



Mai 2020

Aflatoxin B/G 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

Für viele Laboratorien besteht die Herausforderung im Laboralltag darin, so viele Proben wie möglich in kürzester Zeit, präzise und mit maximaler Sensitivität zu analysieren. Um Ihnen diese Aufgabe zu erleichtern, hat LCTech neben der Immunoaffinitätssäule AflaCLEAN auch die AflaCLEAN SMART Säule entwickelt.

Beide Säulen sind ausgelegt für die Aufreinigung der Aflatoxine B1, B2, G1 und G2 in Lebens- und in Futtermitteln, so auch in Hanf. Die Säulen sind in der Lage die Aflatoxine hochspezifisch zu binden und weisen eine hohe Matrixtoleranz auf.

Durch die Verwendung der 3,5 cm kleinen SMART Säule wird ein besonders hoher Probendurchsatz von bis zu 500 Proben / Woche erzielt, da sich die Bearbeitungszeit durch die geringe Größe der Säule deutlich reduziert. Zudem werden bei Extraktion, Verdünnung, Waschen, Probenaufgabe und Elution mehr als 80 % der Lösemittel eingespart.

Automatisierte Mykotoxinanalytik mit FREESTYLE ThermELUTE™

Das Robotiksystem FREESTYLE ThermELUTE™ in Kombination mit SMART Säulen ermöglicht eine Vollautomation mit so sensitiven Ergebnissen, dass selbst im unteren ppt-Bereich mühelos, rund um die Uhr, auch an Wochenende, analysiert werden kann.

Die einzigartige Technologie realisiert eine Bearbeitung „vom Rohextrakt zum Chromatogramm“ ohne manuelle Zwischenschritte. Die Proben werden immer auf die gleiche Weise verarbeitet und Sie können sicher sein, dass die europäischen Vorschriften und Grenzwerte eingehalten werden.

Für die automatisierte Bearbeitung von Hanf, extrahieren, filtrieren und verdünnen Sie ihn entsprechend der Angaben des Protokolls auf Seite 2. Stellen Sie die Probe anschließend in das FREESTYLE, bestücken Sie die Racks mit den Säulen, parametrieren Sie in der Software mit wenigen Klicks die Methode und drücken Sie auf START - fertig.



Manuelles Bearbeitungsprotokoll

Homogenisieren Sie 10 g Hanf und versetzen Sie ihn mit 2 g Natriumchlorid. Extrahieren Sie die Mischung 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 für 30 Minuten durch.

Filtrieren Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie davon 2 mL mit 12 mL PBS (enthält 8 % Tween20). Laden Sie im Anschluss 2,8 mL der Probe (entsprechen 0,04 g Matrixäquivalente) auf eine AflaCLEAN SMART Säule. Zu Vergleichszwecken wurde parallel eine AflaCLEAN Säule beladen.

Um eine effiziente Bindung der Toxine an die Antikörper zu erzielen, darf die Flussrate bei der AflaCLEAN SMART Säule 3 mL/min und bei der AflaCLEAN Säule 2 mL/min nicht überschreiten. Waschen Sie die SMART Säule mit 2 mL deionisiertem Wasser und verwenden Sie die Waschlösung zuvor, um Probenreste aus dem Vorlagegefäß auszuspülen bevor Sie die Säule reinigen.

Eluieren Sie die Toxine mit 0,4 mL Methanol. Achten Sie darauf, dass das Methanol 5 Minuten in das Säulenbett einwirkt, um eine vollständige Denaturierung der Antikörper zu gewährleisten.



AflaCLEAN SMART und AflaCLEAN im direkten Vergleich

Säulentyp:	AflaCLEAN SMART	AflaCLEAN
Probenvolumen:	2,8 mL	14 mL
Flussrate:	3 mL/min	2 mL/min
Waschvolumen:	2 mL	10 mL
Elutionsvolumen:	0,4 mL	2 mL
Matrixäquivalente / Eluatvolumen:	0,1 g/mL	0,1 g/mL
Zeitbedarf:	< 10 min.	> 20 min.

Wiederfindungen

Gehalte an Aflatoxin B1, B2, G1 und G2 in Hanf

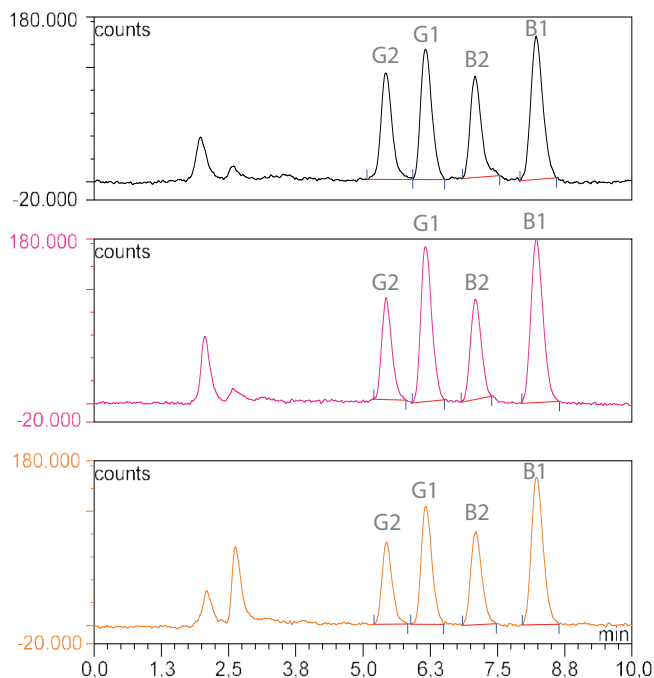
Aflatoxin B/G	B1	B2	G1	G2
Standard*	100	100	100	100
Wiederfindungsrate** Hanf, AflaCLEAN 20 ppb	100	92	93	84
Wiederfindungsrate** Hanf, AflaCLEAN SMART 20 ppb (Fehler [n=3])	95 (+/- 1)	94 (+/- 5)	91 (+/- 4)	77 (+/- 3)

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

HPLC-Laufbedingungen

Aflatoxine	
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

Chromatogramm Aflatoxine B/G



Schwarz: Standard 4 ng/2 mL, repräsentiert 20 ppb Aflatoxin

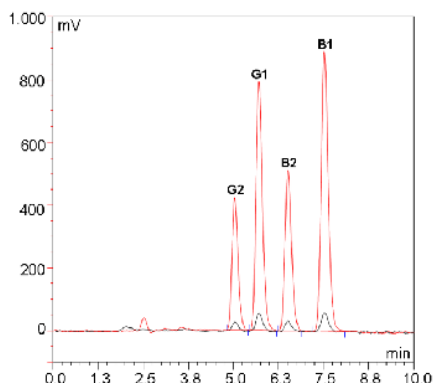
Rot: Hanf 20 ppb, aufgereinigt mit AflaCLEAN

Orange: Hanf 20 ppb, aufgereinigt mit AflaCLEAN SMART

Höchste Sensitivität durch Automation

Durch Vollautomation unter Nutzung der SMART Säulen im FREESTYLE ThermELUTE™ wird neben einem höheren Probendurchsatz auch höchste analytische Empfindlichkeit ermöglicht, da das Eluat quantitativ in das HPLC-System transferiert wird.

- ✓ Erhöhen Sie Ihren Probendurchsatz,
- ✓ steigern Sie Ihre analytische Empfindlichkeit,
- ✓ und erzielen Sie reproduzierbare Ergebnisse.



Rot: 3 ppb Probe (0.28 g Matrix) direkt injiziert über ThermELUTE™ Technologie

Schwarz: 3 ppb Matrix; Säuleneluat auf HPLC-Verhältnisse verdünnt und injiziert

Sensitivitätsgewinn um den Faktor 14

Erfahren Sie mehr über FREESTYLE ThermELUTE™ auf unserem [YouTube Kanal](#) oder auf unserer [Webseite](#).

Fazit

Die Wiederfindungsraten zeigen eine effiziente Toxinanreicherung, selbst bei einer schwierigen Matrix, wie Hanf. Somit wird deutlich, dass sowohl AflaCLEAN als auch deren SMART Version, mit deutlich geringeren Lösungsmittelverbrauch, mit gleicher Effizienz funktionieren.

Die Chromatogramme weisen innerhalb von 10 Minuten keine auffälligen Störstoffe auf, womit eine schnelle und genaue Analyse der Proben ermöglicht wird. Gleichzeitig wird eine analytische Komptabilität zum LC-MS/MS System gegeben.

Schnell – reproduzierbar – sensitiv – SMART Wussten Sie schon?

AflaCLEAN SMART und OtaCLEAN SMART sind für eine gleichzeitige Aufreinigung von Aflatoxinen B/G und Ochratoxin A kombinierbar. Dadurch erhalten Sie eine schnelle und maximal-spezifische Aufreinigung.



Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

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

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

HPLC Trennsäule RP C-18
P/N 10522

UVE Photochemischer Reaktor
P/N 10519

FREESTYLE ThermELUTE™, Robotiksystem für die vollautomatisierte Probenvorbereitung und -analytik
P/N 12663 / 12668 / 13691