



Februar 2019

Ochratoxin A in Kokoschips ~ 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

Kokoschips

Die Kokosnuss steht für die meisten Menschen für Urlaub – Strand, Meer, Sonne und Plamen in einem fernen exotischen Land. Dabei ist die tropische Steinfrucht auch ein gesunder Allrounder.

Das weiße, aromatisch schmeckende Fruchtfleisch ist nicht nur frisch verzehrbar, sondern kann auch zu Chips und Raspeln getrocknet werden. Durch den hohen Anteil an Ballaststoffen, Omega-6-Fettsäuren und Proteinen sind Kokoschips eine gesunde Snack Alternative.

Da die Frucht in tropischen Ländern angebaut und getrocknet wird, finden vor dem EU-Import regelmäßig Lebensmittelkontrollen statt. Denn infolge falscher Lagerung oder eines Verarbeitungsprozesses, kann eine unerwünschte Schimmelbildung und daraus eine zu hohe Mykotoxinkonzentration entstehen. Zur Einhaltung der hohen Lebensmittelstandarts gelten EU-weit strenge gesetzliche Regelungen für den zulässigen Gehalt an Mykotoxinen. Bei einem zu hohen Gehalt wird die Ware zurückgewiesen.

Aufreinigung von Ochratoxin A in Lebens- und Futtermittel

Heutzutage müssen viele Laboratorien in möglichst kurzer Zeit möglichst viele Proben und auch schwierige Matrices bearbeiten. Zur Erleichterung dieser Aufgabe, hat LCTech neben den 3 mL OtaCLEAN Immunoaffinitätssäulen, die nur 3 cm großen OtaCLEAN SMART Säulen entwickelt.

OtaCLEAN SMART Säulen überzeugen nicht nur durch ihre geringe Größe und einen geringeren Preis, sondern auch durch einen reduzierten Lösungsmittelverbrauch, kürzere Bearbeitungszeit und vergleichbar gute Wiederfindungsraten zur 3 mL Säule.

Beide Säulen weisen eine sehr hohe Matrixtoleranz auf und sind in der Lage, das Ochratoxin A hochspezifisch zu binden. Sie sind sowohl für die manuelle als auch für die automatisierte Bearbeitung z. B. mit dem LCTech Robotiksystem FREESTYLE SPE oder dem FREESTYLE ThermELUTE™ geeignet.



Bearbeitung auf FREESTYLE ThermELUTE™: Greifer mit Adapter nimmt SMART-Säule

Bearbeitungsprotokoll

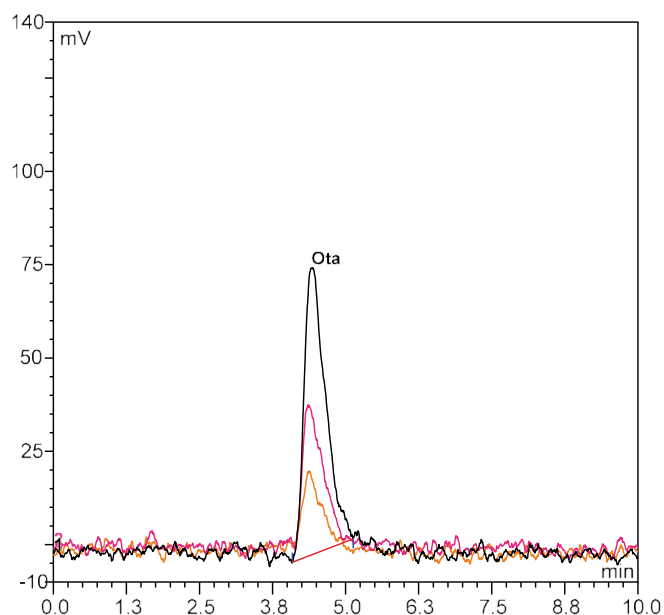
Homogenisieren Sie 20 g Kokoschips und versetzen Sie sie mit 2 g Natriumchlorid. Extrahieren Sie die Mischung anschließend durch 100 mL Methanol/Wasser (80/20 (v/v)) und 50 mL n-Hexan, um Fette und ätherische Öle zu entfernen. Für die Erzielung besonders hoher Extraktionseffizienzen, führen sie die Extraktion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

Filtrieren Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie 2 mL davon mit 12 mL PBS (enthält 8% Tween20). Laden sie 14 mL der Probe auf eine OtaCLEAN Säule. Waschen Sie die Säule mit 10 mL deionisiertem Wasser und trocknen Sie sie anschließend mit einem kurzen Luftstrom. Eluieren Sie das Toxin mit 2 mL Methanol. Eine Inkubationszeit von 5 Minuten unterstützt die vollständige Denaturierung der Antikörper.

Beim Einsatz einer OtaCLEAN SMART Säule, laden Sie 2,8 mL Probe auf die Säule. Waschen Sie die Säule anschließend mit 2 mL deionisiertem Wasser und trocknen Sie sie mit einem kurzen Luftstrom.

Bei der SMART-Säule eluieren Sie das Ochratoxin A mit 400 µL Methanol. Achten Sie darauf, dass das Methanol 5 Minuten in das Säulenbett einwirkt, um die vollständige Denaturierung der Antikörper zu gewährleisten.

Chromatogramme



Orange: Standard 5 ppb
Rot: Standard 10 ppb
Schwarz: Standard 20 ppb

HPLC-Laufbedingungen (Ochratoxin A)

Mykotoxin	Ochratoxin A
HPLC:	isokratisch
Säulenofen:	40 °C
Trennsäule:	RP C-18 (P/N 10544) oder RP EC 125/3 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

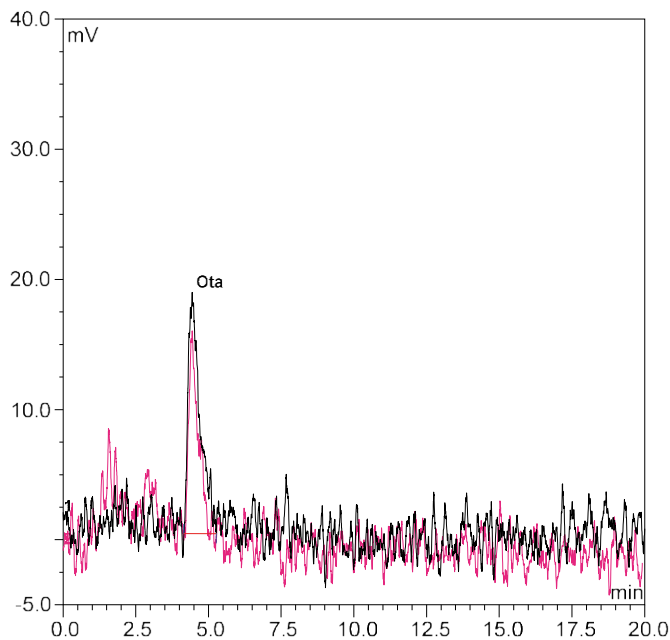
Wiederfindungen

Gehalt an Ochratoxin A in Kokoschips

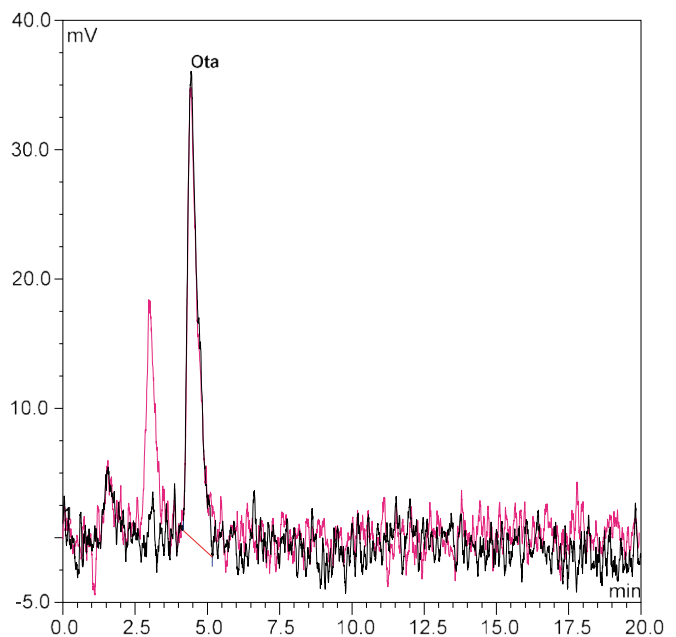
Mykotoxin	Ochratoxin A
Standard*	100
Wiederfindungsraten** Kokoschips, 20 ppb (OtaCLEAN)	92
Wiederfindungsraten** Kokoschips, 10 ppb (OtaCLEAN)	98
Wiederfindungsraten** Kokoschips, 5 ppb (OtaCLEAN)	93
Wiederfindungsraten** Kokoschips, 20 ppb (OtaCLEAN SMART)	87
Wiederfindungsraten** Kokoschips, 10 ppb (OtaCLEAN SMART)	91
Wiederfindungsraten** Kokoschips, 5 ppb (OtaCLEAN SMART)	89

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

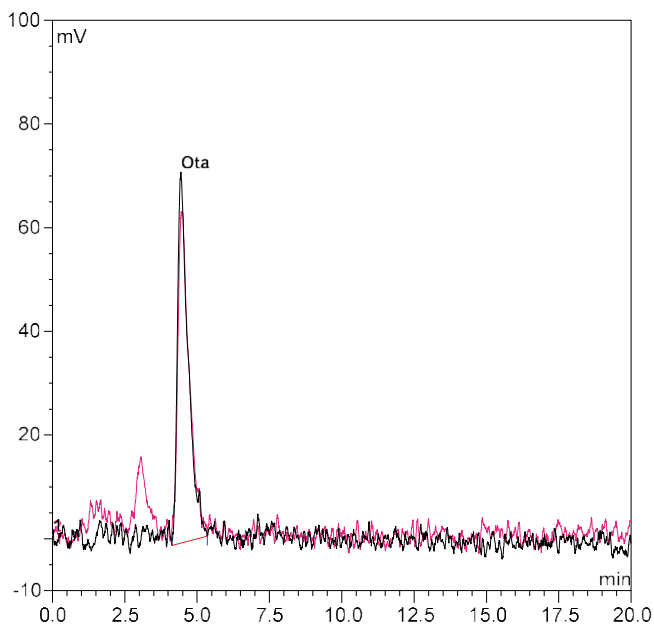
Matrix des Monats



Schwarz: 5 ppb Kokoschips aufgereinigt mit OtaCLEAN
Rot: 5 ppb Kokoschips aufgereinigt mit OtaCLEAN SMART



Schwarz: 10 ppb Kokoschips aufgereinigt mit OtaCLEAN
Rot: 10 ppb Kokoschips aufgereinigt mit OtaCLEAN SMART



Schwarz: 20 ppb Kokoschips aufgereinigt mit OtaCLEAN
Rot: 20 ppb Kokoschips aufgereinigt mit OtaCLEAN SMART



OtaCLEAN SMART Säulen mit Zubehör für die manuelle Bearbeitung

Klein + schnell + günstig = SMART

Unter Verwendung der OtaCLEAN SMART Säule, lassen sich bei Extraktion, Verdünnung, Waschen und Elution mehr als 80 % der Lösungsmittel einsparen. Da auch zur Elution maximal nur 400 µL verwendet werden, verringert sich die Bearbeitungszeit nochmals. Dadurch erhöht sich insgesamt der Probendurchsatz pro Woche. Wie die Chromatogramme und sehr guten Wiederfindungsraten zeigen, sind die Ergebnisse absolut vergleichbar zur OtaCLEAN Säule im 3 mL Format. Der einzige Unterschied: klein, schnell & günstig!



Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

OtaCLEAN Immunoaffinitätssäulen für Ochratoxin A
P/N 10515 / 11535

OtaCLEAN SMART Immunoaffinitätssäulen für Ochratoxin A
P/N 13346 / 13351

HPLC Trennsäule RP C-18
P/N 10522

FREESTYLE SPE Robotic System für automatisierte
Probenvorbereitung
P/N 12663 / 12668