



Oktober 2020

Ochratoxin A in Lakritze ~ manuell und automatisiert ~

Haben Sie einen speziellen Wunsch, welche Matrix wir für Sie testen sollen? Kontaktieren Sie uns per E-Mail an: info@LCTech.de

Probenvorbereitung

MYKOTOXINE

Lakritze

Lakritze (*Glycyrrhiza glabra*), auch Echtes Süßholz genannt, zählt zu der Familie der Hülsenfrüchte. Durch die Extraktion der Wurzel und Zugabe von diversen Zutaten wie Zuckersirup oder Mehl entsteht die für uns typische Süßigkeit. Lakritze wird nicht nur als Genussmittel, wie in Bonbons oder Getränken verwendet, sondern wird auch in der Medizin eingesetzt.

Schon im alten Rom wusste man um die gesundheitsfördernde Wirkung des Süßholzes. So wurde Lakritze gegen Hals- und Magenbeschwerden verwendet. Heute zählt der Vordere Orient zum klassischen Anbaugebiet für das Echte Süßholz. Lakritze als Süßware wird weltweit konsumiert. Vor allem die Niederländer haben eine spezielle Vorliebe für Lakritze.

Ochratoxin A in schwierigen Matrices

Ochratoxin A ist ein natürlich vorkommendes Mykotoxin, das von Schimmelpilzen der Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* als Primärkontamination gebildet wird. Auch in Lakritze wird durch den hohen Anteil am Süßholz Ochratoxin A gefunden. Nahezu alle Süßholzer weisen Werte von Ochratoxin A auf.

Die ätherischen Öle und pflanzlichen Farbstoffe, sowie der hohe Zuckeranteil der Lakritze stellen bei der Probenvorbereitung oft eine Herausforderung dar.

LCTech bietet mit den Immunoaffinitätssäulen OtaCLEAN und dem Robotiksystem FREESTYLE SPE eine effiziente Probenvorbereitung.

Mehr Proben in weniger Zeit und hohe Kostenersparnis. Auch bei schwierigen Matrices, wie z. B. Lakritze werden sehr gute Wiederfindungsraten erzielt. Jede manuelle SPE-Methode, die sich in Ihrem Labor bewährt hat, lässt sich direkt auf das System übertragen. Bereits erstellte Methoden können abgespeichert und wiederverwendet, aber auch modifiziert werden.



FREESTYLE SPE mit
Immunoaffinitätssäulen OtaCLEAN

Bearbeitungsprotokoll

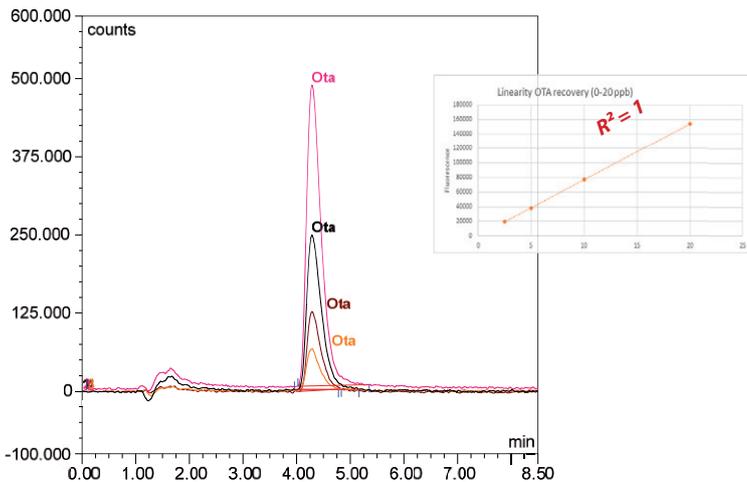
Homogenisieren Sie 20 g Lakritze und versetzen Sie es mit 2 g Natriumchlorid. Extrahieren Sie anschließend die Mischung durch 100 mL Methanol/Wasser (80/20 (v/v)) und 50 mL n-Hexan, um Fette und ätherische Öle zu entfernen. Für die Erzielung besonders hoher Extraktionseffizienzen, führen Sie die Extraktion für mindestens 20 min. durch.

Filtern Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie 2 mL der n-Hexan freien Phase mit 12mL PBS (enthält 8 % Tween). Laden Sie die Probe auf eine Immunoaffinitätssäule OtaCLEAN. Achten Sie drauf, dass die Flussgeschwindigkeit 2mL/min nicht überschreitet.

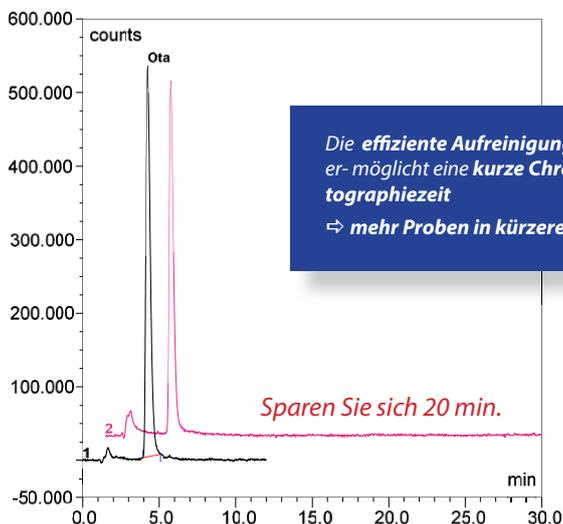
Spülen Sie anschließend das Probenvorlagegefäß mit 5 mL deionisiertem Wasser und laden Sie die Waschlösung auf die Säule. Waschen Sie die Säule erneut mit 5 mL deionisiertem Wasser. Mit einem kurzen Luftstrom können Sie im Anschluss die Säule von Flüssigkeitsresten befreien.

Elulieren Sie das Toxin mit Methanol. Achten Sie darauf, dass das Methanol 5 min. in das Säulenbett einwirkt, um eine vollständige Denaturierung der Antikörper und somit die Freisetzung des Toxins zu gewährleisten.

Chromatogramme



Rot 20 µg/Kg, schwarz 10 µg/Kg, braun 5 µg/Kg, orange 2.5 µg/Kg



Schwarz: Standard 20 µg/Kg

Rot: Lakritze 20 µg/Kg, aufgereinigt mit Immunoaffinitätssäulen OtaCLEAN

HPLC-Laufbedingungen

Ochratoxin A

HPLC:	Isokratisch
Säulenofen:	40 °C
Trennsäule:	EC125/3 Nucleosil 120-3 C-18
Flussrate/ Laufmittel:	0.6 mL/min; HPLC-Wasser/Methanol/ Acetonitril (40/55/5 (v/v/v) + 1% Essigsäure)
Fluoreszenz- detektion:	Ohne Derivatisierung
Anregungs- wellenlänge:	335 nm
Emissions- wellenlänge:	465 nm

Wiederfindungen

Gehalt an Ochratoxin A in Lakritze

Mykotoxin:	Ochratoxin A
Standard*	100
Wiederfindungsraten** Lakritze, 10 ppb	89
Wiederfindungsraten** Lakritze, 20 ppb	88

*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 Immunoaffinitätssäulen für Ochratoxin A
P/N 10515 / 11535

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