

Aflatoxin M1 in Milch

Aufgereinigt mit *AflaCLEAN M1 SMART*



Übertragung von Aflatoxin vom Futtermittel in die Milch

Aufgrund der Kontamination von Futtermitteln durch Aflatoxine, vor allem Aflatoxin B1 kommt es immer wieder zu Übertragungen des Derivates Aflatoxin M1 in Milch und Milchprodukten, wie Käse, Joghurt und Speiseeis. Aufgrund der Toxizität sind entsprechend strenge Regularien für die maximal tolerierten Gehalte an Aflatoxin M1 festgesetzt worden (EC1881/2006).

Die einzuhaltenden Bestimmungsgrenzen können nur durch große Matrixmengen messtechnisch sichergestellt werden, aber es gibt Möglichkeiten, durch ein konsequentes Downscaling aller Prozesse, die Messempfindlichkeit zu erzielen, ohne Performanceverluste und dies mit geringerem Zeitaufwand.

Aufreinigung von Aflatoxin M1 in Milch als Lebensmittel

Klein + schnell + günstig = SMART

LC Tech hat die Immunoaffinitätssäule AflaCLEAN M1 SMART für die Probenvorbereitung innerhalb der Routineanalytik mittels HPLC mit Fluoreszenz-Detektion bzw. LC-MS entwickelt. Sie ist speziell ausgelegt für die Aufreinigung von Aflatoxin M1. Schneller als "Kühe melken" lässt sich die Probe auf Aflatoxin M1 untersuchen!

Vorteile auf einen Blick

- Hervorragende Wiederfindungen - auch bei schwierigen Matrices: Aflatoxin M1 >80 %
- Einsparung von 80 % Lösungsmittel durch Miniaturisierung
- Bei 4 - 8 °C gekühlt 9 Monate lang haltbar
- Nur 3 cm groß
- Geeignet für die automatisierte Bearbeitung

Bearbeitungsprotokoll

Die Milch wird auf Raumtemperatur erwärmt, anschließend wird diese bei 3500 xg für 10 Minuten zentrifugiert, um den Rahm abzutrennen. Nach der Zentrifugation wird der Rahm von der Milch vorsichtig aber vollständig abgeschöpft. Anschließend erfolgt eine Filtration durch einen Faltenfilter, um Feststoffe und Aggregate zu entfernen.

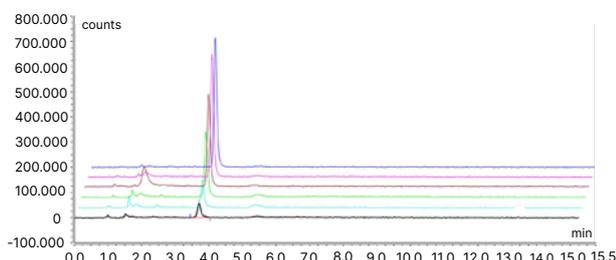
10 mL der filtrierten Milch werden mit 10 mL PBS-Puffer gemischt. Die Probe (repräsentiert 10 mL Milch) wird vollständig auf die Immunoaffinitätssäule AflaCLEAN M1 SMART geladen (Flussrate 1,5 mL min). Die geladene Säule

wird zweimal mit je 2 mL deionisiertem Wasser gespült, um die Milchproteine vollständig zu entfernen. Die Säule wird durch einen Luftstrom getrocknet und anschließend mit 400 µL Methanol eluiert.

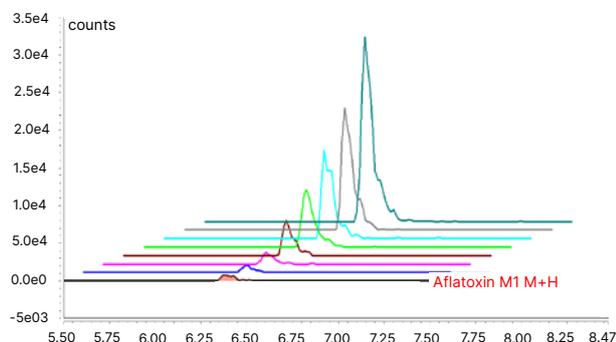
Hierbei ist zu beachten, dass das Methanol mindestens 5 Minuten in das Säulenbett einwirkt, um eine vollständige Elution zu gewährleisten. Die Proben werden klein volumig analytisch gemessen oder auf Laufmitteilverhältnisse angepasst gross volumig injiziert. Eine Analyse mittels HPLC-FLD oder LC-MS/MS ist möglich (siehe Chromatogramme).



Chromatogramme



Vergleich einiger Milchanalyseproben mit unterschiedlichen Aflatoxingehalten (HPLC-FLD)



Vergleich einiger Milchanalyseproben mit unterschiedlichen Aflatoxingehalten (LC-MS/MS)

Fazit

Die Analyse von Milchproben auf Aflatoxin M1 kann durch die Verwendung der AflaCLEAN M1 SMART gewährleistet werden und erlaubt eine sichere Bestimmung des Aflatoxins M1 Gehaltes über einen weiten Konzentrationsbereich. AflaCLEAN M1 SMART bietet durch konsequentes Downscaling eine Alternative zu großvolumigen Probenaufreinigungen.

So können Milchproben von unterhalb des Babynahrungsgrenzwertes, von aflatoxinfrei bis zu Kontaminationen um 1,5 ppb (30 x Überschreitung des gesetzlichen Grenzwertes), sicher, präzise und reproduzierbar in einem Bruchteil der Zeit (schneller als das „Kühe melken“) bestimmt werden. Das Aufreinigungsverfahren ist kompatibel mit Ihrer Messanalytik (HPLC-FLD oder LC-MS/MS).

Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

- 14246 AflaCLEAN M1 SMART (100 Stück/VE)
- 10522 HPLC-Säule für Mykotoxine

HPLC	isokratisch
Säulenofen	36 °C
Trennsäule	RP C-18 150mm ID 4,6mm P/N 10522
Flussrate, Laufmittel	1,2 mL/min (60/30/15 (v/v/v)) (HPLC-Wasser/Methanol/Acetonitril)
Fluoreszenzdetektion	Keine Nachsäulenderivatisierung nötig
Anregungswellenlänge	365 nm
Emmissionswellenlänge	435 nm
LC-MS/MS	gradient
Säulenofen	38 °C
Trennsäule	Accucore Biphenyl
Flussrate, Laufmittel	0,4 mL/min (Eluent A: 98 % HPLC-Wasser, 2 % Methanol, 1 % Essigsäure 96 %, 5 mm Ammoniumacetat; Eluent B 2 % HPLC-Wasser, 98 % Methanol, 1 % Essigsäure 96 %, 5 mm Ammoniumacetat)
MS-Parameter	H-ESI 3500V; Sheath gas 40 arb.; Aux Gas 10 arb.; Sweep Gas 0 arb.; Ion transfer tube temperature 325 °C; Vaporizer temperature 350 °C, Collision Gas 1,5 arb.
Aflatoxin M1 (M+H) m/z	Aflatoxin M1 (M+H) m/z 329/229 CE 41.7 V (RF lens 170 V) ; m/z 329/273.1 CE 24.5 V (RF lens 170 V)

Wiederfindungsraten**	
Analyt	Aflatoxin M1
Standard*	100
0,01 ppb	101
0,025 ppb	92
0,05 ppb	96
0,1 ppb	93
0,1 ppb	91
0,1 ppb	90
0,25 ppb	90
0,5 ppb	86
0,75 ppb	93
1,0 ppb	87
1,5 ppb	92

* Standard wurde = 100% gesetzt
 ** Korrigiert mit nicht gespikter Probe / Die Ergebnisse erfüllen die Leistungskriterien nach EC 406/2001, EC 519/2014 und den von der AOAC festgelegten Leistungskriterien für die Aflatoxin M1 Wiederfindung. Für die Ermittlung der Robustheit wurden für jeden Datenpunkt mehrere Säulen eingesetzt (n=3).
 Alle statistischen Fehler und Abweichungen der Resultate der Experimente lagen unter 4%.

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