



September 2019

Aflatoxine B/G und Ochratoxin A in Kreuzkümmel ~ 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

Kreuzkümmel

Kreuzkümmel – ein Wunderkraut?! Der Kreuzkümmel oder auch Cumin genannt, ist vor allem in den Ländern China, Indien und Südamerika verbreitet. Er unterscheidet sich durch seinen intensiveren Geschmack vom Kümmel, der meist in den europäischen Ländern zum Kochen verwendet wird. Beide Arten wachsen an parallel verlaufenden Zweigen des Doldenblütlers. Den Namen trägt der Kreuzkümmel deshalb, da er zur Familie der Kreuzblütler gehört und die Blätter eine gekreuzte Form besitzen.

Aufgrund des hohen Anteils an ätherischen Ölen, ist Cumin geschmacksintensiver. Die ätherischen Öle helfen zudem, die Verdauung zu verbessern und lösen eine wachstumshemmende Wirkung auf Bakterien und Pilze aus. Um unbedenkliche Speisen zu verdauen, war es früher oft üblich, nach einer schweren, fettreichen Mahlzeit, Kümmel mit etwas Zucker zu sich zu nehmen.

Um den Kreuzkümmel haltbar zu machen, wird er in getrockneter Form aus den Anbaugeländern nach Europa importiert. Bei diesem Trocknungsprozess oder bei falschen Lagerbedingungen können sich Mykotoxine bilden, welche die Qualität des Gewürzes reduzieren und gesundheitliche Schäden für den Menschen hervorrufen können. Aus diesem Grund gibt es EU-weit strenge Kontrollen bei der Einfuhr aus Drittländern.

Immunoaffinitätssäulen Afla-OtaCLEAN für die Aufreinigung von Mykotoxinen

Aufreinigung von schwierigen Matrices, wie Kaffee oder Gewürze bereiten im Laboralltag viele Herausforderungen und kosten viel Zeit. Um diese Arbeitsschritte zu erleichtern, entwickelte LCTech die Immunoaffinitätssäule Alfa-OtaCLEAN. Mit der kombinierten Säule können Sie Aflatoxine B/G und Ochratoxine A gleichzeitig in allen Matrices, wie auch Kreuzkümmel, schnell und mit guten Wiederfindungsraten aufreinigen.

Im Lebensmittel- und Futtermittelbereich findet man die Mykotoxine Aflatoxin B/G und Ochratoxin A oft kombiniert. Mit der Afla-OtaCLEAN Säule können Sie beide Mykotoxine in nur einem Arbeitsschritt aufreinigen. Damit sparen Sie die Hälfte der Zeit und zugleich auch noch Geld.

... und wie Sie Ihre manuellen Methoden schnell und einfach auf Automation übertragen können, erfahren Sie unter www.LCTech.de



Immunoaffinitätssäulen
Afla-OtaCLEAN

Bearbeitungsprotokoll

Homogenisieren Sie 10 g Kreuzkümmel 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 besserer Extraktionseffizienzen, führen Sie die Extraktion mindestens 20 Minuten durch. Zentrifugation kann Ihnen helfen, die obere n-Hexan Phase von der unteren methanolischen Phase zu trennen. Filtrieren Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie im Anschluss 2 mL des Filtrats mit 12 mL PBS (enthält 8 % Tween20). Im nächsten Schritt laden Sie die Probe (entspricht 0,2 g Matrix) auf eine Immunoaffinitätssäule Alfa-OtaCLEAN.

Waschen Sie die Säule mit 10 mL deionisiertem Wasser. Anschließend trocknen Sie die Säule mit einem kurzen Luftstrom und eluieren Sie mit 2 mL Methanol. Achten Sie darauf, dass das Methanol 5 Minuten in das Säulenbett einwirkt, um eine vollständige Denaturierung und Freisetzung der Antikörper zu gewährleisten.

HPLC-Laufbedingungen (Aflatoxin B/G)

Mykotoxin	Aflatoxin B/G
HPLC:	isokratisch
Säulenofen:	36 °C
Trennsäule:	RP C-18 (P/N 10522)
Flussrate:	1,2 mL/min
Laufmittel:	HPLC-Wasser/ Methanol/Acetonitril (60/30/15 (v/v/v))
Fluoreszenzdetektion:	Mit Derivatisierung mit UVE Photochemischer Reaktor
Anregungswellenlänge:	365 nm
Emmissionswellenlänge:	460 nm

HPLC-Laufbedingungen (Ochratoxin A)

Mykotoxin	Ochratoxin A
HPLC:	isokratisch
Säulenofen:	40 °C
Trennsäule:	RP EC125/3 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

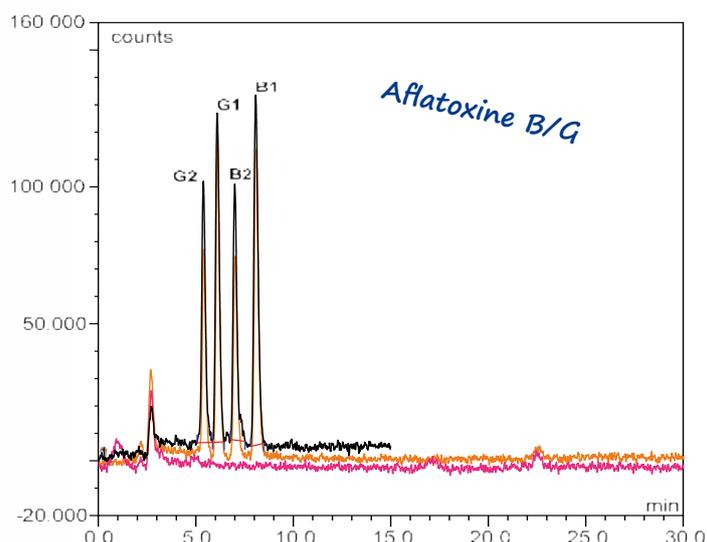
Wiederfindungen

Gehalt an Aflatoxin B/G und Ochratoxin A in Kreuzkümmel

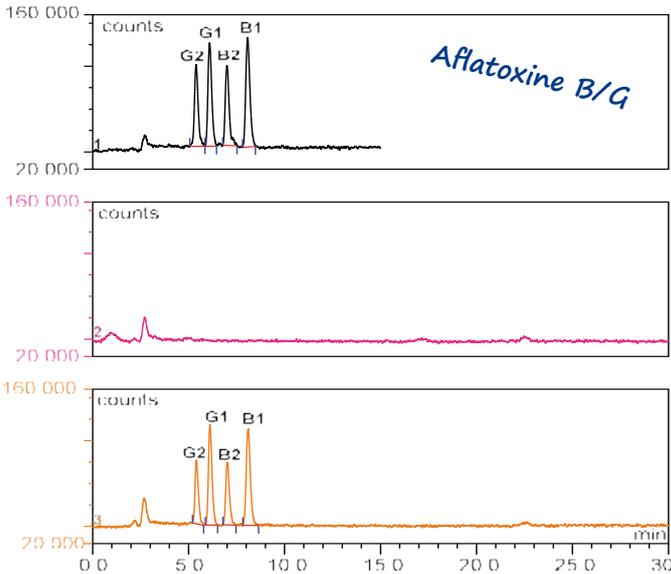
Mykotoxine	B1	B2	G1	G2	OTA	Σ
Standard*	100	100	100	100	100	100
Wiederfindungs- raten** Kumin, 20 ppb (Afla-OtaCLEAN)	83	79	88	72	83	81

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

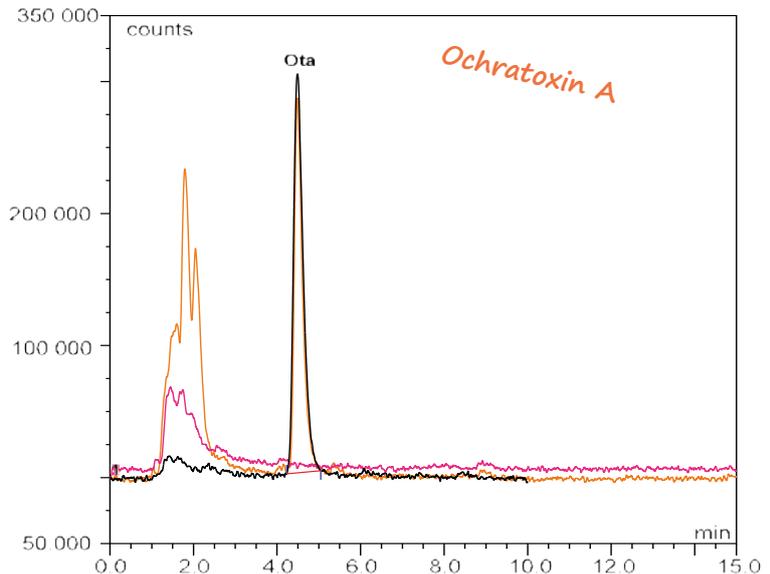
Chromatogramme



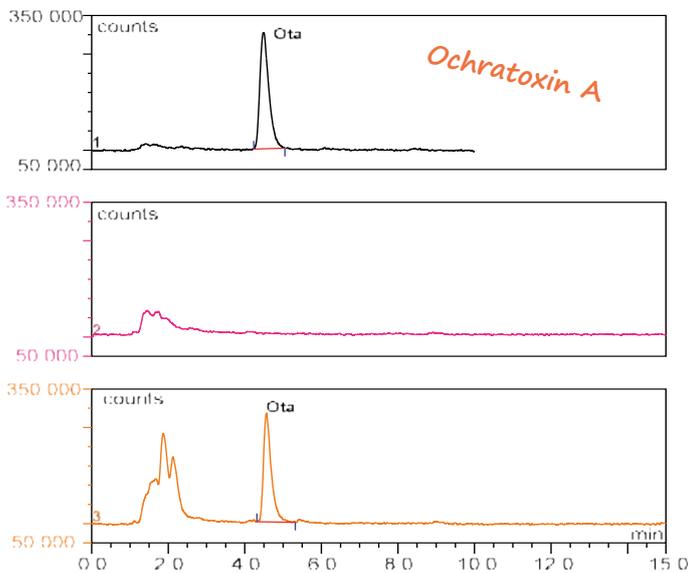
Schwarz: Standard 4 ng / 2 mL $\hat{=}$ 20 ppb Gesamttoxin
Rot: Kreuzkümmel nicht gespikt
Orange: Kreuzkümmel gespikt mit 20 ppb



Schwarz: Standard 4 ng / 2 mL
 Rot: Kreuzkümmel nicht gespikt
 Orange: Kreuzkümmel gespikt mit 20 ppb



Schwarz: Standard 4 ng / 2 mL $\hat{=}$ 20 ppb Toxin
 Rot: Kreuzkümmel nicht gespikt
 Orange: Kreuzkümmel gespikt mit 20 ppb



Schwarz: Standard 4 ng / 2 mL
 Rot: Kreuzkümmel nicht gespikt
 Orange: Kreuzkümmel gespikt mit 20 ppb

„2 in 1“ mit der Afla-OtaCLEAN Säule

- Auch im hoch kontaminierten Bereich **gute Wiederfindungsraten**
- Sie **sparen Geld und die Hälfte der Zeit**, da sie nur eine Säule für die Aufreinigung von Aflatoxin B/G und Ochratoxin A benötigen.
- Geeignet für **automatisierte** Bearbeitung z.B. FREESTYLE SPE



Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

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

HPLC Trennsäule RP C-18
 P/N 10522

UVE Photochemischer Reaktor
 P/N 10519