



Juli 2020

Aflatoxin B/G und Ochratoxin A in Erdnuss ~ manuell und automatisiert für LC-MS/MS mit CrossTOX® ~

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

Probenvorbereitung

MYKOTOXINE

Erdnuss

Die Erdnuss ist botanisch gesehen eine Hülsenfrucht, welche mit der Bohne oder Erbse verwandt ist. Aufgrund der netzartigen und holzigen Hülle, wird die Erdnuss bei uns als Nuss verstanden und gehandelt. Auch die Konsistenz, der hohe Ölgehalt und der vergleichsweise niedrige Stärkegehalt sowie die rohe Verzehrbareit unterscheiden die Erdnuss von Hülsenfrüchten, wie z. B. Bohnen. Die heutigen Hauptproduzenten sind China mit 16 Mrd. Tonnen pro Jahr, gefolgt von Indien, Nigeria, USA und dem Sudan.

Die Weiterverarbeitung von Erdnüssen oder falsche Lagerbedingungen können zur Bildung von Mykotoxinen führen, die schon in geringen Mengen für Mensch und Tier giftig sein können. Aus diesem Grund werden von der Europäischen Union strenge Einfuhrkontrollen durchgeführt. Allein im Jahr 2020 sind bereits 79 von insgesamt 184 Beanstandungen durch das RASFF-Portal in Europa im Lebens- und Futtermittelbereich für Erdnussprodukte registriert worden (Stand 19.06.2020).

Automatisierte Bearbeitung mit der Multi-Mykotoxin Aufreinigungssäule CrossTOX®

Die CrossTOX® Säulen von LCTech ermöglichen eine hocheffiziente Probenaufreinigung von regulierten und erwarteten Mykotoxinen in nur einem Arbeitsgang. Gleichzeitig verbessern sie die herkömmliche Dilute-and-Shoot Anwendung durch ein QuEChERS-basierendes Verfahren. Die Säulen sind sowohl für die manuelle als auch für die automatisierte Bearbeitung geeignet.

Für die automatisierte Bearbeitung der CrossTOX® Säulen bietet das FREESTYLE System zwei Möglichkeiten an:

- ✓ Vom Rohextrakt zur aufgereinigten Probe oder
- ✓ Vom Rohextrakt zum Chromatogramm (Vollautomation)

Um den höchstmöglichen Automatisierungsgrad zu realisieren, wird das FREESTYLE SPE Robotersystem einfach mit einem HPLC Direct Injection-Modul für die direkte Injektion in Ihr LC-MS/MS System ausgerüstet. Dies ermöglicht die Parallelisierung von Aufreinigung und Analyse für bis zu 120 Proben/Tag und damit eine optimale Auslastung Ihres LC-MS/MS Systems.



Bearbeitungsprotokoll

Homogenisieren Sie 20 g Erdnüsse und extrahieren Sie die Probe durch 100 mL Acetonitril/Wasser/Essigsäure (84/15/1 (v/v)) und 50 mL n-Hexan zur Entfernung von Fetten und Ölen. Für die Erzielung einer hohen Extraktionseffizienz, führen sie die Extraktion je nach Extraktionsgerät für mind. 10 Minuten durch.

Filtrieren Sie den Rohextrakt. Eine Phasentrennung zwischen n-Hexan und Acetonitril-haltiger Phase kann durch eine 5-minütige Zentrifugation bei 3000 x g beschleunigt werden. Lassen Sie 0,5 - 3 mL der unteren (n-Hexan-freien Phase) langsam durch die CrossTOX® Säule passieren, wobei Sie die gereinigte Probe mittels eines GC-Vials auffangen. Eine Menge zwischen 250 – 500 µL ist ausreichend, um eine repräsentative Probe zu erhalten, die maximal von Matrixkomponenten abgereichert ist.

Wiederfindungen

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

Aflatoxin	B1	B2	G1	G2
Standard*	100	100	100	100
Wiederfindungsrate** Erdnuss 10 ppb (B1/G1/B2/G2 (4/4/1/1)) (n=3)	99 ± 5	97 ± 7	88 ± 2	97 ± 9
Wiederfindungsrate** Erdnuss 20 ppb (B1/G1/B2/G2 (8/8/2/2)) (n=3)	93 ± 5	94 ± 7	92 ± 7	88 ± 6
Wiederfindungsrate** Erdnuss 40 ppb (B1/G1/B2/G2 (16/16/4/4)) (n=3)	97 ± 3	102 ± 9	91 ± 5	96 ± 5
Wiederfindungsrate** Erdnuss 50 ppb (B1/G1/B2/G2 (20/20/5/5)) (n=3)	98 ± 3	96 ± 8	92 ± 2	103 ± 8

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

Wiederfindungen

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

	Ochratoxin A
Standard*	100
Wiederfindungsrate** Erdnuss 10 ppb (n=3)	89 ± 8
Wiederfindungsrate** Erdnuss 20 ppb (n=3)	95 ± 7
Wiederfindungsrate** Erdnuss 40 ppb (n=3)	91 ± 8
Wiederfindungsrate** Erdnuss 50 ppb (n=3)	88 ± 3

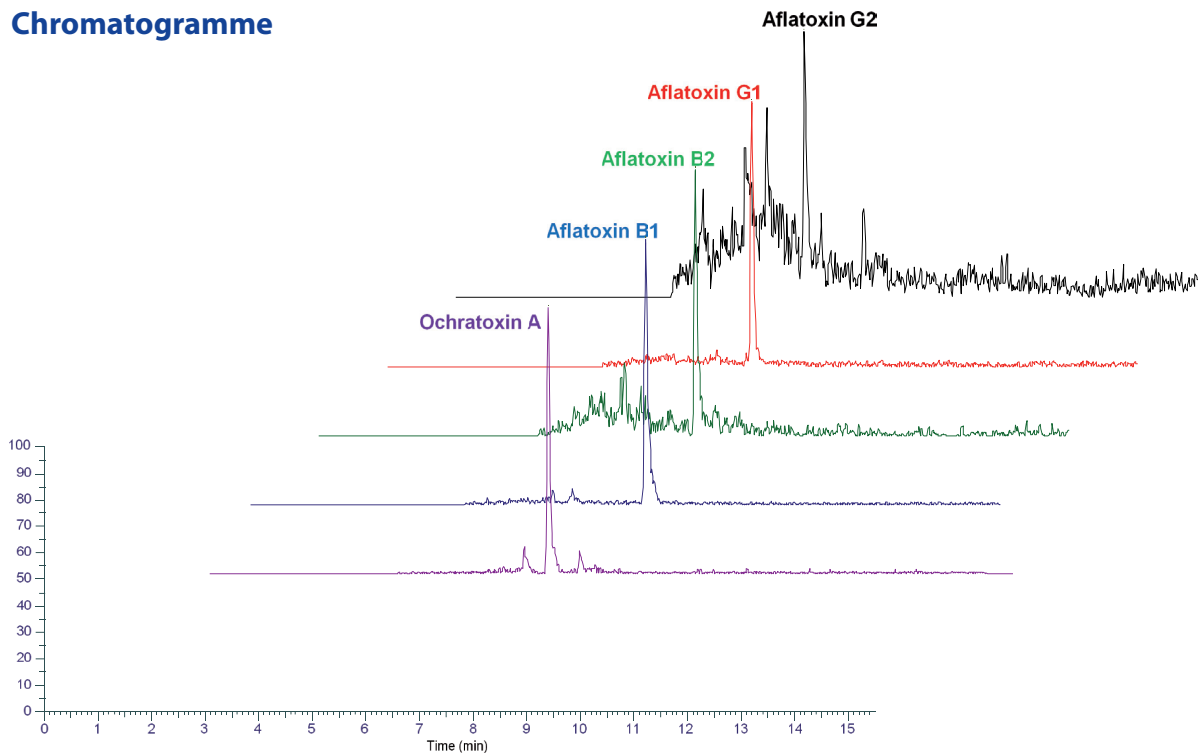
* Standard wurde = 100% gesetzt, ** Korrigiert mit nicht gespikter Probe / Die Ergebnisse stimmen mit den Performancevorgaben der EC 401 / 2006 (Abschnitt 4.3.1) überein.

LC-Laufbedingungen

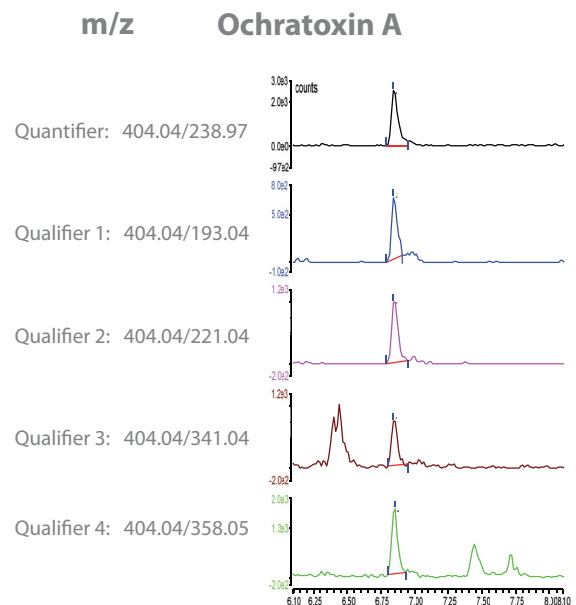
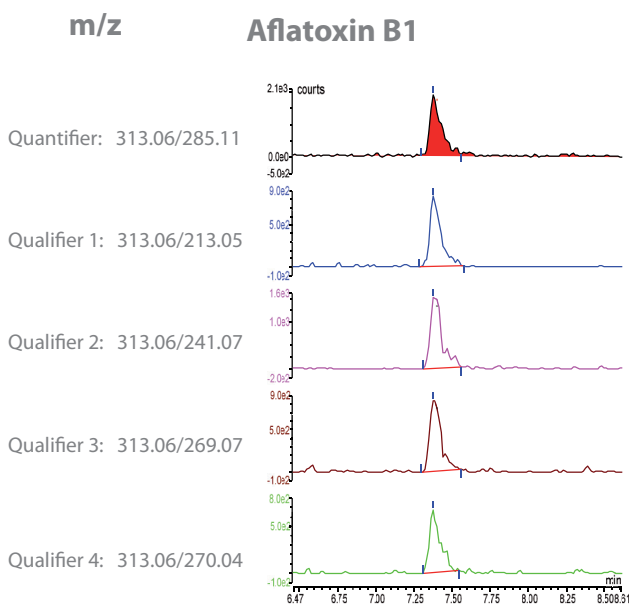
Aflatoxine B/G und Ochratoxin A

LC:	Gradient
Säulenofen:	38 °C
Trennsäule:	Accucore Biphenyl 100 mm x 2.1mm; 2.6 µm mit Defender Guard
Flussrate/Laufmittel:	Eluent A: HPLC-Wasser/Methanol (98/2 (v/v))+ 1 % Essigsäure + 5mM Ammoniumacetat Eluent B: HPLC-Wasser/Methanol (2/98 (v/v))+ 1 % Essigsäure + 5mM Ammoniumacetat Flussrate 0.4 mL/min
Massenspektrometrie QQQ:	Für alle Analyten wurden mindestens 1 Quantifier und 3 Qualifier-Ionen verwendet, die Einstellungen hängen vom MS-Gerät ab.

Chromatogramme



Chromatographie für Aflatoxin B1 und Ochratoxin A der selektierten Qualifier und Quantifier



Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

CrossTOX® Säule
P/N 17901 / 17902

FREESTYLE SPE Robotik System für automatisierte
Probenvorbereitung
P/N 12663 / 12668