



Januar 2020

## Aflatoxine B/G und Ochratoxin A in Tee ~ Manuell und automatisiert ~

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

### Probenvorbereitung

### MYKOTOXINE

#### Tee

Tee gehört neben Kaffee zu den bekanntesten und beliebtesten Heißgetränken. Bekannt sind vor allem die echten Teesorten „schwarzer Tee“ und „grüner Tee“, die beide aus Blättern der Teepflanze (*Camellia sinensis*) hergestellt werden. Hinzu kommt eine breite Palette an teeähnlichen Erzeugnissen wie Früchtetee und Kräutertee in unterschiedlichen Zusammensetzungen. Mit über 2 Mio. Tonnen geerntetem Tee im Jahr 2017, das entspricht rund 40 % der Gesamtmenge, ist China mit Abstand der größte Teeproduzent weltweit.

Die geernteten Blüten und Blätter der Teepflanze werden vor der weiteren Verarbeitung getrocknet und anschließend größtenteils exportiert. Bei diesem Trocknungsprozess oder bei falschen Lagerbedingungen können sich Mykotoxine bilden. Diese sind für den Menschen giftig und führen zu gesundheitlichen Schäden oder gar zum Tod. Aus diesem Grund gibt es EU-weite Regulierungen und Kontrollen, die den Grenzwert an Mykotoxinen festlegen und somit die hohe Produktqualität sichern.

#### Zwei in einem – Kombinierte Immunoaffinitätssäule Afla-OtaCLEAN

Aflatoxine B/G und Ochratoxin A sind natürlich vorkommende Mykotoxine und werden von Pilzen bei feuchter bzw. falscher Lagerung gebildet. Sie finden sich oft gemeinsam in vielen Lebens- und Futtermitteln. Um die Extraktion zu erleichtern und die Arbeitszeit zu halbieren, bietet es sich an, die Extrakte in einem Arbeitsgang auf mehrere Mykotoxine zu untersuchen. Aus diesem Grund bietet LCTech die kombinierte Immunoaffinitätssäule Afla-OtaCLEAN zur Aufreinigung von Aflatoxin B1, B2, G1, G2 und Ochratoxin A an.

Da LCTech sowohl die Aufreinigungssäulen als auch die Antikörper produziert, stellen umfangreiche Qualitätstests während des gesamten Produktionsprozesses die hohe Produktqualität sicher.

Auf der nachfolgenden Seite finden Sie ein Bearbeitungsprotokoll mit der Verwendung einer Afla-OtaCLEAN Immunoaffinitätssäule.



Immunoaffinitätssäule Afla-OtaCLEAN,  
für Aflatoxine B/G und Ochratoxin A

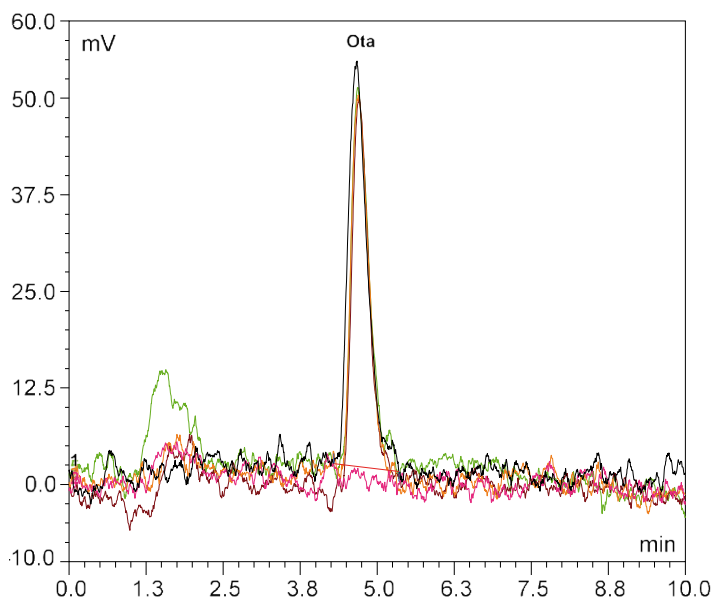
## Bearbeitungsprotokoll

Homogenisieren Sie 10 g Tee und versetzen Sie die Probe mit 2 g Natriumchlorid. Extrahieren Sie anschließend die Mischung durch 100 mL Methanol/Wasser (80/20 (v/v)) und 50 mL n-Hexan, um ätherische Öle und Fette zu entfernen. Für die Erzielung einer hoher Extraktionseffizienz, führen Sie die Extraktion 30 Minuten durch. Für das weitere Vorgehen, ist die n-Hexan freie Phase zu verwenden.

Filtrieren Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie 2 mL mit 12 mL PBS (enthält 8 % Tween). Laden Sie im Anschluss 14 mL der Probe (entsprechen 0,2 g Matrix) auf eine Immunoaffinitätssäule Afla-OtaCLEAN. Waschen Sie die Säule mit 10 mL deionisiertem Wasser, wobei die Waschlösung zuvor zum Ausspülen von Probenresten aus dem Vorlagengefäß genutzt wird.

Eluieren Sie abschließend die Säule mit 2 mL Methanol. Achten Sie darauf, dass das Methanol 5 Minuten in das Säulenbett einwirkt, um eine vollständige Denaturierung der Antikörper zu gewährleisten.

Der gesamte Aufreinigungsprozess kann unter Verwendung des FREESTYLE SPE schnell und einfach automatisiert durchgeführt werden. Positionieren Sie die Teeprobe im FREESTYLE SPE. Parametrieren Sie in der Software mit wenigen Mausklicken die Methode und starten Sie das System - fertig.



Schwarz = Standard 2ng/2mL OTA (entspricht 10 ppb)  
Rot, Orange, Braun und Grün: individuelle  
Afla-OtaCLEAN Säuleneluate von schwarzen Tee

Das Chromatogramm zeigt, dass mit den LCTech Immunoaffinitätssäulen Afla-OtaCLEAN selbst im hochkontaminierten Bereich gute Wiederfindungen, exzellente Chromatographieergebnisse und eine gute Reproduzierbarkeit erzielt werden können.

## HPLC-Laufbedingungen (Alfatoxin 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 EC 125/3 nucleosil 120-3 C18
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)
Fluoreszenzdetektion:	Derivatisierung mit UVE Photochemischer Reaktor	ohne Derivatisierung
Anregungswellenlänge:	365 nm	335 nm
Emmissionswellenlänge:	460 nm	465 nm

## Wiederfindungen

Gehalt an Ochratoxin A in Tee

Mykotoxin	Ochratoxin A
Standard*	100
Wiederfindungsrate** Schwarzer Tee, 10 ppb	94
Wiederfindungsrate** Grüner Tee, 10 ppb	90
Wiederfindungsrate** Kamillentee, 10 ppb	87
Wiederfindungsrate** Orientalischer Gewürztee, 10 ppb	94
Wiederfindungsrate** „Winterzeit“ Tee, 10 ppb	95

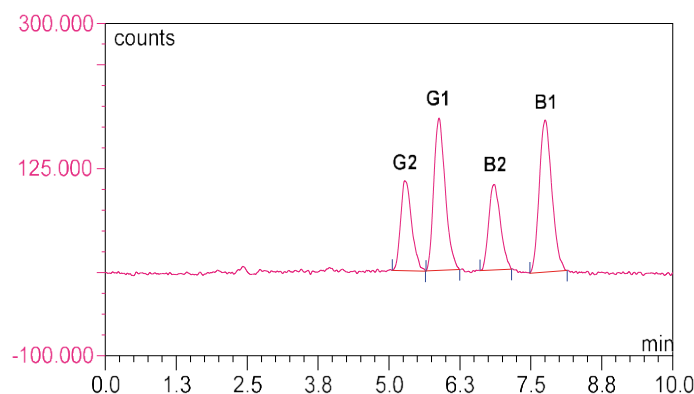
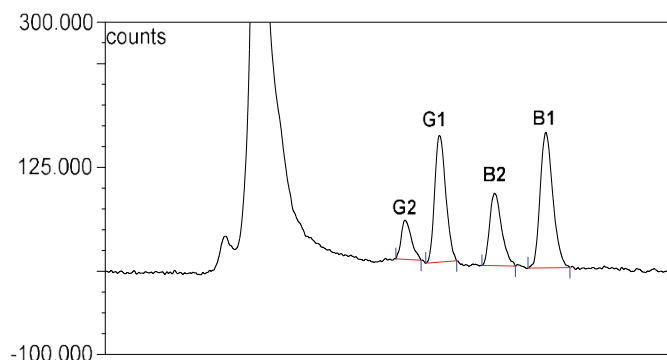
\*Standard wurde 100% gesetzt,\*\*korrigiert mit nicht gespikter Probe  
Die Ergebnisse stimmen mit den Performancevorgaben der EC 401/2006 überein (Abs. 4.3.1)

## Wiederfindungen

Gehalt an Aflatoxinen B1, B2, G1, G2 in Tee

Aflatoxine B/G	B1	B2	G1	G2
Standard*	100	100	100	100
Wiederfindungsrate** Schwarzer Tee, 10 ppb	91	88	84	75
Wiederfindungsrate** Grüner Tee, 10 ppb	89	87	85	73
Wiederfindungsrate** Kamillentee, 10 ppb	95	94	88	83
Wiederfindungsrate** Orientalischer Gewürztee, 10 ppb	89	93	87	86
Wiederfindungsrate** „Winterzeit“ Tee, 10 ppb	96	93	97	67

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

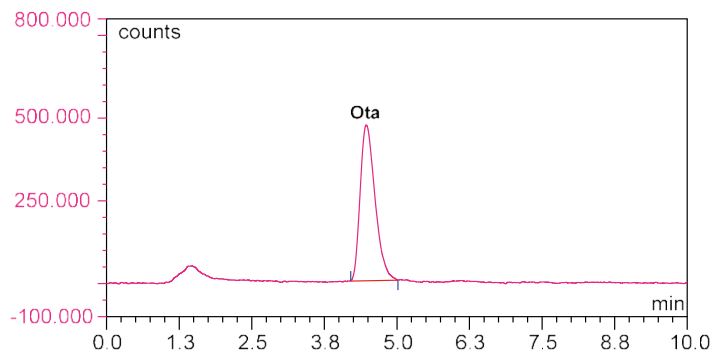
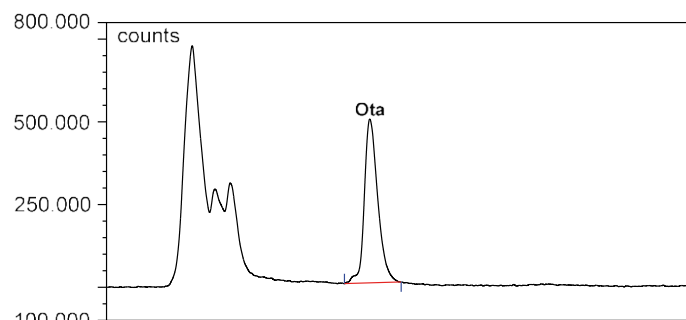


Schwarz = grüner Tee, aufgereinigt mittels LCTech  
Immunoaffinitätssäule AflaOtaCLEAN

Rot = Standard 10 ppb total (4 ppb (B1/G1)), (1 ppb (B2/  
G2)) Aflatoxin B/G (2ng/2mL)

## Fazit

Die Wiederfindungsraten und die chromatographischen Daten zeigen eine effiziente Anreicherung der Toxine trotz einer schwierigen Matrix, wie Tee, die durch Fermentierungsprozesse sowie Farb- und Aromastoffe, die Aufreinigungseffizienz beeinflussen können. Innerhalb der hier dargestellten 10 Minuten sind keine starken Matrixinterferenzen zu sehen. Daher kann die Chromatographiezeit auf weniger als 10 Minuten reduziert werden. Die Verwendung der Afla-OtaCLEAN Säulen erlaubt eine schnelle, reproduzierbare Analyse von Tee und anderen Matrices. Störende Matrixeffekte werden so effektiv abgereichert, dass eine empfindliche Analytik weit unter den gesetzlich regulierten Niveau ermöglicht wird.



Schwarz = grüner Tee, aufgereinigt mittels LCTech  
Immunoaffinitätssäule AflaOtaCLEAN  
Rot = Standard 10 ppb (2 ng/2 mL)

### Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

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

HPLC Trennsäule RP C-18  
P/N 10522

UVE Photochemischer Reaktor  
P/N 10519