



September 2017

Aflatoxine B/G und Ochratoxin A in Kichererbsen ~ manuell und automatisiert ~

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

Probenvorbereitung

MYKOTOXINE

Kichererbsen

Nicht nur ihr Name sorgt für gute Laune: Seit etwa 8000 Jahren werden die kleinen Nährstoffbomben gerne verzehrt, denn in ihnen stecken jede Menge Proteine, Mineralstoffe und Spurenelemente. Sie sind reich an B-Vitaminen und Ballaststoffen: Eine perfekte Wahl für alle Veganer, Gesundheits- und Figurbewusste. Kichererbsen zählen zu der Familie der Hülsenfrüchte und haben einen leicht nussigen Geschmack. Auch hierzulande kann die Kichererbse angebaut werden, sie gedeiht allerdings in trockenem und wärmerem Klima besser. Daher wird sie hauptsächlich aus anderen Ländern importiert.

Beim Import zeigen jedoch Grenzkontrollen der EU, dass europäische Grenzwerte nicht immer eingehalten werden. So führen zu hohe Aflatoxin und Ochratoxin A Werte immer wieder zu Zurückweisungen der Lebensmittel.

Zwei in einem: Aflatoxine B/G und Ochratoxin A

Immunoaffinitätssäulen für die Aufreinigung von Mykotoxinen



Aflatoxine B/G und Ochratoxin A sind oft kombiniert in Lebens- und Futtermitteln zu finden. Die Afla-OtaCLEAN Immunoaffinitätssäulen von LCTech erlauben es, parallel beide Mykotoxine auf einmal aufzureinigen. Die Funktionsweise der Säulen beruht auf dem Prinzip der Immunoaffinität. Das in den Afla-OtaCLEAN-Säulen befindliche Bettmaterial ist mit Antikörpern, die gegen die Aflatoxine B/G und gegen Ochratoxin A gerichtet sind, belegt. Wird nun ein Rohextrakt, der diese Mykotoxine enthält, über die Säule gegeben, so werden diese selektiv von den Antikörpern gebunden, während der Rest der Matrix in den Abfall gelangt. Nach einem Waschschrift können mittels Methanol die Aflatoxine und das Ochratoxin A quantitativ von der Säule eluiert und im Anschluss daran mittels HPLC gemessen werden.

Die Afla-OtaCLEAN Säulen sind sowohl für die manuelle als auch für die automatisierte Bearbeitung z. B. mit dem LCTech Robotiksystem FREESTYLE SPE geeignet. Neben den Immunoaffinitätssäulen bietet LCTech auch Säulen für andere SPE-Anwendungen an, so z. B. die DONeX Säulen für die Analytik von Deoxynivalenol, die BioteX Säulen für die Biotin/Vitamin B7-Analytik oder die Elufix Florisil Fertigsäulen aus Glas (gefüllt und ungefüllt) für die H53-Methode.

Protokoll zur manuellen Bearbeitung

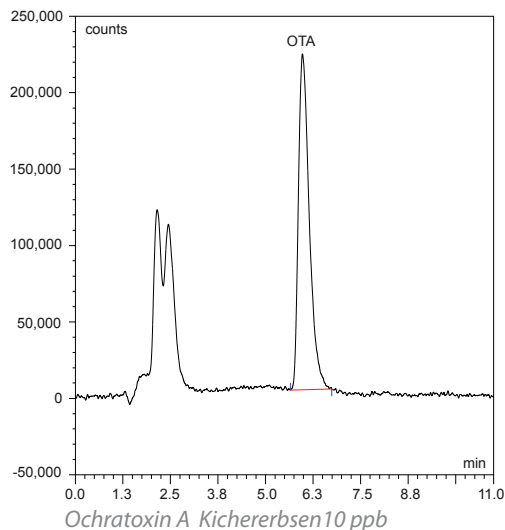
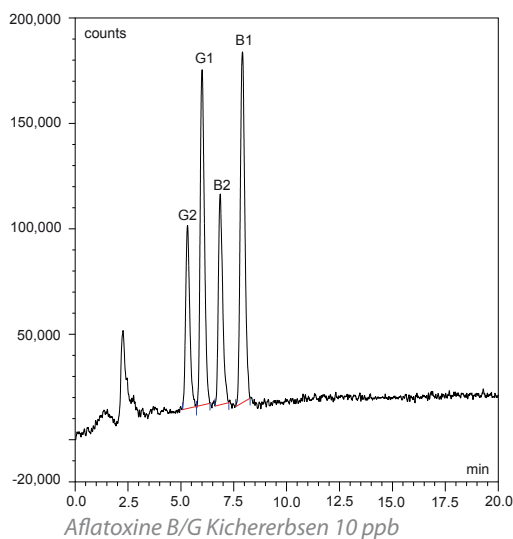
Versetzen Sie 10 g homogenisierte Kichererbsen mit 1 g Natriumchlorid und extrahieren Sie durch 50 mL Methanol/Wasser (80/20 (v/v)) und 25 mL n-Hexan, um Fette und Öle zu entfernen. Führen Sie die Extraktion mindestens 10 Minuten durch.

Filtern Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie 2 mL davon mit 12 mL PBS (enthält 8 % Tween). Laden Sie die Probe vollständig auf eine Immunoaffinitätssäule Afla-OtaCLEAN. Spülen Sie das Probengefäß anschließend mit 2 x 5 mL deionisiertem Wasser und laden Sie diese Spüllösung ebenfalls auf die Säule.

Trocknen Sie die Säule durch einen kurzen Luftstrom und eluieren Sie anschließend mittels 2 mL Methanol. Achten Sie dabei darauf, dass das Methanol in das Säulenbett einfließt und zur vollständigen Denaturierung der Antikörper 5 Minuten einwirkt.

Verdünnen Sie das Eluat auf Laufmittelverhältnisse und messen Sie es mittels HPLC mit Fluoreszenz-Detektion oder LC-MS.

Chromatogramme



HPLC-Laufbedingungen (Aflatoxin B/G / Ochratoxin A)

Mykotoxin:	Aflatoxin B/G	Ochratoxin A
HPLC:	isokratisch	isokratisch
Säulenofen:	36 °C	40 °C
Trennsäule:	RP C-18 (P/N 10544)	RP EC 125/3 nucleosil 120-3 C18
Flussrate:	1,2 mL/min	0,6 mL/min
Laufmittel:	HPLC-Wasser/ Methanol/Acetonitril (60/30/15 (v/v/v))	HPLC-Wasser/ Methanol/Acetonitril (40/55/5 (v/v/v)) + 1 % Essigsäure
Fluoreszenzdetektion:	Derivatisierung mit UVE Photochemischer Reaktor	ohne Derivatisierung
Anregungswellenlänge:	365 nm	335 nm
Emmissionswellenlänge:	460 nm	465 nm

Wiederfindungen

Gehalte an Aflatoxin B/G und Ochratoxin A in Kichererbsen

Aflatoxine B/G / Ochratoxin A	B1	B2	G1	G2	OTA
Standard*	100	100	100	100	100
Wiederfindungsraten** Kichererbsen, 10 ppb	92	95	90	86	93

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

Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

Afla-OtaCLEAN, Immunoaffinitätssäule
für Aflatoxine B/G und Ochratoxin A
P/N 11022 / 11771

HPLC Trennsäule RP C-18
P/N 10544

UVE, Photochemischer Reaktor
P/N 10519

FREESTYLE SPE, Robotiksystem
für die automatisierte Probenvorbereitung
P/N 12663 / 12668