



Juni 2019

## Ochratoxin A in Palmkernmehl ~ 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

#### Palmkernmehl

Palmöl ist weltweit ein wichtiger Rohstoff in der Lebensmittelindustrie und für die Erzeugung von Energie. Das Öl wird aus dem Fruchtfleisch der Palmölfrucht gewonnen. Neben dem Palmöl kann aus der Frucht auch das weniger bekannte Palmkernöl hergestellt werden, welches wie der Name schon sagt, aus dem Kern der Steinfrucht gewonnen wird.

Während des Extraktionsprozesse von Palmkernöl entsteht das Hauptnebenprodukt Palmkernmehl. Das Mehl wird hauptsächlich Tierfuttermittel hinzugefügt, da es reich an Proteinen und Fasern ist. Vor allem findet man Palmkernmehl in Futtermittel für Wiederkäuer, Kaninchen und Geflügel.

Während des Trocknungsprozesses oder bei falscher Lagerung von Palmkernmehl können Mykotoxine entstehen. Eine zu hohe Mykotoxinkontamination in Futtermittel kann in der Viehzucht hohe ökonomische Einbußen zur Folge haben, da sie sich stark auf die Tiergesundheit auswirkt.

#### Ochratoxin A in Lebens- und Futtermitteln

Ochratoxin A ist ein natürlich vorkommendes Mykotoxin, das von Schimmelpilzen der Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* als Primärkontamination gebildet wird.

Der Verzehr von mit Schimmelpilzen kontaminierten Lebens- und Futtermittel kann zu ernsthaften gesundheitlichen Schäden bei Mensch und Tier führen. EU-weit ist ein maximal zulässiger Höchstgehalt für Mykotoxine festgelegt. Bei der Überschreitung des Höchstgehalts darf das Lebensmittel bzw. Futtermittel nicht importiert werden.

LC Tech hat speziell für die Aufreinigung von Ochratoxin A in Lebens- sowie Futtermitteln die Immunoaffinitätssäulen OtaCLEAN entwickelt. Diese erzielt selbst bei schwierigen Matrices sehr gute Wiederfindungsraten.

Sie weist außerdem eine hohe Matrixtoleranz auf und ist in der Lage Ochratoxin A hochspezifisch zu binden. Sie ist sowohl zur manuellen als auch zur automatisierten Bearbeitung geeignet.



Immunoaffinitätssäulen OtaCLEAN

## Bearbeitungsprotokoll

Homogenisieren Sie 20 g Palmkernmehl 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.

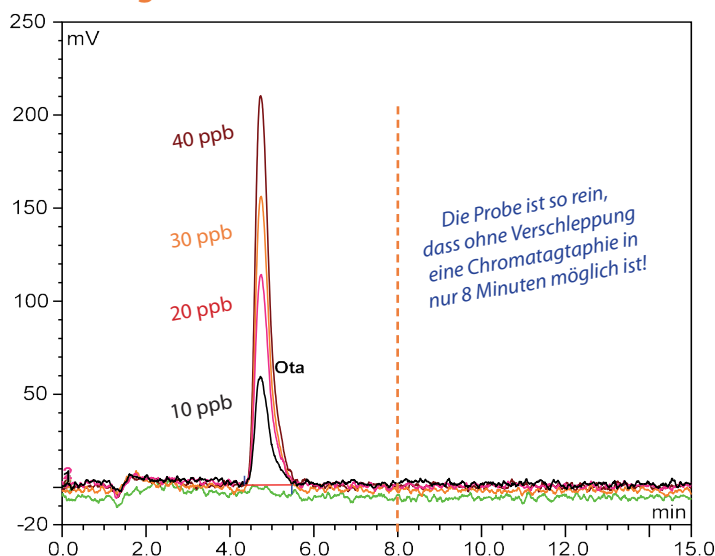
Für die Erzielung hoher Extraktionseffizienz, führen Sie die Extraktion mindestens 10 Minuten durch.

Filtern Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie 2 mL der n-Hexan freien, methanolischen Phase mit 12 mL PBS (enthält 8 % Tween20). Laden Sie anschließend 14 mL der Probe (0,4 g Matrix) auf die Immunoaffinitätsäule OtaCLEAN. Waschen Sie die Säule mit 10 mL deionisiertem Wasser, um die Detergenzreste effizient zu entfernen. Geben Sie die Waschlösung portioniert auf die Säule.

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

Am Ende verdünnen sie das Eluat auf das Laufverhältnis der HPLC, um die Probe zu injizieren.

## Chromatogramm



Grün = Palmkernmehl nicht gespikt  
Schwarz = Palmkernmehl 10 ppb, gespikt  
Rot = Palmkernmehl 20 ppb, gespikt  
Orange = Palmkernmehl 30 ppb, gespikt  
Braun = Palmkernmehl 40 ppb, gespikt

## Fazit:

Das Chromatogramm zeigt eine basisliniengetrennte Chromatographie innerhalb von weniger als 8 Minuten ohne Matrixinterferenzen. Damit ist die Probe so rein, dass eine eindeutige und schnelle Analytik ohne wesentliche Beeinträchtigungen möglich ist. Die hohe Reproduzierbarkeit und die hohe Toxintoleranz zeigt die Eignung der OtaCLEAN Säule für die Lebens- und Futtermittelanalytik

## 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 Palmkernmehl

Mykotoxin:	Ochratoxin A
Standard*	100
Wiederfindungsraten** Palmkernmehl, 10 ppb	86
Wiederfindungsraten** Palmkernmehl, 20 ppb	89
Wiederfindungsraten** Palmkernmehl, 30 ppb	80
Wiederfindungsraten** Palmkernmehl, 40 ppb	83

\*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:

OtaCLEAN  
Immunoaffinitätsäulen 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