



April 2020

Aflatoxin B/G und Ochratoxin A in Hanf ~ Manuell und automatisiert ~

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

Probenvorbereitung

MYKOTOXINE

Hanf

Hanf, auch als Cannabis bekannt, zählt zu den ältesten Nutz- und Zierpflanzen dieser Welt. Bereits 10.000 v. Chr. wurde Hanf in China als Heilpflanze benutzt und wird dadurch häufig als „Panaceas“ bezeichnet, was so viel wie „Allesheiler“ bedeutet. Daher wird Hanf auch gerne zur Schmerzlinderung bei Krankheiten wie z. B. Aids, Krebs, MS und Rheuma eingesetzt. Aus diesem Grund ist der Erwerb und die Einnahme mit Rezept in einigen Ländern wie z. B. in Kanada, USA, Uruguay, etc. legalisiert. Die einzelnen Bestandteile der Pflanze sind universell einsetzbar und können zur Herstellung vieler verschiedener Produkte verwendet werden, wie beispielsweise Tee.

Hanfblütentee weist eine Vielzahl gesundheitsfördernder und beruhigende Eigenschaften auf. Er lindert zum Beispiel Beschwerden bei Migräne oder hilft bei Schlafstörungen. Zudem wirkt der Tee entschlackend und zügelt den Appetit, weshalb er gerne begleitend zu Diäten eingesetzt wird.

Durch Modifikation der Blüten wird das enthaltene THC in CBN umgewandelt und hat dadurch keine berauschende Wirkung mehr. Bei einer falschen Lagerung oder Trocknung von Hanf können sich jedoch Schimmelpilze bilden, die wiederum giftige Mykotoxine bilden können, welche Leber und Niere schädigen oder sogar Krebs auslösen können. Wenn der befallene Hanf zu Tee verarbeitet wird, kann das für den Verbraucher schädlich sein.

Automatisierte Aufreinigung mit FREESTYLE SPE

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

Für die automatisierte Aufreinigung von Aflatoxine und Ochratoxine in Hanf, extrahieren, filtrieren und verdünnen Sie ihn entsprechend der Angaben des Bearbeitungsprotokolls der nachfolgenden Seite. Stellen Sie anschließend die Probe in das FREESTYLE SPE, bestücken Sie die Racks mit den notwendigen Säulen und paramentieren Sie in der Software mit wenigen Mausklicken die Methode und starten Sie das System - fertig.



Bearbeitungsprotokoll

Homogenisieren Sie 10 g Hanf und versetzen Sie ihn mit 2 g Natriumchlorid. Extrahieren Sie die Mischung anschließend durch 100 mL Methanol/Wasser (80/20 (v/v)) und 50 mL n-Hexan, um ätherische Öle und Fette zu entfernen. Für die Erzielung einer hohen Extraktionseffizienz, führen sie die Extraktion 30 Minuten durch.

Filtrieren Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie 2 mL mit 12 mL PBS (enthält 8 % Tween20). Laden Sie im Anschluss 14 mL der Probe (entsprechen 0,2 g Matrix) entweder auf eine AflaCLEAN Säule, AflaCLEAN Select Säule oder auf eine OtaCLEAN Säule. Um eine effiziente Bindung der Toxine an die Antikörper zu ermöglichen, darf die Flussgeschwindigkeit 2 mL/min nicht überschreiten. Waschen Sie die Säule mit 2 x 5 mL deionisiertem Wasser und verwenden Sie die Waschlösung, um zuvor Probenreste aus dem Vorlagegefäß auszuspülen.

Eluieren Sie das Toxin mit 2 mL Methanol. Achten Sie darauf, dass das Methanol 5 Minuten in das Säulenbett einwirkt, um eine vollständige Denaturierung der Antikörper zu gewährleisten.

HPLC-Laufbedingungen

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:	Derivatisierung mit UVE, photochemischer Reaktor
Anregungswellenlänge:	365 nm
Emissionswellenlänge:	460 nm

HPLC-Laufbedingungen

Ochratoxin A

HPLC:	Isokratisch
Säulenofen:	40 °C
Trennsäule:	RP EC 125/3 nucleosil 120-3 C18
Flussrate:	0,6 mL/min
Laufmittel:	HPLC-Wasser/Methanol/ Acetonitril (40/55/5 (v/v/v)+ 1 % Essigsäure)
Fluoreszenzdetektion:	ohne Derivatisierung
Anregungswellenlänge:	335 nm
Emissionswellenlänge:	465 nm

Wiederfindungen

Gehalte an Aflatoxinen B1, B2, G1, G2 und Ochratoxin A in Hanf

Aflatoxin	Aflatoxine				OTA
	B1	B2	G1	G2	
Standard*	100	100	100	100	100
Wiederfindungsrate** Hanf OtaCLEAN 20 ppb Ochratoxin A	-	-	-	-	102
Wiederfindungsrate** Hanf AflaCLEAN 20 ppb Aflatoxin B/G	103	101	102	100	-
Wiederfindungsrate** Hanf AflaCLEAN Select 20 ppb Aflatoxin B/G	101	101	101	100	-

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

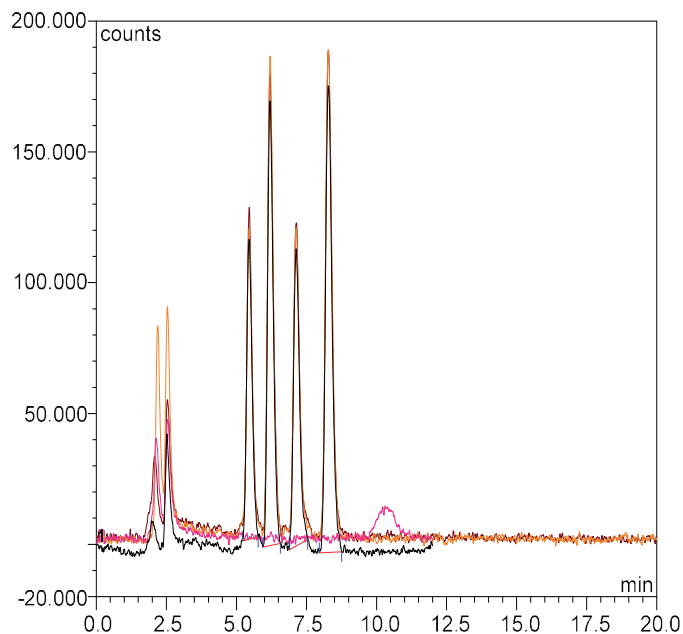
Die Wiederfindungsraten zeigen eine effiziente Anreicherung der Toxine trotz der schwierigen Matrix, wie Hanf oder anderen medizinischen relevanten Materialien, die durch Trocknung lagerfähig gemacht werden.



Chromatogramme

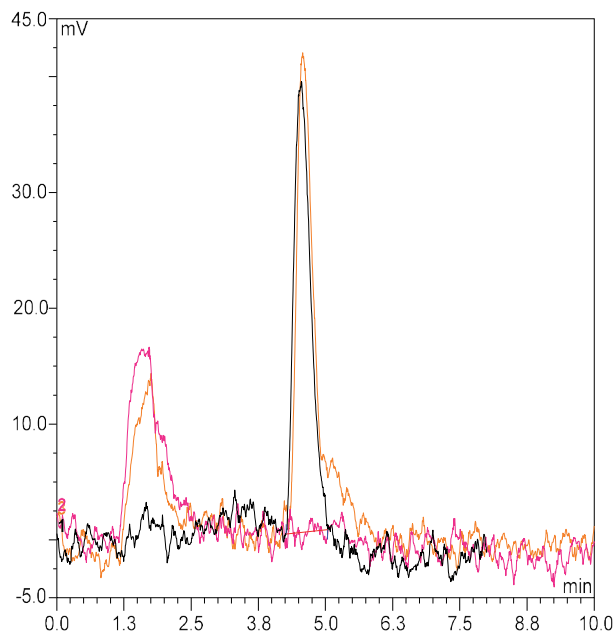


Chromatogramm Aflatoxine B/G



Schwarz: Standard 4ng/2mL repräsentiert 20 ppb
 Rot: Hanf blind mit AflaCLEAN
 Orange: Hanf 20 ppb mit AflaCLEAN
 Braun: Hanf 20 ppb mit AflaCLEAN Select

Chromatogramm Ochratoxin A



Schwarz: Standard 4ng/2mL repräsentiert 20 ppb
 Rot: Hanf blind mit OtaCLEAN
 Orange: Hanf 20 ppb mit OtaCLEAN

LCTech Aufreinigungssäulen

LCTech hat speziell für die Aufreinigung von Mykotoxinen in Lebens- sowie Futtermitteln Immunoaffinitätssäulen entwickelt. Unter anderem die AflaCLEAN, AflaCLEAN Select, Afla-OtaCLEAN und OtaCLEAN für die Aufreinigung von Aflatoxin B/G und Ochratoxin A.

Alle Säulen weisen eine sehr hohe Matrixtoleranz, exzellente Aufreinigung und Wiederfindungen auf!

- ✓ Die Immunoaffinitätssäulen werden weltweit erfolgreich für unterschiedlichste Matrices in akkreditierten Laboren eingesetzt.
- ✓ In internationalen Ringversuchen haben sie bestens abgeschnitten.

Da LCTech sowohl die Antikörper als auch die Aufreinigungssäulen produziert, stellen umfangreiche Qualitätstests während des gesamten Produktionsprozesses die hohe Produktqualität sicher.

Alle Aufreinigungssäulen sind für die automatisierte Bearbeitung, z. B. in den LCTech-Geräten, FREESTYLE SPE geeignet.



Afla-OtaCLEAN für eine gleichzeitige Aufreinigung für Aflatoxine B/G und Ochratoxine - sparen Sie Zeit & Geld!

Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

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

AflaCLEAN Select Immunoaffinitätssäulen für Aflatoxin B/G
 P/N 12058 / 12059

OtaCLEAN Immunoaffinitätssäulen für Ochratoxin A
 P/N 10515 / 11535

AflaOtaCLEAN Immunoaffinitätssäulen für Aflatoxin B/G und Ochratoxin A
 P/N 11022 / 11771