

# Aflatoxine und Ochratoxin A in Marzipan und Trinkkakao

Manuelle und automatisierte Aufreinigung für *LC-MS/MS Analysen*

## Marzipan und Trinkkakao

Eines darf zur Weihnachtszeit nicht fehlen: Leckereien, wie Marzipan oder eine heiße Schokolade! Zu dieser Jahreszeit kann kaum einer diesen Naschereien widerstehen. Doch so lecker wie es schmeckt - so gefährlich kann es sein. Denn die beiden Endprodukte werden aus Mandeln und Kakaobohnen verarbeitet, die überwiegend aus Drittländern importiert werden. Durch falsche oder zu lange Lagerung sind diese anfälliger für Schimmelpilze, die hochgiftige, Aflatoxine und Ochratoxin A produzieren. Um eine zu hohe Toxinbelastung speziell bei der Einfuhr kontrollieren zu können, hat die Durchführungsverordnung der Europäischen Kommission Grenzwerte für diese Mykotoxine festgelegt, die nicht überschritten werden dürfen.



## 18 Mykotoxine auf einen Streich - *CrossTOX*<sup>®</sup> macht es möglich

Die *CrossTOX*<sup>®</sup> Säulen von LCTech ermöglichen eine hocheffiziente Probenaufreinigung von regulierten und erwarteten Mykotoxinen. Gleichzeitig verbessern sie die herkömmliche Dilute-and-Shoot Anwendung durch ein QuEChERS basiertes nicht dispersives (SPE)-Aufreinigungsverfahren.

Ein speziell abgestimmtes Sorbent garantiert eine hohe Abreicherung von analytisch störenden Substanzen selbst bei schwierigen Matrices. Mit *CrossTOX*<sup>®</sup> können sowohl getreidebasierende Matrices als auch Nüsse, Trockenfrüchte und Gewürze mit sehr gutem Erfolg aufgereinigt und von Störstoffen befreit werden. Die Beladungskapazität beträgt 3 mL (entspricht 0,6 g Matrix).

Die Aufreinigung über *CrossTOX*<sup>®</sup> erfolgt entweder manuell oder automatisiert mit einem Robotiksystem

### Manuelle oder automatisierte Aufreinigung mit der *CrossTOX*<sup>®</sup>:



Video



FREESTYLE SPE oder sogar vollautomatisiert in Kombination mit einem HPLC Direct-Injection Modul. Abhängig von der Matrix wird der Großteil der Analyten ohne interne Standards und mit exzellenten Wiederfindungen gemessen. Durch die Verringerung der internen Standards und die Reinheit der Probe werden enorme Kosten pro Probe sowie Wartungskosten und Chromatographiezeiten (LC-MS/MS) reduziert.

## Bearbeitungsprotokoll

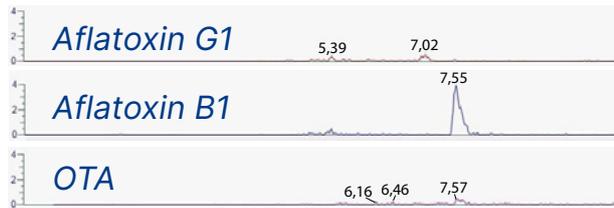
Extrahieren Sie 20 g Matrix mit 100 mL (84/16 (v/v)) Acetonitril/Wasser. Nach 30 minütigen Rühren wird der Rohextrakt bei 3000 xg zentrifugiert und bis zu 3 mL des Überstandes mittels einer Spritze durch die *CrossTOX*<sup>®</sup>-Säule in ein Probengläschen gegeben. Ein Aliquot wird mittels LC-MS/MS auf die Mykotoxine

Aflatoxin B/G und Ochratoxin A untersucht.

Auf diese Weise lassen sich schnell, viele Proben mittels SPE für eine LC-MS/MS Analytik vorbereiten, ohne dass Toxine im Filtermaterial zurückbleiben oder Störstoffe aus der Matrix, wie Fette und Kohlenhydrate, Farb- und Aromastoffe die Analytik negativ beeinflussen.



## Chromatogramme



Spuren von Aflatoxin G1 und Aflatoxin B1 wurden in der nicht gespikten Matrix gefunden. Spuren von OTA konnten auch detektiert werden. Qualitative Unterschiede zwischen den Marzipanproben wurden nur auf Mykotoxinbasis getroffen.

Vergleichsuntersuchung der Matrix Marzipan mittels AflaCLEAN und CrossTOX® Clean-up:

Aflatoxin	B1	B2	G1	G2
Clean-up	[µg/Kg]	[µg/Kg]	[µg/Kg]	[µg/Kg]
CrossTOX®	7,44	0,66	1,04	<0,5
AflaCLEAN	7,3	0,84	1,95	0,15



## Fazit

Die CrossTOX®-Säule besteht nicht nur durch gute Wiederfindungsraten, sondern zeigt ihre Stärke auch in der zuverlässigen Quantifizierung ohne Verwendung interner Standards und ermöglicht so immense Kosteneinsparungen pro Probe. Weitere Vorteile sind die Vermeidung von Verunreinigung des Injektors, Cone sweep oder Transfertube. Dieses Bearbeitungsprotokoll erlaubt hohe Probendurchsätze, deutlich verlängerte Wartungsintervalle und Kostenreduktion. Die erzielten Ergebnisse zeigen eine ebenso gute Performance wie die Immunoaffinitätsäulen (siehe obige Tabelle).

### Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

17900	CrossTOX®
10514	AflaCLEAN
10519	UVE
10522	Mykotoxin HPLC-Säule

### Wiederfindungsraten\*\*

Aflatoxin	B1	B2	G1	G2
Standard*	100	100	100	100
Marzipan 20 ppb	93	80	91	84
Trinkkakao 20 ppb	92	106	100	87
Ochratoxin	A			
Standard*	100			
Marzipan 20 ppb	103			
Trinkkakao 20 ppb	87			

\* Standard wurde = 100%

\*\* Korrigiert mit nicht gespikter Probe / Die Ergebnisse stimmen mit den Performancevorgaben der EC 401 / 2006 (Abschnitt 4.3.1) überein.

### Laufbedingungen

UPLC	gradient
Säulenofen	40 °C
Trennsäule	Accucore Biphenyl 100 mm × 2.1 mm; 2.6 µm mit Vorsäule
Flussrate, Laufmittel	0.4 mL/min; Laufmittel A: HPLC-Wasser/Methanol (98/2 (v/v), 5 mM Ammoniumacetat, 1 % Essigsäure) Laufmittel B: HPLC-Wasser/Methanol (2/98 (v/v), 5 mM Ammoniumacetat, 1 % Essigsäure)
0 – 2 Min.	95 % A; 5 % B
2 – 5 Min.	15 % A; 85 % B
5 – 11 Min.	5 % A; 95 % B
11 – 16 Min.	95 % A; 5 % B
Analytik	Heated ESI 3500 V (+), 1500 V (-); Ion-Transfer-Tube 325 °C; Vaporizer 350 °C

### Analyten und betrachtete Produkt-Ionen

m/z	precursor	Produkt-Ionen
Aflatoxin B1	313.06	<b>285.11</b> / 213.05 / 241.07 / 269.07 / 270.04
Aflatoxin B2	315.06	<b>287.05</b> / 259.05 / 271.02 / 243.05
Aflatoxin G1	329.10	<b>243.07</b> / 200.07 / 215.14 / 283.10
Aflatoxin G2	331.05	<b>245.10</b> / 189.10 / 275.03 / 285.06 / 313.11
Ochratoxin A	404.04	<b>238.97</b> / 221.04 / 341.04 / 358.05

Haben Sie einen speziellen Wunsch, welche Matrix wir für Sie testen sollen? Kontaktieren Sie uns per E-Mail unter: [info@LCTech.de](mailto:info@LCTech.de)