

Ringversuch zur Bestimmung von Ochratoxin A in Kakaopulver

Marion Raters und Reinhard Matissek

LCI

Lebensmittelchemisches Institut
des Bundesverbandes der Deutschen Süßwarenindustrie e. V.

Adamsstrasse 52-54, 51063 Köln



Dieses Projekt wurde durch die
Stiftung der Deutschen Kakao und
Schokoladenwirtschaft, Hamburg gefördert

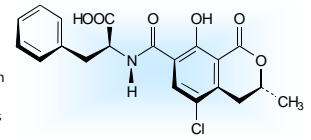
Hintergrund

Trotz einer unumstrittenen toxikologischen Relevanz des Mykotoxins Ochratoxin A (OTA) existieren in der EU bislang noch keine gesetzlichen Höchstmengenvorschriften. Allerdings wird auf EU-Ebene zur Zeit über Regelungen für bestimmte Lebensmittelgruppen beraten.

Hinsichtlich der Ochratoxin A-Analytik ist die am häufigsten zum Einsatz kommende Methode zur Zeit die Hochleistungs-Flüssigchromatographie mit Fluoreszenz-Detektion. Zuvor wird das Mykotoxin mit Hilfe spezieller Immunoaffinitätsäulen sorgfältig isoliert. Da für die Bestimmung von OTA in Lebensmitteln wie Kakao gegenwärtig keine einheitliche validierte Analysenmethode existiert, wurde im LCI anhand einer hier angewandten und an die entsprechenden Matrices angepassten Methode ein europäischer Ringversuch zur OTA-Bestimmung in Kakaopulver durchgeführt.

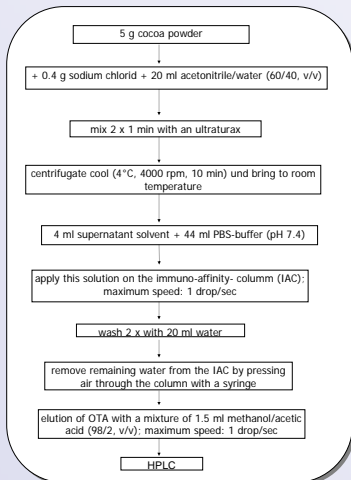
Ochratoxin A

Bei Ochratoxin A (OTA) handelt es sich um einen Sekundärmetaboliten toxinbildender Schimmelpilze insbes. der Gattung *Aspergillus ochraceus*. Sein Vorkommen ist typisch für einheimische stärkehaltige Cerealien; aber auch in aus tropischen Regionen importierten Lebensmittelrohstoffen, wie bestimmten Samen, Olsaaten und Gewürzen konnten positive Befunde dieses Mykotoxins festgestellt werden.



Ochratoxin A ist ein weitverbreitetes Mykotoxin, das unter dem Verdacht steht, sowohl über ein krebserregendes als auch ein nierenschädigendes Potential zu verfügen. Chemisch betrachtet verfügt OTA über einen Isocoumarin-Grundkörper, der amidartig mit einer Aminosäure verknüpft ist [1,2].

Die Methode



HPLC-Bedingungen

precolumn: no
column: Spherisorb ODS 2: 5 µm; 250 x 4.6 mm
detection: fluorescence detector, excitation 330 nm, emission 460 nm
mobile phase: methanol/water/acetic acid 70.5+25.5+4 (v/v/v)
flow: 0.8 ml/min
injection volum: 10 µl

Organisation des Ringversuches

Insgesamt nahmen 13 Labore an dem Ringversuch teil. Hierbei handelte es sich sowohl um Forschungsinstitute als auch um Industrie- und Handelslaboratorien aus 4 EU-Staaten. Jeder Teilnehmer erhielt eine sog. Trainingsprobe mit zuvor validiertem Gehalt an OTA und zwei Testproben mit unbekanntem jedoch natürlichen Gehalten an Ochratoxin A. Im Rahmen von im Vorfeld im LCI durchgeführten Untersuchungen konnte eine der Testproben als schwach kontaminiert mit einem OTA-Gehalt von unter 1 ppb (**low contaminated sample**), die andere Testprobe als stärker kontaminiert mit über 1 ppb OTA (**high contaminated sample**) eingestuft werden. Für die Durchführung der Untersuchungen erhielten die Teilnehmer des Ringversuches genaue Anweisungen bzw. Vorschläge bezüglich der anzuwendenden Methode, Untersuchungshäufigkeit, Kalibrierung u. dgl.

Ergebnisse

Um die Daten der einzelnen Labore besser vergleichen zu können, wurde eine sog. z-Transformation durchgeführt. Für jedes Labor wurde die z-Scores wie folgt berechnet:

$$z = \frac{(x - X)}{s_R}$$

Hierbei bedeutet:

x = Mittelwert aus Einzelergebnissen
X = sog. wahrer Wert der Probe, hierfür wird näherungsweise der Gesamtmittelwert eingesetzt
s_R = Standardabweichung der Vergleichbarkeit

Als "gut funktionierend" wird ein analytisches System eingeschätzt, dessen z-Werte < 2 betragen.

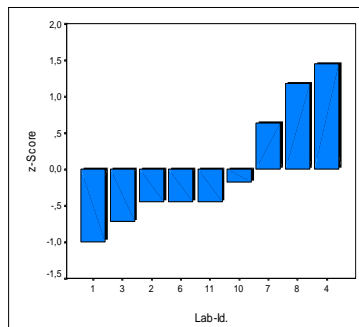


Abb 1.: Bewertung der Teilnehmerlabore mit Hilfe von z-scores ("low contaminated" Probe: 0,7 µg/kg OTA)

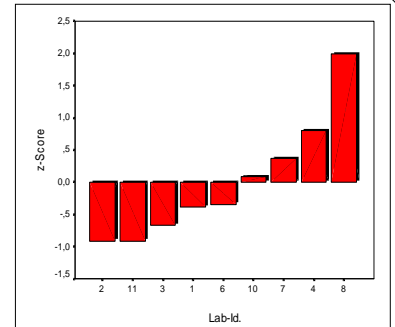


Abb 2.: Bewertung der Teilnehmerlabore mit Hilfe von z-scores ("high contaminated" Probe: 3,4 µg/kg OTA)

Fazit

Zur Beurteilung der Frage, ob die im Ringversuch getestete Methode für die Bestimmung von Ochratoxin A in Kakaopulver geeignet ist, wurden die von uns ermittelten Werte für die Vergleichbarkeit (RSD_b = Relative Standard deviation of reproducibility) und Wiederholbarkeit (RSD_r = Relative Standard deviation of repeatability) mit den Vorgaben eines Working Document der Europäischen Kommission verglichen [3].

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die im Rahmen dieser Arbeit ermittelten statistischen Daten im wesentlichen den Anforderungen der Europäischen Kommission an eine Analysenmethode zur Bestimmung von OTA in Lebensmitteln entsprechen. Insbesondere für den unteren bis mittleren Konzentrationsbereich ist die Methode somit zur Bestimmung von Ochratoxin A in Kakao als gut geeignet anzusehen. Im höheren Kontaminationsbereich (im vorliegenden Fall bei einem Gesamtmittelwert von 3,4 µg/kg OTA) liegt einer der geforderten Qualitätsparameter (RSD_b) außerhalb des tolerierbaren Bereiches.

Literatur

- [1] Petzinger E (1998) Ochratoxin A aus toxikologischer Sicht. Getreide Mehl Brot 52:358-361
- [2] Deutsche Forschungsgemeinschaft (1990) Ochratoxin A – Vorkommen und toxikologische Bewertung. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim
- [3] Draft Commission directive of laying down the sampling methods and the methods of analysis for the official control of the levels of Ochratoxin A in foodstuffs, SANCO/0476/00-rev. 2, Brüssel, 16.02.2000