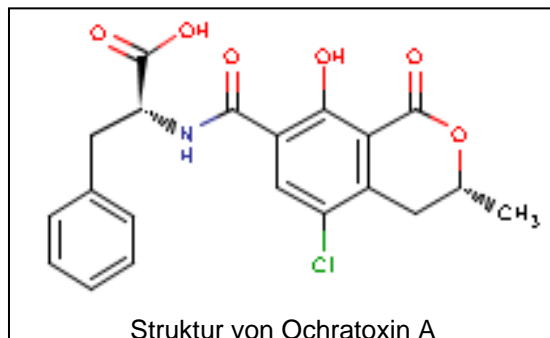


OCHRATOXIN



Das Mykotoxin Ochratoxin A (OTA) wird von verschiedenen *Aspergillus*- und *Penicillium*-Arten in Getreide, Erdnüssen, Trauben, Rosinen, Wein, Kaffee, Bier und Gewürzen typischerweise während der Lagerung gebildet. Da OTA nephrotoxische, teratogene, immunotoxische und kanzerogene Wirkungen besitzt bzw. diese vermutet werden und Untersuchungen ergeben haben, dass dieses in den oben genannten Matrices in zum Teil erheblichen Mengen enthalten ist, wurden entsprechende Grenzwerte durch die Europäische Union im Rahmen der Mykotoxinhöchstmengen-Verordnung erlassen. Je nach Matrix und Verwendungszweck, liegen diese im Bereich von 0.5 bis 10 ppb. Um entsprechend empfindlich und ohne störende Matrixeinflüsse messen zu können, wird OTA nach einer Aufreinigung mittels Immunoaffinitäts-Säulen und Nachsäulenderivatisierung fluorezenzspektrometrisch bestimmt.

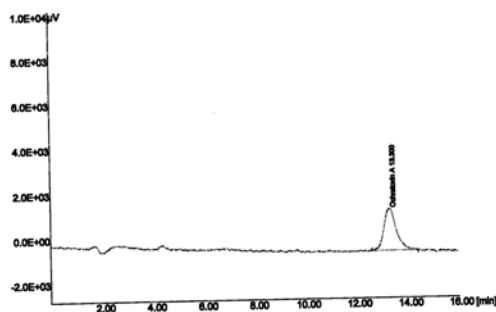


LC Tech bietet für diese Applikation das geeignete Nachsäulenderivatisierungs-System **PINNACLE PCX** von **PICKERING LABORATORIES** an. Das vollautomatisierte Software-gesteuerte System kann mit jeder beliebigen HPLC-Anlage betrieben werden und wird lediglich zwischen HPLC und Detektor angeschlossen.

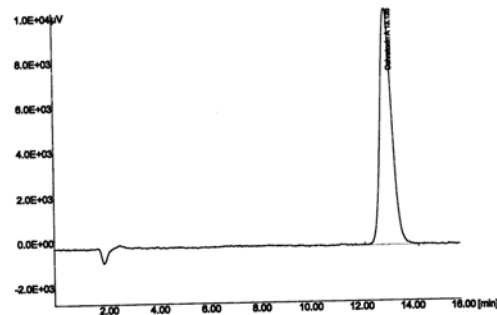
Methodenbeschreibung

Nach der Homogenisierung und Extraktion der Probenmatrix wird der Rohextrakt über Immunoaffinitäts-Säulen (z. B. OtaCLEAN™ von LCTech) gereinigt. Das erhaltene Säuleneluat wird nach Trennung auf einer Reversed Phase-Säule mit Natronlauge oder wässriger Ammoniaklösung durch das Pinnacle PCX-System derivatisiert und mittels Fluoreszenz-Detektion bestimmt.

Chromatogramme



a) OTA Standard ohne Nachsäulenderivatisierung



b) OTA Standard mit Nachsäulenderivatisierung jeweils 100 pg

Bei Verwendung der Nachsäulenderivatisierung ergibt sich, in Abhängigkeit des jeweils verwendeten Fluoreszenzdetektors, eine deutliche Vervielfachung der Peakfläche. Es kann sicher und empfindlich bis zu 1 pg OTA nachgewiesen werden.

HPLC-Bedingungen und Derivatisierungsparameter

HPLC	
Betriebsmodus	Isokratisch
Eluent	AcCN/MeOH/Wasser/Eisessig 5/55/40/1 (v/v/v/v)
Entgasung	Helium- oder Vakuum-entgast
Flussrate	0.7 mL/min
HPLC-Säule	RP C18 z. B. 150 x 4.6 mm mit Vorsäule
Injektionsvolumen	100 µL

Nachsäulenderivatisierung	
Pinnacle PCX	einstufig
Säulenofen	45 °C
Reaktorvolumen	500 µL
Reaktortemperatur	40 °C
Reagenz	1 N NaOH oder 25 % wässrige Ammoniaklösung
Reagenzfluss	0.3 mL/min
Detektion	
Messart	Fluoreszenz-Detektion
Anregungswellenlänge	365 – 390 nm
Emissionswellenlänge	440 nm
Zelle	Analytisch; druckstabil bis 7 bar

Literatur

- 1) B. Zimmerli, R. Dick, *J. Chromatogr. B* **1995**, 666, 85 – 99.
- 2) A. Pittet, D. Torare, A. Huggett, R. Viani: Liquid Chromatographic Determination of Ochratoxin A in Pure and Adulterated Soluble Coffee Using an Immunoaffinity Column Cleanup Procedure, *J. Agric Food Chem* **1996**, 44 (11), 3564-3569
- 3) A. Thellmann, W. Weber, *Deutsche Lebensmittelrundschau* **1997**, 93 (1), 1-3.
- 4) ISO 15141-2: **1998** Foodstuffs – Determination of ochratoxin A in cereals and cereal products – Part 2: High performance liquid chromatographic method with bicarbonate cleanup.
- 5) S. Kastrup, U. Aulwurm, Analytik von Ochratoxin A in Lebensmitteln im ppt-Bereich, *GIT* **2002**, 9, 975 – 977.
- 6) COMMISSION Regulation (EC) No **1881/2006** of **19 December 2006**
- 7) Informationen des Bayerischen Landesamtes für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit unter http://www.lgl.bayern.de/de/left/fachinformationen/lebensmittel/mykotoxine_hoehstmengenregelung.htm

Bestellinformationen

Bestellnummer	Beschreibung
1153-1022	PINNACLE PCX - Einstufig; 500 µL-Reaktor

Für die Reinigung von Proben bietet LCTech die 3 mL Immunoaffinitäts-Säulen OtaCLEAN™ oder Afla-OtaCLEAN™ und weiteres nützliches Zubehör an.

Bestellnummer	Beschreibung
10515	OtaCLEAN™; 3 mL Immunoaffinitäts-Säulen für die Probenvorbereitung in der Ochratoxin A Analytik; 25 Säulen/Karton
11022	Afla-OtaCLEAN™; 3 mL Immunoaffinitäts-Säulen für die Probenvorbereitung in der kombinierten Aflatoxin- und Ochratoxin A Analytik; 25 Säulen/Karton
10896	Vorlagegefäß, DURAN® Glas; wieder verwendbar; spülmaschinentauglich; mit Dichtring und Schraubkappe
11048	EluVac™ Vakuum-SPE-Apparatur für die Immunoaffinitäts-Säulen mit großvolumigen (100 mL) Vorlagegefäßen
11098	Probenrack/Probenvorlage (Ideal für Verbindung mit Vorlagengefäßen 10896)
11105	Probenrack für 4 mL Vials (Bestell-Nr. V0004)