



November 2018

## Ochratoxin A in Kaffee ~ 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](mailto:mycotoxins@LCTech.de)

### Probenvorbereitung

### MYKOTOXINE

#### Für den perfekten Start in den Tag

Ein Start in den Tag ohne eine Tasse Kaffee? - Für die meisten Deutschen unvorstellbar. Besonders in der kalten Jahreszeit, wenn es draußen frostig und grau ist, sorgen die Wärme und das im Kaffee enthaltene Koffein dafür, dass die gute Laune wiederkehrt.

Wird Kaffee in Maßen getrunken, hat er sogar überaus positive Wirkungen auf den Menschen. Er kurbelt den Stoffwechsel an, hilft gegen Kopfschmerzen und steigert sogar die Gehirndurchblutung. So sind wir nach einer Tasse Kaffee wieder aufmerksamer und konzentrierter als davor.

#### Ochratoxin A automatisiert aufreinigen mit FREESTYLE SPE

Damit die Qualität von Kaffee auch weiterhin so gut ist, unterstützt LCTech weltweit Laboratorien im Bereich der Probenaufreinigung von Lebens- und Futtermitteln. Speziell für die Aufreinigung von Ochratoxin A bieten wir die Immunoaffinitätssäulen OtaCLEAN, die sowohl für die manuelle als auch für die automatisierte Bearbeitung geeignet sind.

In Kombination mit dem LCTech Robotiksystem FREESTYLE SPE können Sie Ihre täglichen Routineaufgaben im Labor automatisiert und rund um die Uhr zuverlässig abarbeiten lassen - sogar am Wochenende. So bleibt Ihnen mehr Zeit für andere wichtige Tätigkeiten im Labor.

Für die automatisierte Aufreinigung von Ochratoxin A in Kaffee, extrahieren, filtrieren und verdünnen Sie den Kaffee entsprechend der Angaben des Bearbeitungsprotokolls der nachfolgenden Seite. Stellen Sie anschließend die Proben in das FREESTYLE SPE, bestücken Sie die Racks mit den OtaCLEAN Immunoaffinitätssäulen, wählen Sie die Methode in der Software aus und starten Sie das System - fertig.



## Bearbeitungsprotokoll

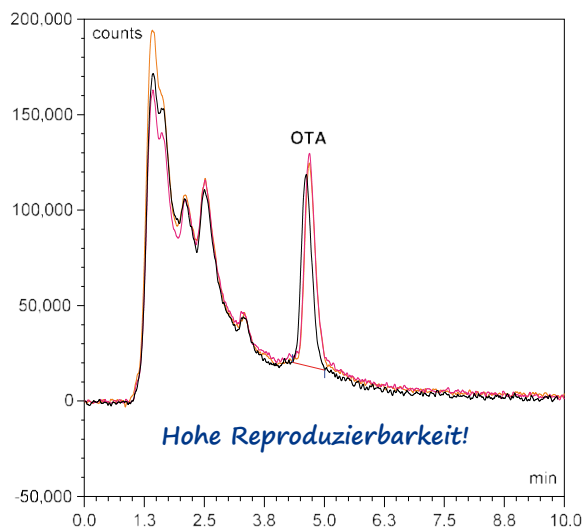
Homogenisieren Sie 10 g Kaffee und geben Sie 1 g Natriumchlorid hinzu. Extrahieren Sie die Mischung durch 50 mL Methanol/Wasser (80/20 (v/v)) und fügen Sie 25 mL n-Hexan hinzu, um Fette und ätherische Öle zu entfernen. Für die Erzielung besonders hoher Extraktionseffizienzen führen Sie die Extraktion für mindestens 10 Minuten durch.

Filtern Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie 2 mL davon mit 12 mL PBS (enthält 8 % Tween20). Laden Sie die Probe (0,4 g Matrix) auf eine OtaCLEAN Immunoaffinitätsäule und waschen Sie die Säule anschließend mit 10 mL deionisiertem Wasser. Trocknen Sie die Säule durch einen kurzen Luftstrom.

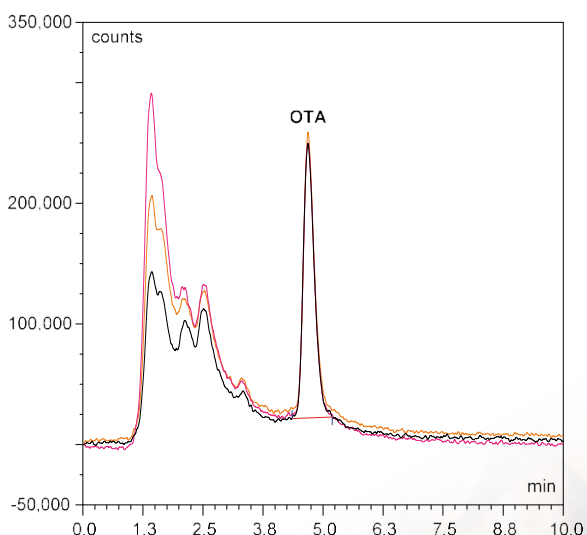
Eluieren Sie das Toxin mit 2 mL Methanol von der Säule. Achten Sie darauf, dass das Methanol 5 Minuten in das Säulenbett einwirkt, um eine vollständige Denaturierung der Antikörper und somit die Freisetzung des Toxins zu gewährleisten.

Verdünnen Sie das Eluat auf die Laufmittelverhältnisse und analysieren Sie es anschließend mittels HPLC-Fluoreszenz oder LC-MS.

## Chromatogramme



Kaffee 2 ppb, aufgereinigt mit 3 OtaCLEAN Säulen, die die Farben Schwarz, Orange und Rot darstellen.



Kaffee 5 ppb, aufgereinigt mit 3 OtaCLEAN Säulen, die die Farben Schwarz, Orange und Rot darstellen.

## HPLC-Laufbedingungen

(Ochratoxin A)

Mykotoxin:	Ochratoxin A
HPLC:	isokratisch
Säulenofen:	40 °C
Trennsäule:	RP C-18 (P/N 10522)
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

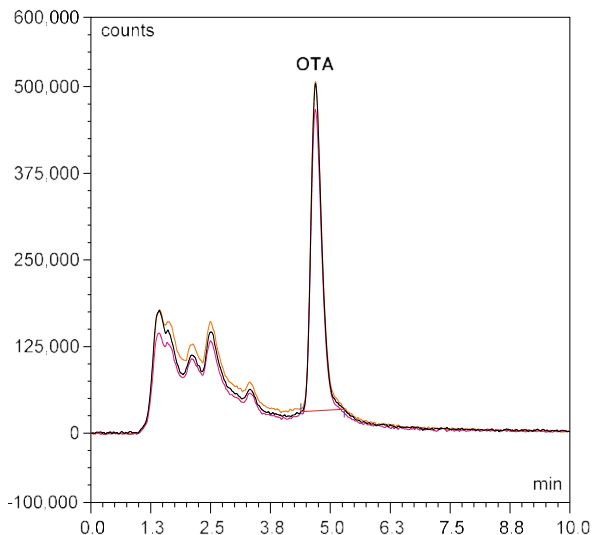
## Wiederfindungen

Gehalte an Ochratoxin A in Kaffee

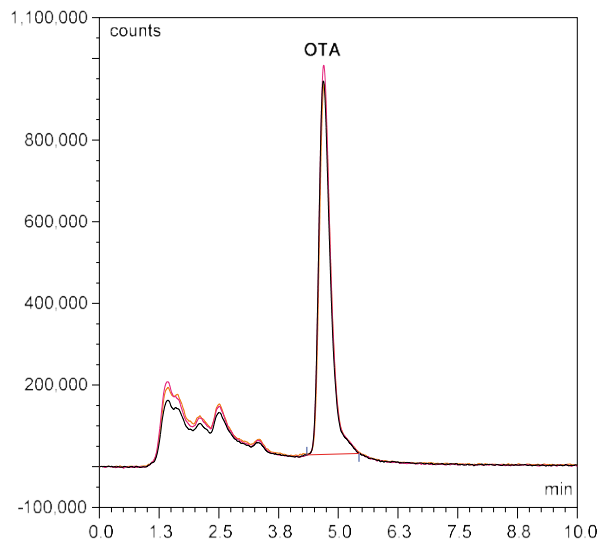
Mykotoxin	Ochratoxin A
Standard*	100
Wiederfindungsrate** Kaffee, 2 ppb	92 (+/-2)
Wiederfindungsrate** Kaffee, 5 ppb	92 (+/-0)
Wiederfindungsrate** Kaffee, 10 ppb	95 (+/-1)
Wiederfindungsrate** Kaffee, 20 ppb	98 (+/-1)

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

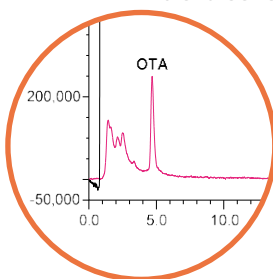
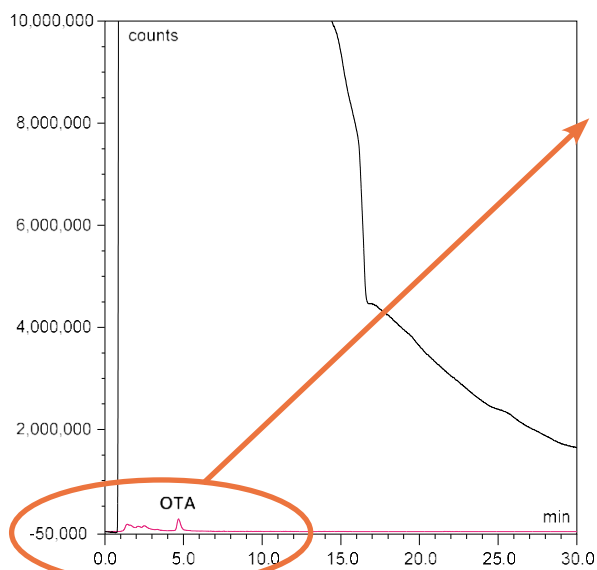
## Weitere Chromatogramme



Kaffee 10 ppb, aufgereinigt mit 3 OtaCLEAN Säulen, die die Farben Schwarz, Orange und Rot darstellen.



Kaffee 20 ppb, aufgereinigt mit 3 OtaCLEAN Säulen, die die Farben Schwarz, Orange und Rot darstellen.



Die Probe ist so rein, dass ohne Störsignale eine Chromatografie in nur 10 Minuten möglich ist.

Schwarz: Kaffee 5 ppb, unaufgereinigt;  
Rot: Kaffee 5 ppb, aufgereinigt mit einer OtaCLEAN Säule

## Fazit

Die Chromatogramme zeigen, dass Kaffee unter Verwendung von OtaCLEAN mit hervorragenden Ergebnissen und hohen Wiederfindungsraten aufgereinigt werden kann.

Die Überlagerung der mit jeweils 3 Immunoaffinitäts-säulen OtaCLEAN aufgereinigten Probe veranschaulicht die sehr hohe Reproduzierbarkeit, die selbst mit solchen schwierigen Proben erzielt werden kann.

Die Abreicherung von Matrixkomponenten zeigt die Selektivität und Effizienz der OtaCLEAN Säulen, die eine hohe Messempfindlichkeit ermöglichen.



### Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

OtaCLEAN Immunoaffinitätssäulen für Ochratoxin A  
P/N 10515 / 11535

HPLC Trennsäule RP C-18  
P/N 10522

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