



September 2018

Ochratoxin A in Ras el Hanout (Gewürzmischung) ~ 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

Ras el Hanout

Die Gewürzmischung aus Nordafrika besteht aus vielen unterschiedlichen Zutaten. Je nach Herstellung finden sich darin etwa 25 verschiedene Gewürze, darunter z. B. Muskatnüsse, Zimt, Kurkuma, Inwer oder Anis. So kann die Mischung sowohl süße, als auch scharfe und bittere Aromen enthalten. Mit seinem typisch orientalischen Geschmack eignet sich Ras el Hanout für Gerichte mit Couscous, Reis oder Hirse, aber auch zum Würzen von Fleisch, Fisch und Dips aus Frischkäse und Joghurt.

Die Aromen bleiben am besten erhalten, wenn die Gewürzmischung kühl, trocken und vor Licht geschützt gelagert werden. Bei falscher, sprich, einer zu feuchten Lagerung können unversehens Schimmelpilze entstehen, die wie hier im Fall unserer September Matrix Ochratoxin A, bilden. Doch auch in den Vorprodukten von Ras el Hanout können diese Toxine bereits enthalten sein und diese Kontamination zu erkennen, ist für den Verbraucher nahezu unmöglich.

Ochratoxin A in Lebens- und Futtermitteln

Der Verzehr von mit Schimmelpilzen kontaminierten Lebens- und Futtermitteln kann zu ernsthaften gesundheitlichen Schäden bei Mensch und Tier führen. Die Gesetzgebung hat daher maximal zulässige Höchstgehalte für Mykotoxine festgelegt. Überschreiten Nahrungsmittel diese Höchstgehalte, dürfen sie nicht importiert werden.

LCTech bietet eine umfassende Produktpalette rund um das Thema Probenvorbereitung mit dem Ziel, durch praktische und kostengünstige Verbrauchsmaterialien sowie mit automatisierten Systemen Ihren Arbeitsalltag im Labor maßgeblich zu erleichtern.

Speziell für die Aufreinigung von Ochratoxin A in Lebens- und Futtermitteln bietet LCTech mit den Immunoaffinitätssäulen OtaCLEAN in Kombination mit dem automatisierten Robotiksystem FREESTYLE SPE die ideale Lösung. 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 Mausklicken die Methode und starten Sie das System - fertig.

Lesen Sie mehr dazu unter: www.LCTech.de



Vorbereitende Bearbeitungsschritte

Homogenisieren Sie 10 g Ras el Hanout, extrahieren Sie es durch 100 mL Methanol/Wasser (80/20 (v/v)) und fügen Sie der Mischung 50 mL n-Hexan hinzu, um Fette und ätherische Öle zu entfernen. Führen Sie die Extraktion für 20 - 30 Minuten durch. Filtrieren Sie den Rohextrakt anschließend durch einen Faltenfilter, um mögliche Präzipitationen zu entfernen.

Zentrifugieren Sie das Filtrat bei 3000 x g um eine Phasentrennung zwischen der n-Hexan und der methanolischen Phase herbeizuführen. Verwenden Sie die methanolische (untere) Phase für die nachfolgende manuelle Bearbeitung.

Manuelle Bearbeitung

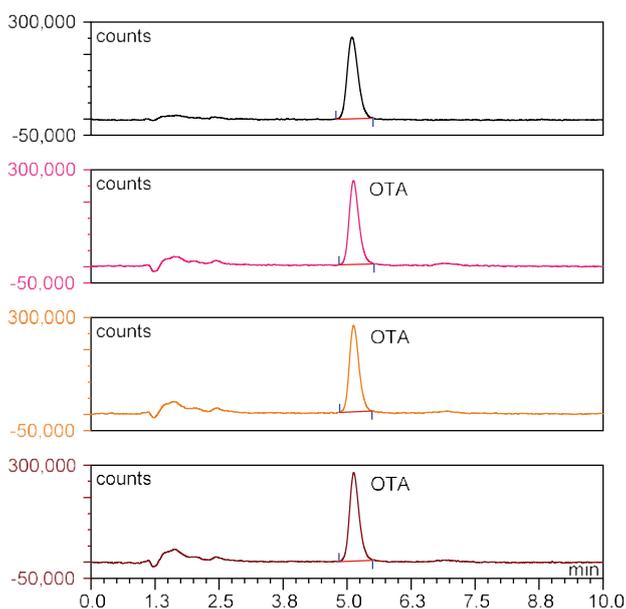
Verdünnen Sie 2 mL Probe mit 12 mL PBS (8% Tween). Laden Sie 14 mL der Probe (entspricht 0,2 g Matrix) auf eine Immunoaffinitätssäule OtaCLEAN. Spülen Sie das Vorlagengefäß mit 2 x 5 mL deionisiertem Wasser und laden Sie die Spüllösung ebenfalls auf die Säule.

Trocknen Sie die Säule durch einen kurzen Luftstrom und eluieren Sie anschließend mit 2 mL Methanol. Achten Sie darauf, dass das Methanol zur vollständigen Denaturierung der Antikörper und Freigabe des Toxins 5 Minuten im Säulenbett einwirkt.

Verdünnen Sie das Eluat auf die Laufmittelverhältnisse und analysieren Sie es anschließend mittels Fluoreszenz

Chromatogramme

Um die Reproduzierbarkeit aufzuzeigen wurden 3 Extrakte aufgereinigt und chromatographisch untersucht:



Schwarz = Standard 2 ng / 2 mL (10 ppb)

Pink, Orange, Braun = 3 manuell aufgereinigte Proben (10 ppb)

HPLC-Laufbedingungen (Ochratoxin A)

Mykotoxin:	Ochratoxin A
HPLC:	isokratisch
Säulenofen:	40 °C
Trennsäule:	RP EC 125/3 nucleosil 120-3 C18
Flussrate:	0,6 mL/min
Laufmittel:	HPLC-Wasser/Methanol/ Acetonitril (40/55/5 (v/v/v)) + 1 % Essigsäure
Fluoreszenzdetektion:	ohne Derivatisierung
Anregungswellenlänge:	335 nm
Emmissionswellenlänge:	465 nm

Wiederfindungen

Gehalte an Ochratoxin A in Ras el Hanout

Ochratoxin A	OTA
Standard*	100
Wiederfindungsraten** Ras el Hanout, 10 ppb	92

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



Immunoaffinitätssäulen OtaCLEAN

Diese LC Tech Produkte kamen zum Einsatz:

OtaCLEAN,
Immunoaffinitätssäulen für Ochratoxin A
P/N 10515 / 11535

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