



Aflatoxine B/G und Ochratoxin A in Feigen

Aufgereinigt mit *Afla-OtaCLEAN*



Die Feige

Die „Echte Feige“ ist eine Pflanzenart aus der Familie der Maulbeergewächse. Sie zählt zu den ältesten domestizierten Nutzpflanzen der Erde. Schon vor ca. 3600 Jahren wurde die Pflanze von den Assyrern und den Ägyptern angebaut. Heutzutage konzentriert sich der kommerzielle Anbau von Feigen auf den Mittelmeerraum, findet jedoch auch im Iran, in den USA und in Brasilien statt.

Frische Feigen sind ein echtes „Superfood“ und waren schon in der Antike eine beliebte Frucht. Die Pflanze liefert neben Kalium, Kalzium, Magnesium und Eisen auch sehr viele Vitamine sowie verdauungsfördernde Enzyme und sättigende Ballaststoffe. Getrocknete Feigen sind aufgrund ihrer Süße und ihres Aromas beim Verbraucher beliebt, wie z. B. im Müsli. In Trockenobst und insbesondere in Trockenfeigen können durch falsche Lagerbedingungen und während des

Trocknungsprozesses Mykotoxine entstehen. Da diese für Mensch und Tier schädlich sein können, werden Feigen und andere Trockenfrüchte regelmäßig auf Toxine untersucht.

Zwei in einem - kombinierte Immunoaffinitätssäule *Afla-OtaCLEAN*

Aflatoxine B/G und Ochratoxin A sind die am stärksten regulierten Mykotoxine und werden von den Schimmelpilzen der Gattung *Aspergillus* und *Penicillium* gebildet. Sie finden sich oft gemeinsam in vielen Lebens- und Futtermitteln, wie z. B. auch in Feigen. Um die Extraktion zu erleichtern und die Arbeitszeit zu halbieren, bietet es sich an, die Extrakte in einem Arbeitsgang auf mehrere Mykotoxine zu untersuchen.

LC Tech hat dafür mit der kombinierten Immunoaffinitätssäule *Afla-OtaCLEAN*, welche zur Aufreinigung von Aflatoxin B1, B2, G1, G2 und Ochratoxin A entwickelt wurde, die beste Lösung. Die Säule ist sowohl für die manuelle Bearbeitung als auch für die automatisierte Aufreinigung z. B. mit dem FREESTYLE SPE Robotiksystem geeignet.



Bearbeitungsprotokoll

Homogenisieren Sie 10 g Feigen mit 1 g Natriumchlorid und extrahieren Sie durch 50 mL Methanol/Wasser (80/20(v/v)) und 25 mL n-Hexan zur Entfettung und Entfernung von Ölen. Führen Sie die Extraktion für mindestens 30 min. durch, um eine hohe Extraktionseffizienz zu erzielen.

Filtrieren Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie 10,5 mL von der n-Hexan freien Phase mit 64,5 mL PBS. Bei Ausfällungen filtrieren Sie die Probe durch einen Glasfaserfilter, um eine Koelution von Matrixkomponenten von der Säule zu verhindern.

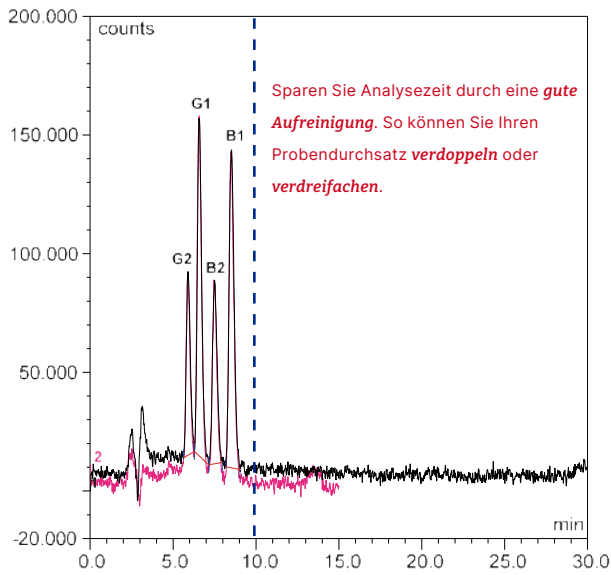
Laden Sie 50 mL der verdünnten Probe (entspricht 1,4 g) auf eine *Afla-OtaCLEAN* Immunoaffinitätssäule,

um das Aflatoxin B/G und das Ochratoxin A quantitativ zu binden. Waschen Sie die Säule mit 10 mL deionisiertem Wasser. Verwenden Sie die Waschlösung um das Vorlagengefäß und die *Afla-OtaCLEAN* Säule zu spülen. Eluieren Sie anschließend die Säule mit 2 mL Methanol. Achten Sie darauf, dass das Methanol 5 min. in das Säulenbett einwirkt, um eine vollständige Denaturierung der Antikörper zu gewährleisten.

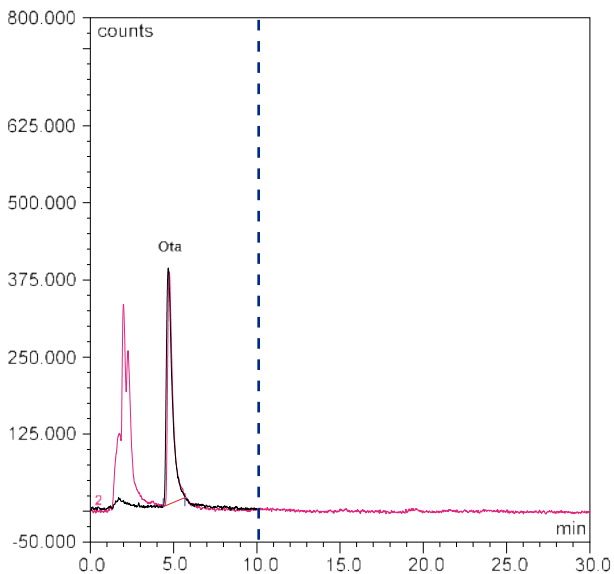
Vereinfachen Sie sich den Prozess des Ladens und des Waschens durch den Einsatz des EluVac Vakuum Manifolds. Bearbeiten Sie bis zu 20 Säulen mit individueller Säulenflussgeschwindigkeit.



Chromatogramme



Schwarz: Feigen, getrocknet 10 ppb, aufgereinigt mit Afla-OtaCLEAN
 Rot: Standard Aflatoxine 14 ng / 2 mL (entspricht 10 ppb)



Schwarz: Standard 14 ng/2 mL Ochratoxin A (entspricht 10 ppb)
 Rot: Feigen, 10 ppb aufgereinigt mit Afla-OtaCLEAN

Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

- 11022 / Afla-OtaCLEAN Immunoaffinitätssäulen
- 11771 für Aflatoxin B/G und Ochratoxin A
- 12663/ FREESTYLE SPE, Robotiksystem für
- 12668 automatisierte Probenvorbereitung
- 12415 EluVac Vakuum Manifold Set
- 10519 UVE Photochemischer Reaktor

Laufbedingungen

Aflatoxin B/G	
HPLC	isokratisch
Säulenofen	36 °C
Trennsäule	RP C-18 (P/N 10522)
Flussrate, Laufmittel	1,2 mL/min; HPLC-Wasser/Methanol/ Acetonitril (60/30/15 (v/v/v))
Fluoreszenzdetektion	Mit Derivatisierung (UVE/photochemisch)
Anregungswellenlänge	365 nm
Emissionswellenlänge	460 nm
Ochratoxin A	
HPLC	isokratisch
Säulenofen	40 °C
Trennsäule	RP EC 125/3 nucleosil 120-3 C18
Flussrate, Laufmittel	0,6 mL/min; HPLC-Wasser/Methanol/Acetonitril (40/55/5 (v/v/v) + 1 % Essigsäure)
Fluoreszenzdetektion	Ohne Derivatisierung
Anregungswellenlänge	335 nm
Emissionswellenlänge	465 nm

Wiederfindungen**

Aflatoxin	B1	B2	G1	G2
Standard*	100	100	100	100
Wiederfindungsraten** Feigen, 10 ppb	101	95	101	90
Mykotoxin	Ochratoxin A			
Standard*	100			
Wiederfindungsraten** Feigen, 10 ppb	98			

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

EluVac Vakuum Manifold
 mit Immunoaffinitätssäulen
 Afla-OtaCLEAN



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