



Juni 2017

Ochratoxin A in Reis Vergleich: Manuelle und automatisierte Bearbeitung

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

Probenvorbereitung

MYKOTOXINE

Ochratoxin A

Bei Anbau und Lagerung von Lebens- und Futtermitteln können sich Schimmelpilze ausbreiten und giftige sekundäre Stoffwechselprodukte, Mykotoxine, bilden. Der Verzehr von mit Mykotoxinen kontaminierten Lebens- und Futtermitteln kann zu ernsthaften gesundheitlichen Schäden bei Mensch und Tier führen. Ochratoxin A ist ein natürlich vorkommendes Mykotoxin, das von Schimmelpilzen der Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* in verschiedensten Lebens- und Futtermitteln als Primärkontamination bei schlechter Lagerung gebildet wird. So findet es sich in zahlreichen Getreidearten, wie z. B. Reis, getrockneten Früchten oder Nüssen.

Automatisierte Bearbeitung mit FREESTYLE SPE

Die Aufreinigung einer Probe über SPE-Säulen gehört zu den langwierigen und eintönigen Routineaufgaben im analytischen Labor, die jedoch höchste Konzentration erfordern, da Proben nicht verwechselt oder gemischt werden dürfen. Dies ist ein idealer Aufgabenbereich für eine automatisierte Bearbeitung. Das FREESTYLE SPE bietet einzigartige Möglichkeiten für die Probenvorbereitung per Festphasenextraktion (SPE). Konsequenterweise im Tag- und Nachtbetrieb werden auch die langwierigsten Applikationen in der Mykotoxinanalytik präzise abgearbeitet. Das Robotiksystem kann für alle Arten von Mykotoxin-Säulen eingesetzt werden. Die Elution kann praktischerweise in einen Meßkolben mit 2 mL oder 5 mL erfolgen, so dass das eluierte Volumen schnell auf einen präzisen Wert eingestellt werden kann.

Jede manuelle SPE-Methode, die sich bereits im Labor bewährt hat, lässt sich einfach und schnell automatisieren. Dabei sind die Anwendungsgebiete vielfältig: von Mykotoxin- über Umweltanalytik, bis hin zu forensischen Applikationen und Dopingproben.

*Automatisierte Bearbeitung der nächsten Generation.
Flexibel, präzise, modular.*



Vorbereitende Schritte für die nachfolgende Bearbeitung

Extrahieren Sie 20 g homogenisierten Reis durch 100 mL Methanol/Wasser (80/20 (v/v)). Die Extraktion sollte mindestens 10 Minuten durchgeführt werden. Filtrieren Sie den Rohextrakt durch einen Glasfaserfilter (Whatman GF/A), um mögliche Präzipitationen zu vermeiden.

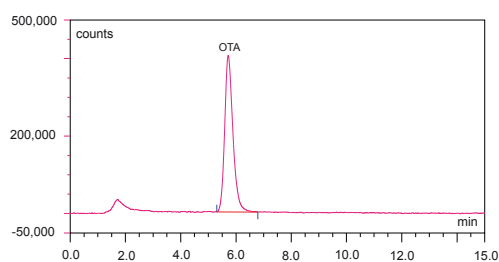
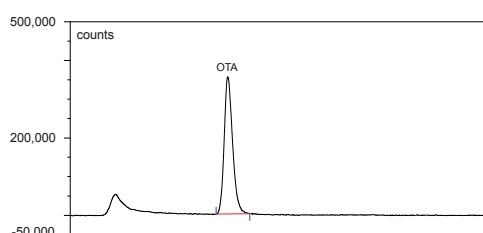
Manuelle Bearbeitung

Verdünnen Sie 12 mL der Probe mit 48 mL PBS und laden Sie 25 mL davon (entsprechen 1 g Matrix) auf eine OtaCLEAN Immunoaffinitätssäule. Waschen Sie die Säule anschließend mit 10 mL deionisiertem Wasser und trocknen Sie sie, um Flüssigkeitsreste zu entfernen. Eluieren Sie das Toxin mittels Zugabe von 2 mL Methanol, wobei das Methanol in das Säulenbett einfließt und es zur vollständigen Denaturierung der Antikörper 5 Minuten einwirken muss.

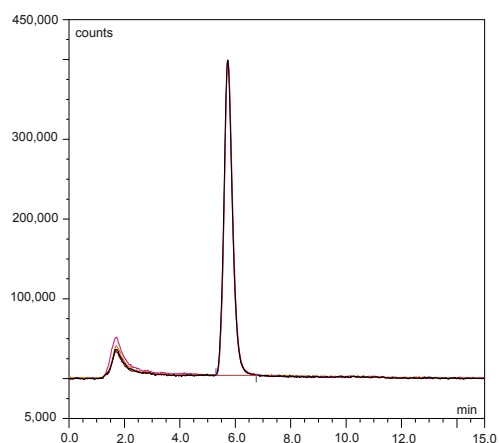
Automatisierte Bearbeitung mit FREESTYLE SPE

Für die automatisierte Bearbeitung positionieren Sie die Probe im FREESTYLE SPE, parametrieren Sie in der Software mit wenigen Mausklicken die Methode und starten Sie das System. Sie können die von Ihnen eingegebene Methode im System abspeichern und jederzeit wieder aufrufen oder abändern.

Chromatogramme



Schwarz: Manuelle Bearbeitung (Reis 10 ppb)
Rot: Automatisierte Bearbeitung mit FREESTYLE SPE (Reis 10 ppb)



Überlagerung von 4 Chromatogrammen, automatisiert bearbeitet am Robotiksystem FREESTYLE SPE

HPLC-Laufbedingungen (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 (60/30/15 (v/v/v)) + 1 % Essigsäure
Fluoreszenzdetektion:	ohne Derivatisierung
Anregungswellenlänge:	335 nm
Emmissionswellenlänge:	465 nm

Wiederfindungsraten

Gehalte an Ochratoxin A in Reis

Ochratoxin A	Automatisiert	Manuell
Standard*	100	100
Wiederfindungsraten** Reis, 10 ppb (n = 4)	84 ± 3	87 ± 2

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

Fazit: Im Vergleich

Die Wiederfindungsraten von manueller und automatisierter Bearbeitung und der Chromatogramme zeigen, dass die mit dem FREESTYLE System erzielten Ergebnisse sehr gut reproduzierbar und verlässlich sind. Eine Automatisierung der Aufreinigung von Ochratoxin A ist somit hervorragend umsetzbar.

Fast jede manuelle Methode ist mit wenigen Mausklicks in der Software für die Automatisierung auf das FREESTYLE System übertragbar. So können Ihre Proben in Zukunft unbeaufsichtigt, reproduzierbar und rund um die Uhr bearbeitet werden.

Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

OtaCLEAN,
Immunoaffinitätssäule für Ochratoxin A
P/N 10515

Trennsäule RP C18
P/N 10544

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