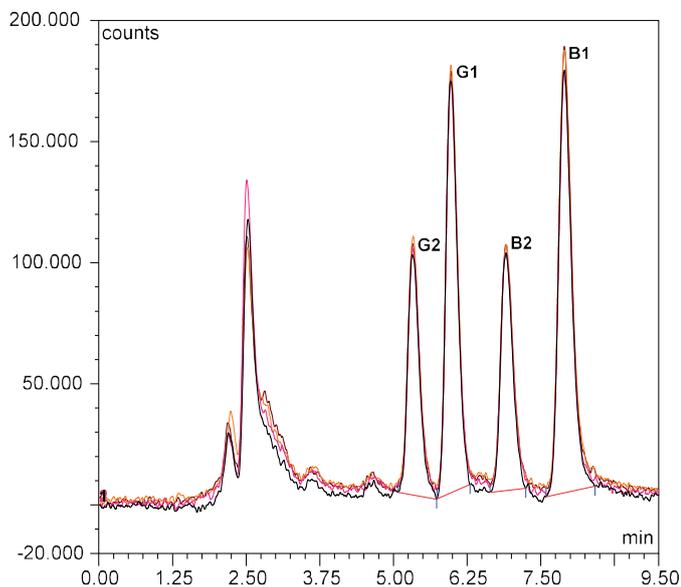
Bei der Verwendung der Immunoaffinitätssäule AlfaCLEAN laden Sie 50 mL der Probe (entsprechen 1,4 g Matrix) auf die Säule. Waschen Sie die Säule mit deionisiertem Wasser. Eluieren Sie die Säule mit 2 mL Methanol. Achten Sie darauf, dass das Methanol 5 Minuten in das Säulenbett einwirkt und somit die Denaturierung der Antikörper und die vollständige Freisetzung des Toxins zu gewährleisten.

AflaCLEAN SMART:

Zur Bearbeitung mit AflaCLEAN SMART Säulen verwenden Sie nur 10 mL des verdünnten Extraktes (entsprechen 0,28 g Matrix). Laden Sie die 10 mL auf die AflaCLEAN SMART Säule mit einer Flussrate von 3 mL/min. Waschen Sie die Säule im Anschluss mit 2 mL deionisiertem Wasser mit der gleichen Flussrate. Zum Eluieren benötigen Sie nur 400 µL Methanol und haben somit eine vergleichbare Toxinkonzentration wie mit der 3 mL Säule.

➔ Mit den AlfaCLEAN SMART Säulen sparen Sie Matrix und Lösungsmittel

Chromatogramme



Überlagerung 4 Chromatogramme: 5 ppb Erdnüsse aufgereinigt mit AflaCLEAN und AlfaCLEAN SMART Säulen

HPLC-Laufbedingungen

(Aflatoxin B/G)

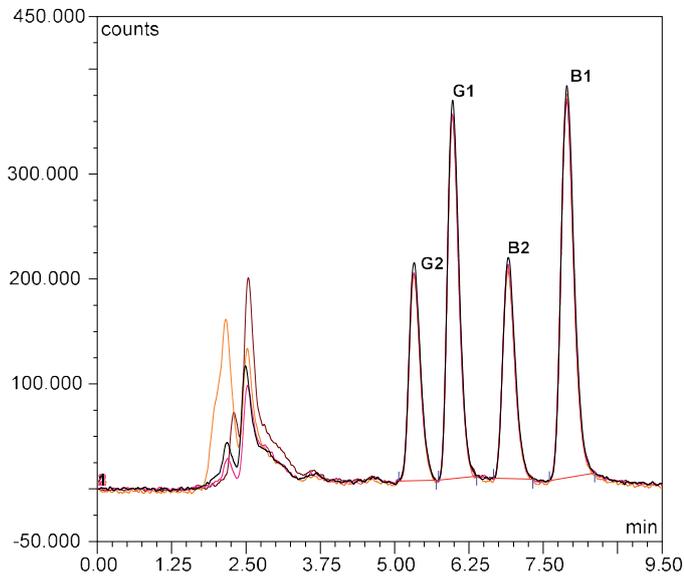
Mykotoxin	Aflatoxin B/G
HPLC:	isokratisch
Säulenofen:	36 °C
Trennsäule:	RP C-18 (P/N 10544)
Flussrate:	1,2 mL/min
Laufmittel:	HPLC-Wasser/ Methanol/Acetonitril (60/30/15 (v/v/v))
Fluoreszenzdetektion:	Mit Derivatisierung mit UVE Photochemischer Reaktor
Anregungswellenlänge:	365 nm
Emmissionswellenlänge: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

Wiederfindungen

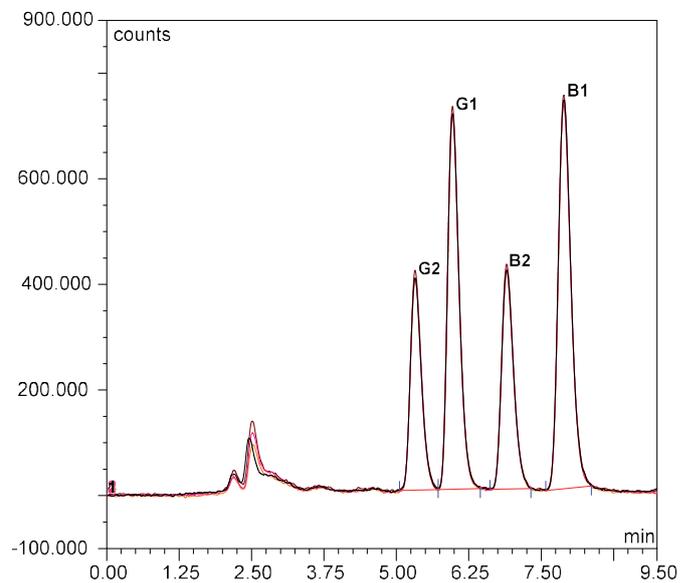
Gehalt an Aflatoxin B/G in Erdnüssen

Aflatoxine B/G	B1	B2	G1	G2
Standard*	100	100	100	100
Wiederfindungsraten** Erdnüsse, 5 ppb	89	93	85	87
rel. Fehler (%)	1	1	1	2
Wiederfindungsraten** Erdnüsse, 10 ppb	92	91	86	87
rel. Fehler (%)	1	1	2	2
Wiederfindungsraten** Erdnüsse, 20 ppb	97	95	93	90
rel. Fehler (%)	1	1	1	1

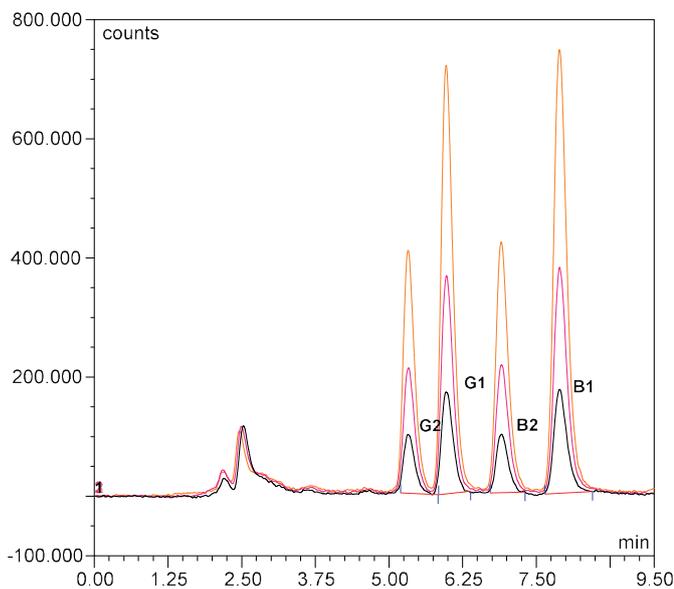
*Standard wurde 100% gesetzt,**korrigiert mit nicht gespikter Probe
Die Ergebnisse stimmen mit den Performancevorgaben der EC 401/2006 überein (Abs. 4.3.1)



Überlagerung 4 Chromatogramme: 10 ppb Erdnüsse aufgereinigt mit AflaCLEAN und AlfaCLEAN SMART Säulen



Überlagerung 4 Chromatogramme: 20 ppb Erdnüsse aufgereinigt mit AflaCLEAN und AlfaCLEAN SMART Säulen



Überlagerung 3 Chromatogramme:
Schwarz: 5 ppb Erdnüsse aufgereinigt mit AlfaCLEAN SMART
Rot: 10 ppb Erdnüsse aufgereinigt mit AlfaCLEAN SMART
Orange: 20 ppb Erdnüsse aufgereinigt mit AlfaCLEAN SMART



AlfaCLEAN SMART Säulen

Klein + schnell + günstig = SMART

- Sowohl für die manuelle als auch für die automatisierte Bearbeitung z. B. mit dem Robotersystem FREESTYLE ThermELUTE™ geeignet
- Einsparung von bis zu 80 % der Lösungsmittel
- Deutliche Reduzierung der Bearbeitungszeit bei wesentlichen Schritten der Aufreinigung
- Sehr gute Wiederfindungen für alle Matrices
- Reproduzierbare Ergebnisse



Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

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

AlfaCLEAN SMART Immunoaffinitätssäulen für Aflatoxin B/G
12862 / 12863

HPLC Trennsäule RP C-18
P/N 10522

FREESTYLE ThermELUTE™, Robotic System für automatisierte
Probenvorbereitung
P/N 12663 / 12668 / 13691