



Dezember 2018

Aflatoxin B/G und Ochratoxin A in Ingwer und Anis ~ 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

Die Gewürze der Weihnachtszeit

Der Duft nach Weihnachten verbreitet sich überall. Die Weihnachtsmärkte sind geöffnet und locken mit Glühwein, Plätzchen und anderen Leckereien. Ingwer, Zimt, Anis und Nelken gehören dabei mit zu den beliebtesten Weihnachtsgewürzen.

Doch Gewürze sind insbesondere bei unsachgemäßer Verarbeitung häufig anfällig für die Bildung von Mykotoxinen wie Aflatoxin B/G und Ochratoxin A. Aus diesem Grund sind die Höchstgehalte an Mykotoxinen gesetzlich sehr streng reguliert. In den Gewürzen enthaltene Farbstoffe, ätherische Öle oder andere Matrixstörungen machen eine Untersuchung jedoch oft zu einer Herausforderung.

Aufreinigung von Aflatoxinen B/G und Ochratoxin A

Aflatoxine und Ochratoxin A finden sich oft gemeinsam in Gewürzen. Um die Arbeit zu erleichtern und die Arbeitszeit zu halbieren, hat LCTech neben der AflaCLEAN und OtaCLEAN Säule, die kombinierte Immunoaffinitätssäule Afla-OtaCLAN zur Aufreinigung von Aflatoxin B1, B2, G1, G2 und Ochratoxin A entwickelt.

Die Säulen sind im praktischen 3 mL Polypropylen-Format erhältlich, automatisiert zu bearbeiten (z. B. mit dem LCTech Robotiksystem FREESTYLE SPE) und 18 Monate ab Herstellungsdatum bei Raumtemperatur haltbar.

Die chromatographischen Ergebnisse sind hervorragend, ohne störende Begleitsignale und mit sehr hohen Wiederfindungen, selbst bei schwierigen Proben, wie Gewürze. Überzeugen Sie sich selbst auf den nachfolgenden Seiten. Mithilfe der Immunoaffinitätssäulen AlfaCLEAN, OtaCLEAN und Afla-OtaCLEAN haben wir die Säulenperformance sowie die Wiederfindungsraten von Aflatoxin B/G und Ochratoxin A in Ingwer und Anis genauer unter die Lupe genommen.



Bearbeitungsprotokoll

Homogenisieren Sie 10 g Ingwer oder Anis und versetzen Sie die Probe mit 2 g Natriumchlorid. Extrahieren Sie die Mischung durch 100 mL Methanol/Wasser (80/20 (v/v)) und 50 mL n-Hexan, um Fette und ätherische Öle zu entfernen. Für die Erzielung hoher Extraktionseffizienzen, führen Sie die Extraktion für 30 Minuten durch.

Filtern Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie 2 mL davon mit 12 mL PBS (enthält 8 % Tween20). Laden Sie 14 mL der Probe (entspricht 0,2 g Matrix) auf die jeweilige Immunoaffinitätssäule Afla-OtaCLEAN, AflaCLEAN oder OtaCLEAN. Waschen Sie die Säule jeweils mit 10 mL deionisiertem Wasser und trocknen Sie sie anschließend mit einem 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 Laufmittelverhältnisse und messen Sie es mittels HPLC mit Fluoreszenz-Detektion oder LC-MS.

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 10522)	RP C-18 (P/N 10522)
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
Fluoreszenz- detektion:	Derivatisierung mit UVE Photochemi- scher Reaktor	Ohne Derivatisierung
Anregungs- wellenlänge:	365 nm	335 nm
Emmissions- wellenlänge:	460 nm	465 nm

Wiederfindungen

Gehalte an Ochratoxin A in Ingwer und Anis

Mykotoxin	Ochratoxin A
Standard*	100
Wiederfindungsraten** Ingwer, 20 ppb (Afla-OtaCLEAN)	95
Wiederfindungsraten** Ingwer, 20 ppb (OtaCLEAN)	95
Wiederfindungsraten** Anis, 20 ppb (Afla-OtaCLEAN)	91
Wiederfindungsraten** Anis, 20 ppb (OtaCLEAN)	91

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

Wiederfindungen

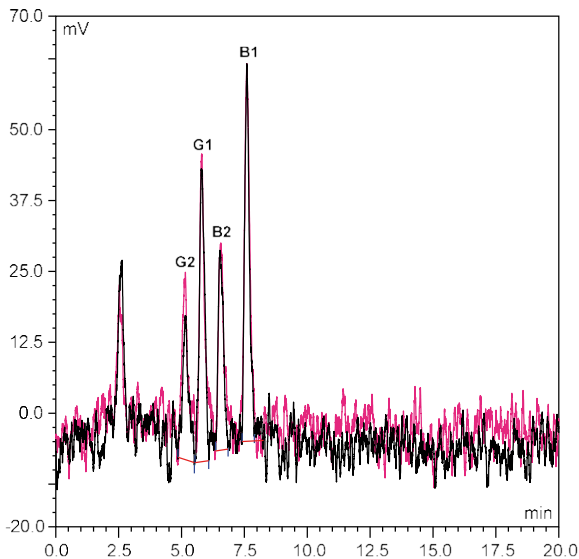
Gehalte an Aflatoxin B/G in Ingwer und Anis

Aflatoxin	B1	B2	G1	G2
Standard*	100	100	100	100
Wiederfindungsraten** Ingwer, 20 ppb (Afla-OtaCLEAN)	107	107	92	100
Wiederfindungsraten** Ingwer, 20 ppb (OtaCLEAN)	104	88	89	93
Wiederfindungsraten** Anis, 20 ppb (Afla-OtaCLEAN)	92	98	90	95
Wiederfindungsraten** Anis, 20 ppb (OtaCLEAN)	89	84	94	89

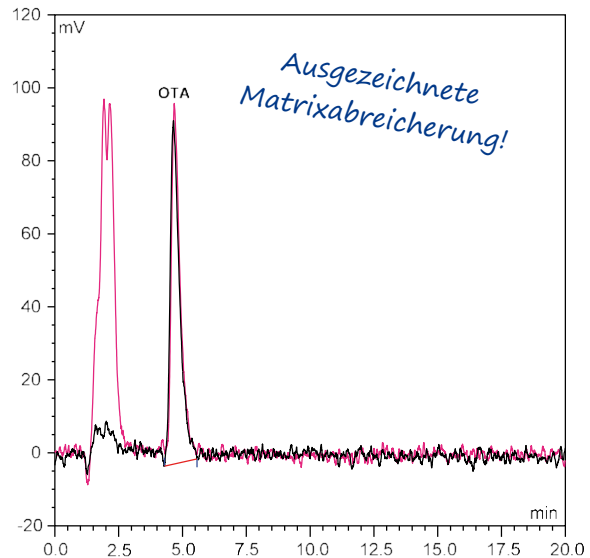
*Standard wurde 100% gesetzt, **korrigiert mit nicht gespikter Probe
Die Ergebnisse stimmen mit den Performancevorgaben der EC 401/2006 überein (Abs. 4.3.1)



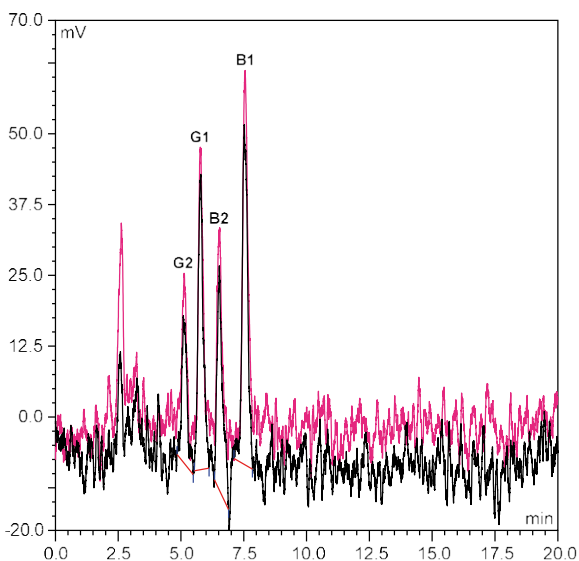
Chromatogramme



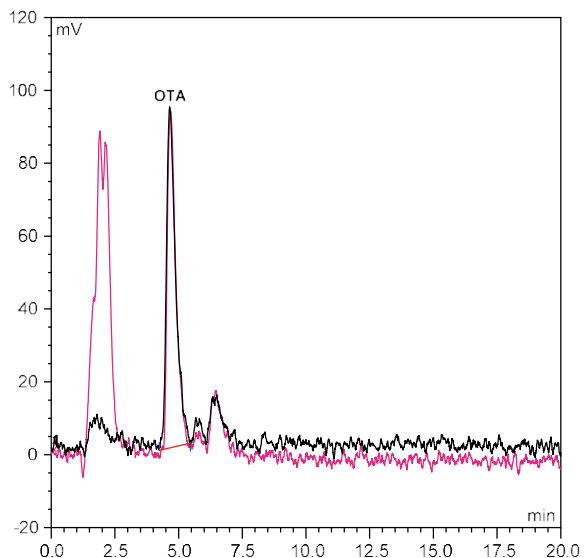
Rot: 20 ppb Ingwer aufgereinigt mit Afla-OtaCLEAN
Schwarz: 20 ppb Ingwer aufgereinigt mit AflaCLEAN



Rot: 20 ppb Ingwer aufgereinigt mit Afla-OtaCLEAN
Schwarz: 20 ppb Ingwer aufgereinigt mit OtaCLEAN



Rot: 20 ppb Anis aufgereinigt mit Afla-OtaCLEAN
Schwarz: 20 ppb Anis aufgereinigt mit AflaCLEAN



Rot: 20 ppb Anis aufgereinigt mit Afla-OtaCLEAN
Schwarz: 20 ppb Anis aufgereinigt mit OtaCLEAN

Fazit zu den kombinierten Afla-OtaCLEAN Säulen

Selbst im hochkontaminierten Bereich ermöglichen die Afla-OtaCLEAN Immunoaffinitätssäulen die kombinierte Analytik beider Toxingruppen wodurch nicht nur Zeit sondern auch Geld eingespart wird.

Die Überlagerungen der Chromatogramme zeigen auf, dass sowohl mit den Einzelsäulen AflaCLEAN und OtaCLEAN als auch mit der kombinierten Afla-OtaCLEAN vergleichbar gute Ergebnisse erzielt werden.

Innerhalb der hier dargestellten 20 Minuten sind keine Störpeaks zu sehen. Die Chromatographiezeit kann somit auf herausragende 10 Minuten reduziert werden, womit sich der Probendurchsatz erhöht.

Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

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

AflaCLEAN Immunoaffinitätssäulen für Aflatoxine B/G
P/N 10514 / 11721

OtaCLEAN Immunoaffinitätssäulen für Ochratoxin A
P/N 10515 / 11535

HPLC Trennsäule RP C-18
P/N 10522

UVE Photochemischer Reaktor
P/N 10519