



April 2019

Aflatoxin B/G und Ochratoxin A in Wacholderbeeren ~ 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

Die Wacholderbeere

Traditionelle Heilpflanze oder giftige Beere? Die Wacholderpflanze ist mit vielen Mythen versehen. Schon bei den alten Ägyptern und Griechen wurde die Pflanze als Heilmittel verwendet, im Mittelalter hingegen nutzte man die Beere als Zaubermittel. Heute ist der Wacholder zwar kein Zaubermittel mehr, doch er wird als Heilpflanze und Gewürz vielseitig eingesetzt.

Vor allem durch den Anteil an Gerbstoffen, ätherischen Ölen und Saponine, die in ihrer speziellen Kombination einen harntreibenden Effekt bedingt, wird sie oft als heilende Pflanze bezeichnet. Zudem wird die Wacholderbeere auch gerne in der Küche als Gewürz eingesetzt und auch bei Herstellung von Gin verwendet. Giftig ist die Pflanze nur bei einer Überdosis und kann somit Auslöser für Nierenschmerzen oder Tachykardie sein.

Die Beere wird meistens in getrockneter Form verwendet. Durch falsche Lagerung kann eine unerwünschte Schimmelbildung und somit ein zu hoher Anteil an Mykotoxinen entstehen, der die Qualität des Produktes reduziert und gesundheitliche Schäden hervorrufen kann.

Zwei in einem – Kombinierte Immunoaffinitätssäule Afla-OtaCLEAN

Aflatoxine B/G und Ochratoxine A sind oft kombiniert in Futter- und Lebensmittel zu finden, so auch in getrockneten Wacholderbeeren. Um beide Toxingruppen aufzureinigen benötigt man zwei individuelle Säulen.

LCTech vereinfacht diese beiden Arbeitsgänge mit der Entwicklung der „zwei-in-eins“ Immunoaffinitätssäule Afla-OtaCLEAN. Sie bietet dem Anwender die Möglichkeit, Aflatoxine B/G und Ochratoxine A in einem Arbeitsschritt aufzureinigen. Dadurch wird die Hälfte der Zeit gespart und zugleich kann der Extrakt auf mehrere Mykotoxine untersucht werden.

Auch für schwierige Matrices sind die Afla-OtaCLEAN Säulen sehr gut geeignet, um beide Toxingruppen in einem Arbeitsgang aufzureinigen. Auf diese Weise kann die Produktqualität gerade im Bereich der Gewürze signifikant verbessert werden, sowie Geld und Zeit gespart werden.



Immunoaffinitätssäulen Afla-OtaCLEAN

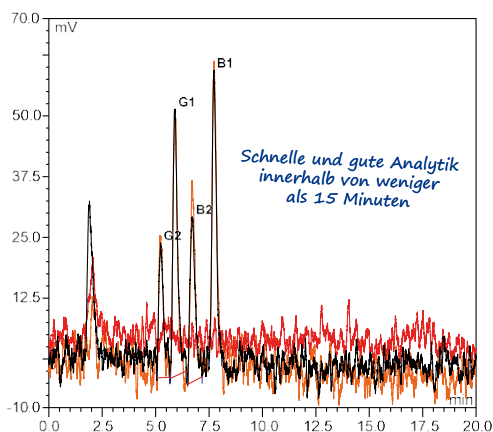
Bearbeitungsprotokoll

Homogenisieren Sie 10 g Wacholderbeeren und versetzen Sie diese mit 1 g Natriumchlorid. Extrahieren Sie im Anschluss die Mischung durch 50 mL Methanol/ Wasser (80/20 (v/v)) und 25 mL n-Hexan, um Fette und ätherische Öle zu entfernen. Für die Erzielung hoher Extraktionseffizienzen, führen Sie die Extraktion mindestens 10 Minuten durch.

Filtrieren Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie 2 mL der n-Hexan freien Phase mit 12 mL PBS (enthält 8 % Tween20). Laden Sie anschließend 14 mL der Probe (entspricht 0,4 g Matrix) auf die Immunoaffinitätssäule Afla-OtaCLEAN. Waschen Sie die Säule mit 10 mL deionisiertem Wasser und trocknen Sie diese mit einem kurzen Luftstrom.

Eluieren Sie das Toxin mit 2 mL Methanol. Achten Sie dabei darauf, dass das Methanol 5 Minuten in das Säulenbett einwirkt, um eine vollständige Denaturierung der Antikörper und somit die Freisetzung des Toxins zu gewährleisten.

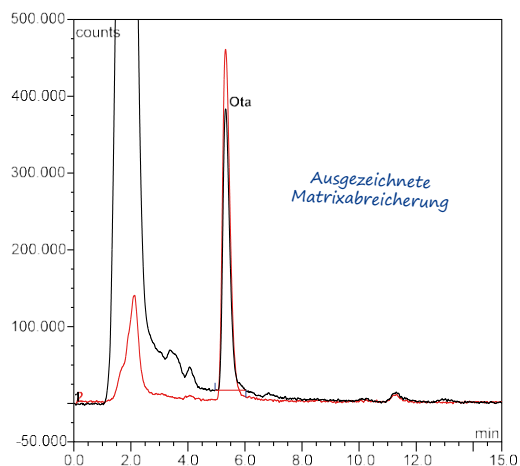
Chromatogramme



Orange: Standard 10 ppb (4 ng/2 mL)

Rot: Wacholderbeeren nicht gespikt, aufgereinigt mit Afla-OtaCLEAN

Schwarz: Wacholderbeeren 10 ppb, aufgereinigt mit Afla-OtaCLEAN



Schwarz: Wacholderbeeren gespikt mit 10 ppb

Rot: Ochratoxin A Standard 10 ppb (4 ng/2 mL)

HPLC-Laufbedingungen

(Aflatoxin B/G / Ochratoxin A)

| Mykotoxin: | Aflatoxin B/G | Ochratoxin A |
|----------------------------|--|---|
| HPLC: | isokratisch | isokratisch |
| Säulenofen: | 36 °C | 40 °C |
| Trennsäule: | RP C-18 (P/N 10522) | RP C-18 (P/N 10522) |
| Flussrate: | 1,2 mL/min | 0,6 mL/min |
| Laufmittel: | HPLC-Wasser/ Methanol/Acetonitril (60/30/15 (v/v/v)) | HPLC-Wasser/ Methanol/Acetonitril (40/55/5 (v/v/v)) + 1 % Essigsäure |
| Fluoreszenz- detektion: | Derivatisierung mit UVE Photochemischer Reaktor | Ohne Derivatisierung |
| Anregungs- wellenlänge: | 365 nm | 335 nm |
| Emissions- wellenlänge: | 460 nm | 465 nm |

Wiederfindungen

Gehalte an Aflatoxin B/G und Ochratoxin A in Wacholderbeeren

| Mykotoxine | B1 | B2 | G1 | G2 | OTA |
|--|-----|-----|-----|-----|-----|
| Standard* | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Wiederfindungsraten** | | | | | |
| Wacholderbeeren, 10 ppb (Afla-OtaCLEAN) | 93 | 87 | 98 | 91 | 82 |

*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:

Afla-OtaCLEAN Immunoaffinitätssäulen für
Ochratoxin A und Aflatoxin B/G
P/N 11022 / 11771

HPLC Trennsäule RP C-18
P/N 10522

UVE Photochemischer Reaktor
P/N 10519