



Aflatoxine B/G in Sesam

manuell und automatisiert



Sesam

Sesam gilt als eines der ältesten Öle auf der Welt und wurde bereits 300 v. Chr. angebaut. Der Sesam hat seinen Ursprung in Südasien. Heutzutage wird die Ölpflanze in vielen tropischen und subtropischen Ländern rund um den Globus angebaut.

Sesamkörner gibt es in verschiedenen Sorten – weiß, braun und schwarz. Diese unterscheiden sich nicht nur geschmacklich, sondern auch in der Zusammensetzung der Nährstoffe. Wie auch der Märchenspruch „Sesam öffne dich“ verrät, ist der Samen der harten Kapsel-früchte reich an Nährstoffen. Doch leider ist der Sesam heutzutage oft kontaminiert mit Mykotoxinen und Pestiziden (Ethylenoxid), die das Wachstum von Schimmelpilzen und Keimen verhindern sollen. Aus diesem Grund gelten EU-weit strenge gesetzliche Regelungen für den zulässigen Höchstgehalt.

Automatisierte Mykotoxinaufreinigung mit **FREESTYLE SPE**

Die Mykotoxinanalytik ist im Lebens- und Futtermittel Bereich unerlässlich. Um Sie bei den täglichen Routineaufgaben im Labor zu unterstützen und dabei noch Zeit zu sparen, hat LCTech das Robotiksystem FREESTYLE SPE entwickelt. Dabei erreichen Sie sehr gute Wiederfindungen und reproduzierbare Ergebnisse. Mit dem bereits bewährten System können Sie jede manuelle SPE-Methode direkt übertragen.

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

Bearbeitungsprotokoll

Homogenisieren Sie 20 g Sesamkörner mit 2 g Natriumchlorid und extrahieren Sie durch 100 mL Methanol/Wasser (80/20 (v/v)) und 50 mL n-Hexan zur Entfernung von ätherischen Ölen. Führen Sie die Extraktion für mindestens 30 Minuten durch, um maximale Extraktionseffizienzen zu erzielen.

Filtern Sie den Rohextrakt und zentrifugieren Sie bei 3000xg für 5 Minuten zur Unterstützung der Phasentrennung zwischen der n-Hexan und der methanolischen Phase. Entnehmen Sie vorsichtig aus der methanolischen (unteren) Flüssigkeitsphase 10,5 mL und verdünnen Sie es mit 64,5 mL PBS.

Sollten bei der Verdünnung des Rohextraktes Ausfällungen und Eintrübungen auftreten, filtern Sie die Probe mittels eines Whatman GF/A Filters.

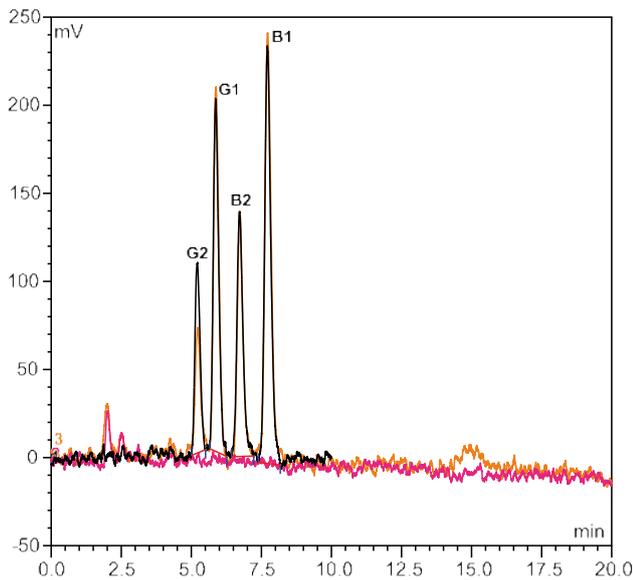
Laden Sie anschließend max. 50 mL der verdünnten Probe (entspricht 1,4 g Matrixäquivalenten) auf eine Immunoaffinitätssäule AflaCLEAN. Spülen Sie das Vorlagengefäß mit 2 x 5 mL deionisiertem Wasser und laden Sie die Spüllösung ebenfalls auf die Säule. Im Anschluss trocknen Sie die Säule mit einem kurzen Luftstrom. Pipettieren Sie das Elutionsmittel (entspricht 2 mL Methanol) auf das Säulenbett. Achten Sie darauf, dass das Methanol 5 Minuten in das Säulenbett einwirkt, um eine vollständige Denaturierung der Antikörper und somit die Freisetzung der Toxine zu gewährleisten. Das aufgefangene Eluat können Sie verdünnen oder direkt kleinvolumig in der LC mittels Fluoreszenz und Nachsäulenderivatisierung oder mittels LC-MS/MS analysieren.

Robotiksystem **FREESTYLE SPE**





Chromatogramm



Schwarz: 14 ng/2ml Aflatoxin Mix
(entspricht 10 ppb total Aflatoxin)

Magenta: Sesam nicht gespikt

Orange: Sesam gespikt mit 10 ppb Aflatoxin (10 µg/kg)

Laufbedingungen

HPLC	isokratisch
Säulenofen	38 °C
Trennsäule	RP C-18 (P/N 10522)
Flussrate, Laufmittel	1.2mL/min; HPLC-Wasser/ Methanol/Acetonitril (60/30/15 (v/v/v))
Fluoreszenzdetektion	Mit photochemischem Reaktor UVE
Anregungswellenlänge	365 nm
Emmissionswellenlänge	460 nm

Wiederfindungsraten

Aflatoxin	B1	B2	G1	G2
Standard*	100	100	100	100
Wiederfindungsraten** Sesam, 10 ppb	95	92	97	79

* Standard wurde gesetzt = 100% gesetzt

** Korrigiert mit nicht gespikter Probe / Die Ergebnisse stimmen mit den Performancevorgaben der EC 401 / 2006 (Abschnitt 4.3.1) überein.

Verwendete LCTech Produkte:

10514 / 11721	AflaCLEAN Immunoaffinitätssäulen für Aflatoxine B/G
12663 / 12668	FREESTYLE SPE, Robotiksystem für automatisierte Probenvorbereitung
10519	UVE Photochemischer Reaktor
10522	HPLC Trennsäule RP-C18

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