

# LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

» Die Lebensmittel-Kompetenz 

zu ihrer Sicherheit  
zählen wir die Erbsen.



  
LEBENSMITTELVERSUCHSANSTALT  
www.lva.co.at  
Die Lebensmittel - Kompetenz.

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt www.lva.co.at | Dr. Michael Gartner

**Entwicklung und Optimierung einer  
Methode zur Extraktion und Bestimmung  
von Mykotoxinen in Lebensmitteln mittels  
LC-MS/MS**

Forum Analytik  
Mittwoch 10. Februar 2010  
Michael Gartner  
LVA GmbH

  
LEBENSMITTELVERSUCHSANSTALT

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

# LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

## Inhalt

1. Mykotoxine und lebensmittelrechtliche Aspekte
2. Status Quo der Analytik
3. Multimethoden
4. Entwicklung einer Methode für relevante Mykotoxine
5. Optimierung und Validierung der Methode
6. Zusammenfassung und Ausblick

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt



## Was sind Mykotoxine

Mykotoxine sind natürliche, sekundäre Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen die toxische Wirkung gegenüber Tieren und Menschen haben.

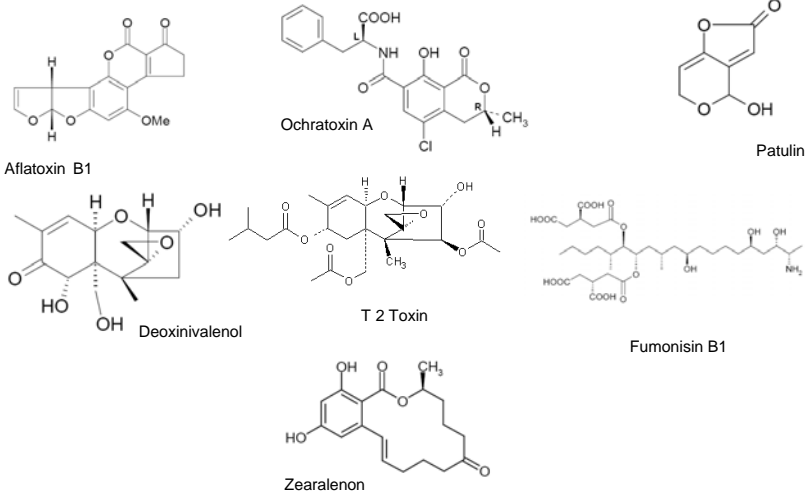


Die Klassifizierung erfolgt entweder aufgrund einer ähnlichen Molekularstruktur oder nach den sie produzierenden Schimmelpilzgattungen

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt



## Welche Mykotoxine sind relevant



» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

**LVA**  
LEBENSMITTELVERSUCHSANSTALT

## Rechtliche Aspekte - Kontaminanten VO (EG) Nr. 1881/2006

Lebensmittel	DON	ZON	Fum B1 & B2	T-2 & HT-2*
Getreide - unverarbeitet	1250 ppb	100 ppb		100 ppb
Mais - unverarbeitet	1750 ppb	350 ppb	4000 ppb	
Getreide - unmittelbarer Verzehr	750 ppb	75 ppb		
Mais - basierende Produkte		100 ppb	1000 ppb	
Mais - Snacks, Frühstückscerealien		100 ppb	800 ppb	
Brot, Backwaren	500 ppb	50 ppb		
Hafer - unverarbeitet				500 ppb
Braugerste				200 ppb
Maismahlfraktion > 500 µm	750 ppb	200 ppb	1400 ppb	
Maismahlfraktion < 500 µm	1250 ppb	300 ppb	2000 ppb	
(Getreide)Beikost für Säuglinge	200 ppb	20 ppb	200 ppb	50 ppb
Beikost auf Maisbasis für Säuglinge		20 ppb	200 ppb	
Kindernahrungsmittel				100 ppb
Diätetische Nahrungsmittel für Kinder				500 ppb
Diätetische Nahrungsmittel ohne Gluten				100 ppb

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

**LVA**  
LEBENSMITTELVERSUCHSANSTALT

# LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

## Rechtliche Aspekte - Kontaminanten VO (EG) Nr. 1881/2006

Lebensmittel	Afla B1	Summe Afla	OTA	Patulin
Getreide - unverarbeitet			5 ppb	
Getreide, -erzeugnisse - verarbeitet	2 ppb	4 ppb	3 ppb	
Mais - Sortierung vor Verzehr	5 ppb	10 ppb		
Trockenfrüchte - Sortierung vor Verzehr	5 ppb	10 ppb		
Trockenfrüchte - direkter Verzehr	2 ppb	4 ppb	8-10 ppb	
Getrocknete Weintrauben			10 ppb	
Schalenfrüchte - Sortierung vor Verzehr	5 ppb	10 ppb		
Erdnüsse, Schalenfrüchte – dir. Verzehr	2 ppb	4 ppb		
Erdnüsse - Sortierung vor Verzehr	8 ppb	15 ppb		
Gewürze	5 ppb	10 ppb	10 ppb	
gerösteter Kaffee (Bohnen od. gemahlen)			5 ppb	
Löslicher Kaffee			10 ppb	
Wein			2 ppb	
Traubensaft			2 ppb	
(Getreide)Beikost für Säuglinge	0,1 ppb		0,5 ppb	
Diätetische Lebensmittel für Säuglinge	0,1 ppb		0,5 ppb	
Fruchtsäfte				50 ppb
Spirituosen				50 ppb
Apfelerzeugnisse - fest, direkter Verzehr				25 ppb
Apfelsaft, -erzeugnisse für Säuglinge				10 ppb
Beikost (nicht Getreide-) für Säuglinge				10 ppb

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

**LVA**  
LEBENSMITTELVERSUCHSANSTALT

## Status quo der Analytik

Substanz	HPLC-FLD	HPLC-UV	HPLC-MS	TLC	GC-ECD	GC-MS	Elisa
AflaB1	x		(x)				x
AflaB2	x		(x)				x
AflaG1	x		(x)				x
AflaG2	x		(x)				x
FumB1	x		x	x		x	x
FumB2	x		x	x		x	x
OTA	x		(x)	x		x	x
HT-2	x	x	x		x	x	x
T-2	x	x	x		x	x	x
DON	x	x	x		x	x	x
NIV	x	x	x		x	x	x
3-AcDON	x	x	x		x	x	x
15-AcDON	x	x	x		x	x	x
PAT		x	x			x	
ZON	x		x	x	x	x	

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

**LVA**  
LEBENSMITTELVERSUCHSANSTALT

## Ziel der Methodenentwicklung

Ziel der Arbeit war die Ausarbeitung eines Extraktions- und Analysenverfahrens zum simultanen Nachweis von gesetzlich geregelten Mykotoxinen. Das Verfahren sollte nach entsprechender Validierung die Mykotoxine AflaB1, AflaB2, AflaG1, AflaG2, OTA, DON, 3-AcDON, 15-AcDON, T-2, HT-2, ZON, FumB1 und FumB2 in unterschiedlichen Lebensmitteln quantitativ bestimmen zu können und zur Akkreditierung eingereicht werden.



» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

## Multimethoden

Quellen	Substanzen	Probenmatrices	Endbestimmung	Probeneinwaage/ Volumen des Extraktionsmittels	Extraktionsmittel	Clean-up
Sulyok 2007 B	87 Analyten	verschimmelte Lebensmittel	LC-MS/MS	0,5 g + 2 ml	ACN/H <sub>2</sub> O/HAc (79+20+1)	nein
Sulyok 2006	39 Analyten	Weizen, Mais	LC-MS/MS	0,5 g + 2 ml	ACN/H <sub>2</sub> O/HAc (79+20+1)	nein
Berthiller 2005	Trichothecene, ZON	Mais	LC-MS/MS	10 g + 40 ml	ACN/H <sub>2</sub> O (84+16)	Mycosep® 226
Berthiller 2007	ca. 90 Analyten	Getreide	LC-MS/MS	0,5 g + 2 ml	ACN/H <sub>2</sub> O/HAc (79+20+1)	nein
Mol 2008	Mykotoxine, Pestizide	Lebensmittel, Futtermittel	UPLC-MS/MS	2,5 g + 10 ml 2,5 g + 15 ml + 5 ml	ACN/H <sub>2</sub> O (84+16) MeOH/H <sub>2</sub> O, Aceton/H <sub>2</sub> O	nein nein
Cavaliere 2005	B-Trichothecene	Mais	LC-MS/MS	1 g + 10 ml	ACN/H <sub>2</sub> O (75+25)	Carbograph-4 cartridge
Razzazi-Fazeli 2002	A-Trichothecene	Getreide	LC-APCI-MS	25 g + 100 ml	ACN/H <sub>2</sub> O (84+16)	Mycosep® 227, 216
Silva 2009	FumB1, FumB2	Getreide-Lebensmittel	LC-FLD od. MS	25 g + 40 ml	MeOH/H <sub>2</sub> O (80+20)	FumoniTest TM IAC
Bacaloni 2007	AflaB1, B2, G1, G2	Haselnüsse	LC-MS/MS	1 g + 20 ml	ACN/H <sub>2</sub> O (80+20) od. MeOH/H <sub>2</sub> O (80+20)	Carbograph-4 SPE
Binder 2007	Trichothecene, ZON, AflaB1, B2, G1, G2 DON OTA FumB1, FumB2	Getreide Getreide Getreide Getreide	LC-FLD od. MS LC-FLD od. MS LC-FLD od. MS LC-FLD od. MS	25 g + 100 ml 25 g + 100 ml 25 g + 100 ml 25 g + 100 ml	ACN/H <sub>2</sub> O (84+16) ACN/H <sub>2</sub> O (90+10) ACN/H <sub>2</sub> O (60+40) ACN/H <sub>2</sub> O (50+50)	Mycosep® 227, 226 Mycosep® 227, 216 Ochrastar MultiSep® 211
Romer Labs	DON Trichothecene, ZON AflaB1, B2, G1, G2	Getreide Getreide Getreide	HPLC-UV LC-MS HPLC-FLD	25 g + 100 ml 25 g + 100 ml 25 g + 100 ml	MeOH/H <sub>2</sub> O (80+20) ACN/H <sub>2</sub> O (84+16) MeOH/H <sub>2</sub> O (80+20)	Mycosep® 225, 227 Mycosep® 227, 226, 216 Mycosep® 226 AflaZON+
LVA - bestehende "in-house" Methoden	AflaB1, B2, G1, G2 OTA PAT DON	Getreide, Nüsse etc. Kaffee, Trockenobst Fruchtsäfte Getreide, Brot etc.	HPLC-FLD HPLC-FLD HPLC-UV LC-MS Trap	50 g + 250 ml 5 od. 10 g + 100 ml 25 g + 100 ml 25 g + 100 ml	MeOH/H <sub>2</sub> O (150+100) 1% NaHCO <sub>3</sub> ACN/H <sub>2</sub> O (84+16) ACN/H <sub>2</sub> O (84+16)	Aflaprep Ochrastar Extrelut Mycosep® 227 MultiSep® 226
Agilent	AflaB1, B2, G1, G2	Getreide, Nüsse, etc.	LC-MS/MS	20 g + 40 ml	ACN/H <sub>2</sub> O (84+16)	MultiSep® 226



» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

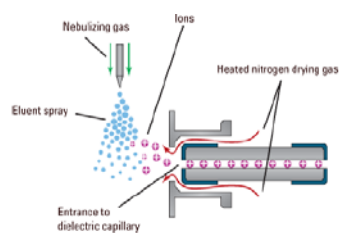
## Massenspektrometrische Optimierung

1. Optimierung der Fragmentorspannung
2. Generieren von Produktionen
3. Einfluss von Puffer auf die Ionisierung und Ionenausbeute
4. Chromatographie

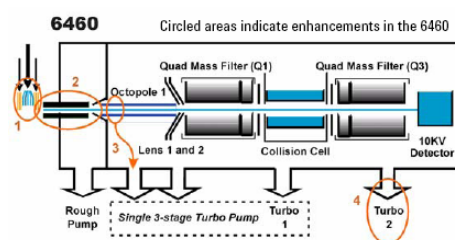
» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt



## Massenspektrometrische Optimierung



Orthogonale Anordnung beim Probeneinlass und Electrospray Ionisierung  
Quelle: Agilent 6400 Series Triple Quad LC/MS System, Concepts Guide

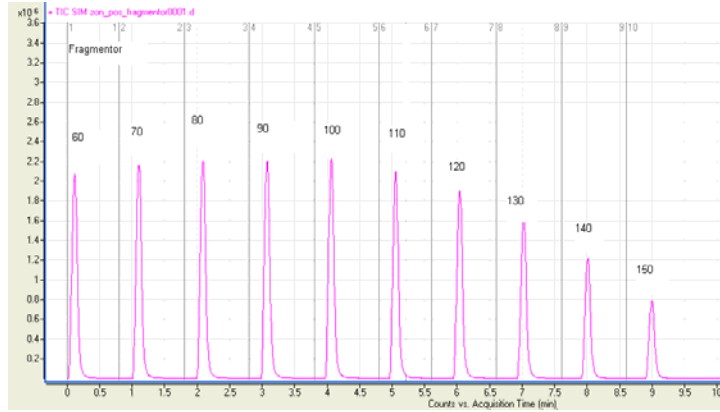


Ionenquelle (ESI), Ionenoptik, erster Quadrupol Massenfilter (Q<sub>1</sub>), Kollisionszelle (Q<sub>2</sub>), dritter Quadrupol Massenfilter (Q<sub>3</sub>), Detektor

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt



## MS Parameter - Fragmentorspannung

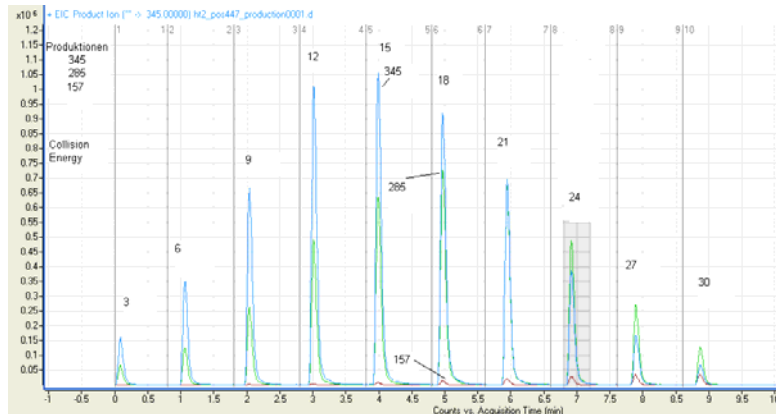


**Optimierung der Fragmentorspannung für die Bestimmung von Zearalenon**  
Fragmentorspannung getestet zwischen 60 und 150 V (Intensitätsmaximum liegt bei 80 V, allerdings sind die Werte zwischen 70 und 100 V beinahe gleich)

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

**LVA**  
LEBENSMITTELVERSUCHSANSTALT

## MS Parameter Kollisionsenergie



**Ergebnis der Optimierung der Produkt-Ionen von HT-2 Toxin**  
Optimierung der Produkt-Ionen-Intensitäten durch Variation der Kollisionsenergie zwischen 3 und 30 V; Produkt-Ionen mit m/z-Verhältnissen 345 (CE 15 V) und 285 (CE 18 V)

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

**LVA**  
LEBENSMITTELVERSUCHSANSTALT

# LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

## Vergleich der für verschiedene Addukte erwarteten Signalintensitäten (ohne Puffer)

Mykotoxin	Nominalmasse [g/mol]	Scan pos m/z-Verhältnis	Signalintensität	%	Scan neg m/z-Verhältnis	Signalintensität	%
DON	296	319 [M + Na] <sup>+</sup>	7,50E+05	100%	341 [M + HCOO] <sup>-</sup>	4,00E+05	53%
		297 [M + H] <sup>+</sup>	1,90E+05	25%	295 [M - H] <sup>-</sup>	5,00E+04	7%
ZON	318	319 [M + H] <sup>+</sup>	1,40E+06	16%	317 [M - H] <sup>-</sup>	8,50E+06	100%
		341 [M + Na] <sup>+</sup>	1,40E+05	2%			
AflaB1	312	335 [M + Na] <sup>+</sup>	8,00E+06	100%	311 [M - H] <sup>-</sup>	4,40E+03	0,1%
		313 [M + H] <sup>+</sup>	2,00E+06	25%			
OTA	403	404 [M + H] <sup>+</sup>	1,90E+06	79%	402 [M - H] <sup>-</sup>	2,40E+06	100%
		426 [M + Na] <sup>+</sup>	1,80E+06	75%			
FumB2	705	706 [M + H] <sup>+</sup>	4,70E+04	100%	704 [M - H] <sup>-</sup>	5,00E+02	1%
		750	1,80E+03	4%			
HT-2	424	447 [M + Na] <sup>+</sup>	9,50E+06	100%	469 [M + HCOO] <sup>-</sup>	6,50E+05	7%
		425 [M + H] <sup>+</sup>	2,10E+05	2%			

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt



## Vergleich der für verschiedene Addukte erwarteten Signalintensitäten (mit Puffer)

Mykotoxin	Nominalmasse [g/mol]	Scan pos m/z-Verhältnis	Signalintensität	%	Scan neg m/z-Verhältnis	Signalintensität	%
DON	296	319 [M + Na] <sup>+</sup>	1,20E+05	38	341 [M+HCOO] <sup>-</sup>	1,30E+05	41
		297 [M + H] <sup>+</sup>	3,20E+05	100	295 [M - H] <sup>-</sup>	1,50E+04	5
ZON	318	319 [M + H] <sup>+</sup>	1,30E+06	13	317 [M - H] <sup>-</sup>	1,00E+07	100
		341 [M + Na] <sup>+</sup>	1,70E+05	2			
AflaB1	312	335 [M + Na] <sup>+</sup>	3,60E+06	21	329	9,00E+04	0,5
		313 [M + H] <sup>+</sup>	1,70E+07	100			
OTA	403	404 [M + H] <sup>+</sup>	1,50E+06	100	402 [M - H] <sup>-</sup>	4,20E+05	28
		426 [M + Na] <sup>+</sup>	5,50E+05	37			
FumB1	721	722 [M + H] <sup>+</sup>	1,80E+06	100	720 [M - H] <sup>-</sup>	2,30E+05	13
		744 [M + Na] <sup>+</sup>	3,00E+05	17			
HT-2	424	447 [M + Na] <sup>+</sup>	2,40E+06	100	469 [M+HCOO] <sup>-</sup>	4,00E+05	17
		442 [M + NH4] <sup>+</sup>	1,80E+05	8			
		425 [M + H] <sup>+</sup>	1,40E+05	6			

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt





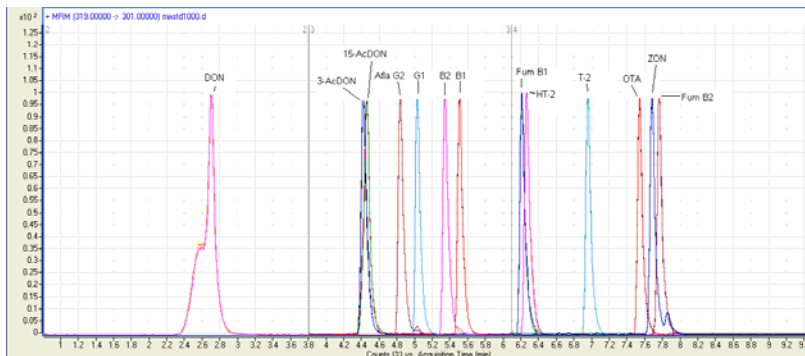
## Optimierte MS Parameter

Substanz	Nominalmasse [g/mol]	Precursor-Ion	Modus	Fragmentor - Spannung [V]	Produkt-Ionen	CE-Spannung [V]
DON	296	297 [M + H] <sup>+</sup>	positiv	70	203 249	6 6
ZON	318	319 [M + H] <sup>+</sup>	positiv	80	283 301	6 3
AflaB1	312	313 [M + H] <sup>+</sup>	positiv	80	285 241	21 39
AflaB2	314	315 [M + H] <sup>+</sup>	positiv	120	287 259	24 30
AflaG1	328	329 [M + H] <sup>+</sup>	positiv	100	243 200	24 42
AflaG2	330	331 [M + H] <sup>+</sup>	positiv	130	245 313	27 24
OTA	403	404 [M + H] <sup>+</sup>	positiv	90	239 358	21 9
FumB1	721	722 [M + H] <sup>+</sup>	positiv	150	334 352	45 39
FumB2	705	706 [M + H] <sup>+</sup>	positiv	160	336 318	39 42
HT-2	424	447 [M + Na] <sup>+</sup>	positiv	100	345 285	15 18
T-2	466	484 [M + NH <sub>4</sub> ] <sup>+</sup>	positiv	80	185 305	18 9
PAT	154	153 [M - H] <sup>-</sup>	negativ	60	81 109	

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

**LVA**  
LEBENSMITTELVERSUCHSANSTALT

## Optimierte HPLC Trennung



### SRM-Chromatogramm für die HPLC-Trennung der Toxine in einer Standardmix-Lösung

Konzentrationen der einzelnen Mykotoxine: 1,4 µg/l (für einen besseren Vergleich wurden die Peaks normalisiert, da sonst die B-Trichothecene kaum sichtbar gewesen wären)

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

**LVA**  
LEBENSMITTELVERSUCHSANSTALT

## Extraktionsausbeuten (50 ppb Level)

BIO WEIZEN	Blank (ACN) [µg/kg]		dotiert (ACN) [µg/kg]		Blank (MeOH) [µg/kg]		dotiert (MeOH) [µg/kg]	
	Mw1	Mw2	Mw1	Mw2	Mw1	Mw2	Mw1	Mw2
DON	242	261	292	291	194	186	206	209
3-AcDON	-	-	50,9	50,2	-	-	25,5	25,5
15-AcDON	-	-	49,3	47,8	-	-	25,5	23,6
AflaG2	<0,1	<0,1	48,3	49,5	-	-	4,8	4,8
AflaG1	0,4	0,4	40	40,2	<0,1	<0,1	5	4,6
AflaB2	<0,1	<0,1	45,2	45,7	<0,1	<0,1	7,8	7,4
AflaB1	0,6	0,6	39,6	39,2	0,5	-	5,3	5,8
HT-2	9,4	7,3	42,6	40,0	5,1	3,6	20,5	21,7
T-2	<2	<2	56,3	59,4	<2	<2	6,6	7,5
ZON	-	-	50,6	50,6	-	-	18,4	19,8

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt



## Validierung

1. Auswahl der Matrices und Konzentrationen
2. Einfluss der Matrix auf die Ionisierung
3. Linearität
4. Wiederfindungen
5. Nachweis und Bestimmungsgrenzen
6. Ringversuche

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt



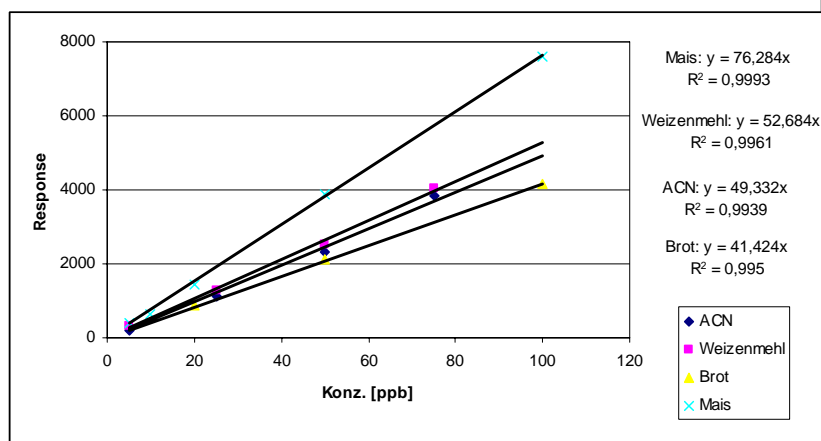
## Substanzbezogene Spikelevels des Wiederfindungstests

Spikes	Weizen [µg/kg]	Brot [µg/kg]	Mais [µg/kg]	Nüsse [µg/kg]	Tr.früchte [µg/kg]
Afla B1	0.2, 1, 2	0.2, 0.5, 1, 2	0.2, 1, 2	0.2, 2	0.2, 2
Afla B2	0.2, 1, 2	0.2, 1, 2	0.2, 1, 2	0.2, 2	0.2, 2
Afla G1	0.2, 1, 2	0.2, 0.5, 1, 2	0.2, 1, 2	0.2, 2	0.2, 2
Afla G2	0.2, 1, 2	0.2, 0.5, 1, 2	0.2, 1, 2	0.2, 2	0.2, 2
OTA	2, 10, 20	2, 10, 20	2, 10, 20		2, 20
DON	10, 20, 40, 100, 400	20, 40, 100, 400	10, 20, 40, 100, 400		
3-AcDON	10, 20, 40, 100, 400	20, 40, 100, 400	20, 40, 100, 400		
15-AcDON	10, 20, 40, 100, 400	20, 40, 100, 400	20, 40, 100, 400		
Fum B1	40, 100, 400	40, 100, 400	40, 100, 400		
Fum B2	40, 100, 400	40, 100, 400	40, 100, 400		
HT-2 Toxin	10, 20, 40, 100	10, 20, 40, 100	10, 20, 40, 100		
T-2 Toxin	10, 20, 40, 100	10, 20, 40, 100	10, 20, 40, 100		
ZON	10, 20, 40, 100	10, 20, 40, 100	10, 20, 40, 100		

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt



## Matrixeinfluß am Beispiel ZON



» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt



# LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

## Vergleich der Steigung k von Solvent und Matrix

Myc	ACN	Weizen		Mais		Brot		Rosinen		Nüsse	
	k <sub>ACN</sub>	k <sub>W</sub>	k <sub>W</sub> /k <sub>ACN</sub> [%]	k <sub>Mais</sub>	k <sub>M</sub> /k <sub>ACN</sub> [%]	k <sub>Brot</sub>	k <sub>B</sub> /k <sub>ACN</sub> [%]	k <sub>R</sub>	k <sub>R</sub> /k <sub>ACN</sub> [%]	k <sub>Nüsse</sub>	k <sub>N</sub> /k <sub>ACN</sub> [%]
Afla B1	753	1113	147,7	622,9	82,6	671	89,1	807	107,1	624	82,8
Afla B2	1586	2320	146,3	1116	70,3	1388	87,5	1625	102,4	1278	80,6
Afla G1	675	1019	150,9	519,1	76,8	620	91,7	745	110,3	473	70
AflaG2	1062	1686	158,8	847,9	79,8	960	90,5	1001	94,3	666	62,7
OTA	-	118	-	137,4	-	103	-	95,4	-		
DON	14	13,9	99,3	13	92,9	12,5	89,3				
ZON	49	52	106,9	76,3	154,8	41,4	84				
HT2-Toxin	262	249	95,2	194,5	74,2	205	78,5				
T2-Toxin	178	164	92,3	243,1	136,3	165	93				
Fum B1	2,3	8,5	369,6	8,6	373,9	7,9	343,5				
FumB2	5,8	16,9	291,4	26,7	460,3	15,8	272,4				

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt



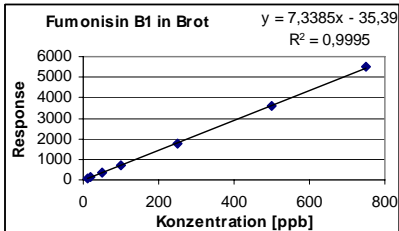
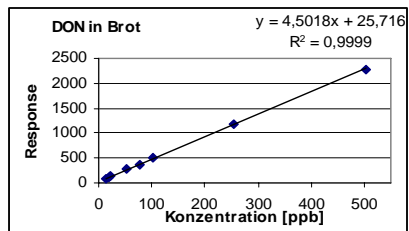
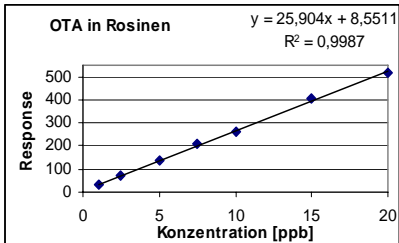
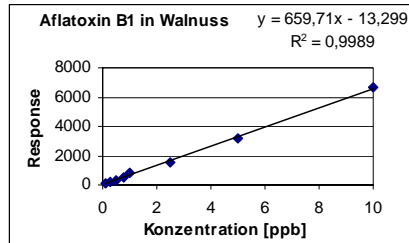
## Verwendung von Matrix Matched Standards

Substanz	Weizen	Mais	Brot	Rosinen	Nüsse
Afla B1	MMS	MMS	-	-	MMS
Afla B2	MMS	MMS	-	-	MMS
Afla G1	MMS	MMS	-	-	MMS
Afla G2	MMS	MMS	-	-	MMS
OTA	MMS	MMS	MMS	MMS	
DON	-	-	-		
3-AcDON	MMS	MMS	MMS		
15-AcDON	-	-	-		
ZON	-	MMS	-		
HT-2	-	MMS	MMS		
T-2	-	MMS	-		
Fum B1	MMS	MMS	MMS		
Fum B2	MMS	MMS	MMS		

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt



## Linearität



» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

**LVA**  
LEBENSMITTELVERSUCHSANSTALT

## Grundkalibrierung am Bsp Brot

$r$ ...Korrelationskoeffizient,  $s_y$ ...Reststandardabweichung,  $s_{x0}$ ...Verfahrensstandardabweichung,  $v_{x0}$ ...relative Verfahrensstandardabweichung

BROT	Funktion	r	$s_y$	$s_{x0}$	$v_{x0}$
Afla B1	$y = 498,53 x - 1,64$	0,9999	29,5	0,059	1,20
Afla B2	$y = 22,41 x - 29,67$	0,9990	38,7	1,73	4,89
Afla G1	$y = 451,85 x - 21,39$	0,9998	64,0	0,142	2,88
Afla G2	$y = 719,5 x - 21,89$	0,9999	65,0	0,090	1,84
OTA	$y = 33,16 x + 10,76$	0,9940	26,6	0,803	9,22
DON	$y = 4,50 x + 25,72$	0,9999	8,6	1,90	1,45
3-AcDON	$y = 8,49 x - 4,28$	0,9999	15,9	1,87	1,46
15-AcDON	$y = 6,59 x + 197,9$	0,9999	14,4	2,18	1,71
ZON	$y = 22,41 x - 29,7$	0,9990	38,7	1,73	4,89
HT-2	$y = 73,33 x + 49,15$	0,9996	69,5	0,947	2,68
T-2	$y = 57,25 x - 36,52$	0,9994	71,8	1,25	3,55
Fum B1	$y = 7,33 x - 35,39$	0,9997	53,5	7,28	3,04
Fum B2	$y = 14,58 x - 65,60$	0,9996	129,0	8,85	3,69

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

**LVA**  
LEBENSMITTELVERSUCHSANSTALT

# LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

## Wiederfindung

Die Wiederfindung in Prozentangabe wird in den folgenden Abbildungen verdeutlicht.

Dabei werden die Unterschiede der einzelnen Lebensmittelmatrices sichtbar.

Akzeptablen Wiederfindungsraten:

für Konzentrationen < 1 ppb 50 bis 130 %,

für 1 – 100 ppb 70 – 120 %

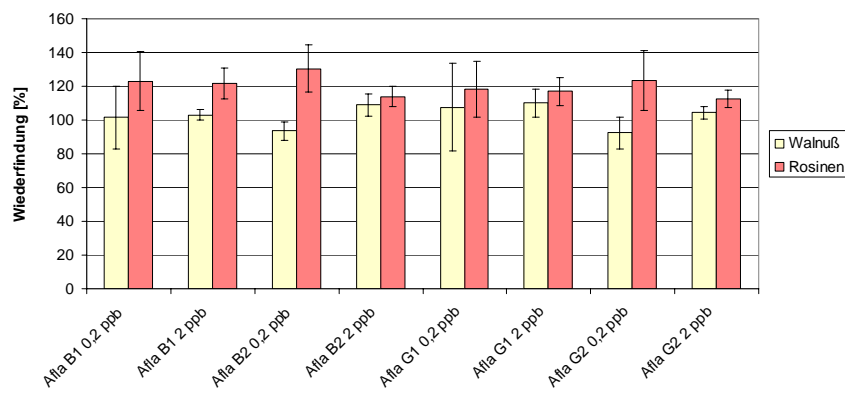
für > 100 ppb 80 – 110 %

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt



## Wiederfindung

Wiederfindung der Aflatoxine bei Nüssen und Trockenfrüchten

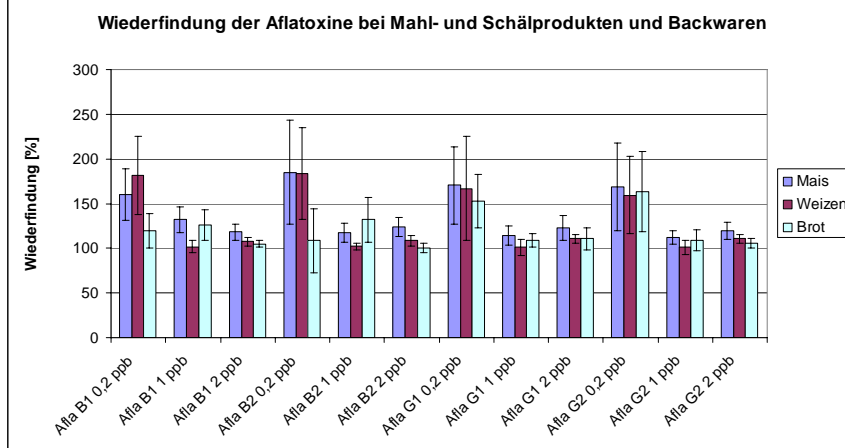


» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt



# LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

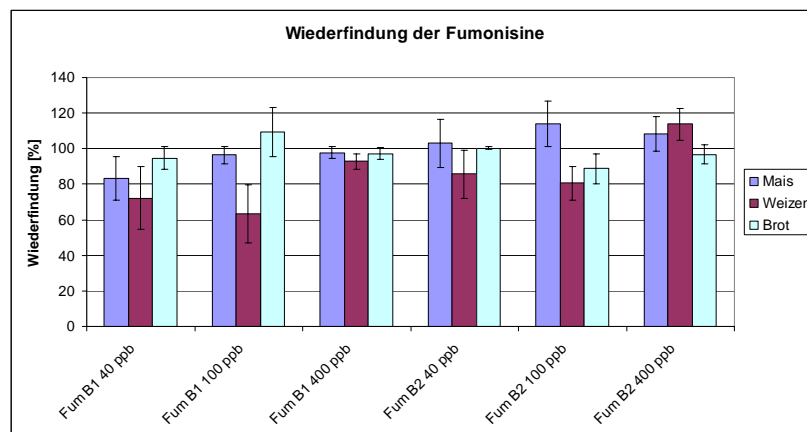
## Wiederfindung



» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt



## Wiederfindung

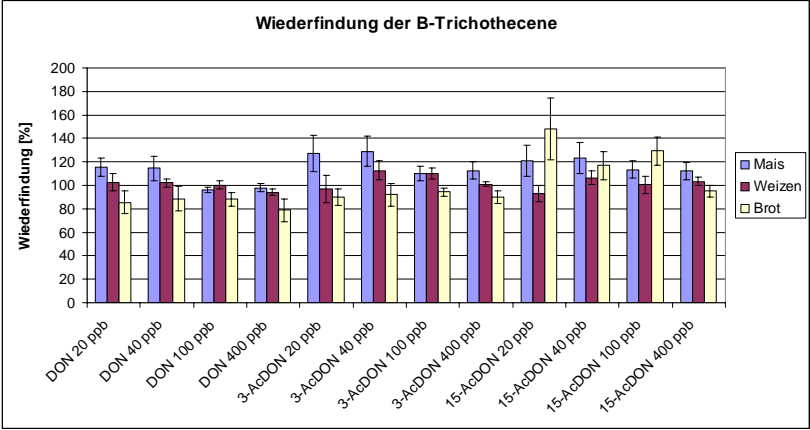


» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt



# LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

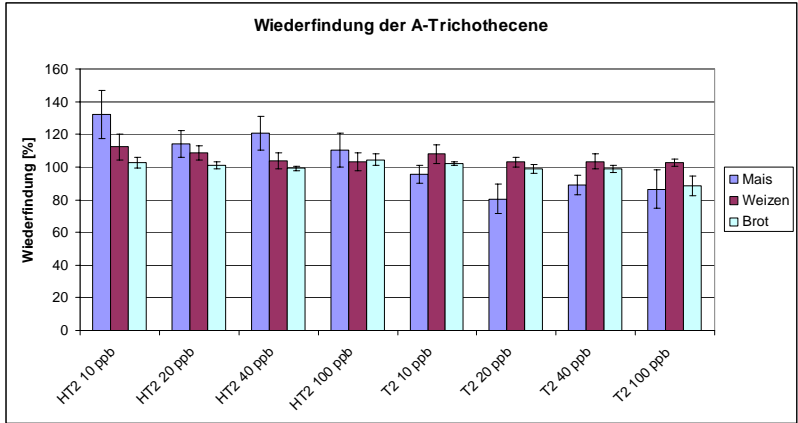
## Wiederfindung



» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt



## Wiederfindung



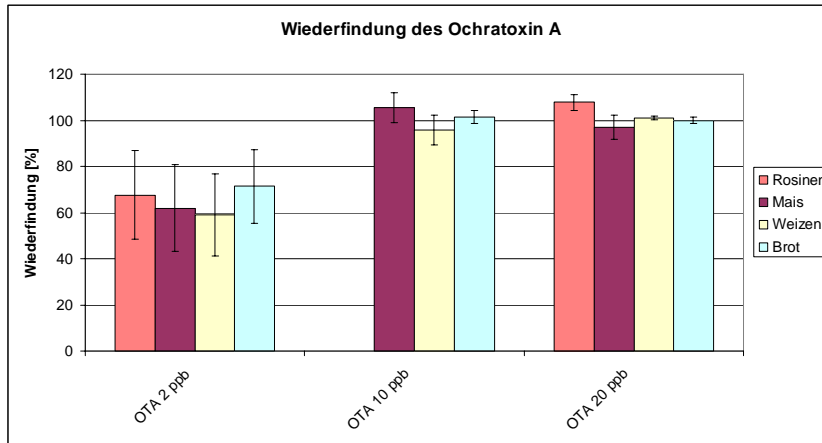
» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt





# LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

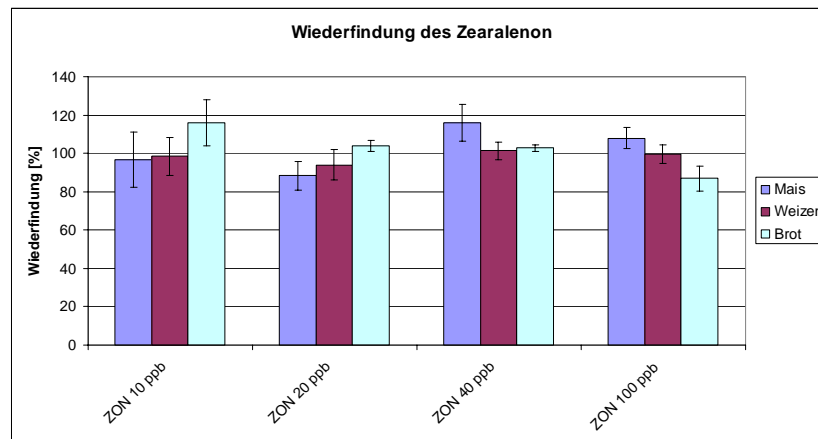
## Wiederfindung



» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

**LVA**  
LEBENSMITTELVERSUCHSANSTALT

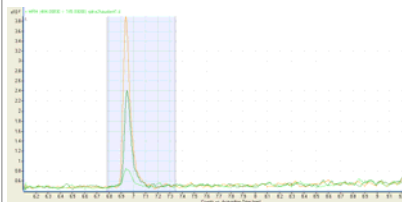
## Wiederfindung



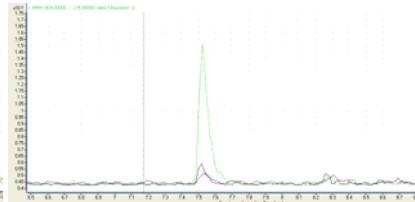
» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

**LVA**  
LEBENSMITTELVERSUCHSANSTALT

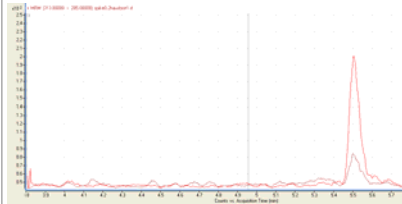
## Nachweis und Bestimmungsgrenzen



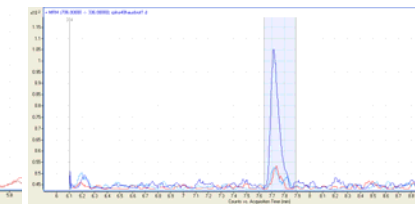
Matrix Brot, gespikt mit 2, 10 und 20 ppb T-2 Toxin



Matrix Brot, gespikt mit 0,2, 2 und 10 ppb OTA



Matrix Brot, gespikt mit 0,2 und 2 ppb Afla B1



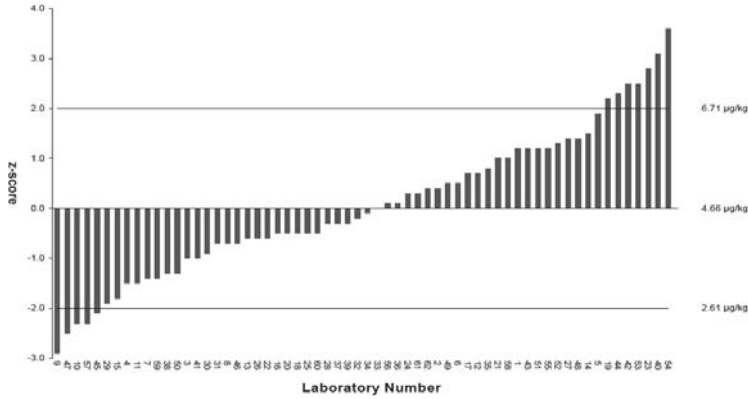
Matrix Brot, gespikt mit 10, 20 und 40 ppb Fum B2

## Erreichte BG der Mykotoxinsubstanzen

Substanz	Bestimmungsgrenze
Afla	0,1 – 0,2 ppb
OTA	2 ppb
DON	20 ppb
3-AcDON	20 ppb
15-AcDON	20 ppb
ZON	10 ppb
HT-2 Toxin	10 ppb
T-2 Toxin	10 ppb
Fum B1	40 ppb
Fum B2	40 ppb

# LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

## FAPAS Proficiency Test 1780 Ochratoxin A in Dried Vine Fruit (June – July 2009)

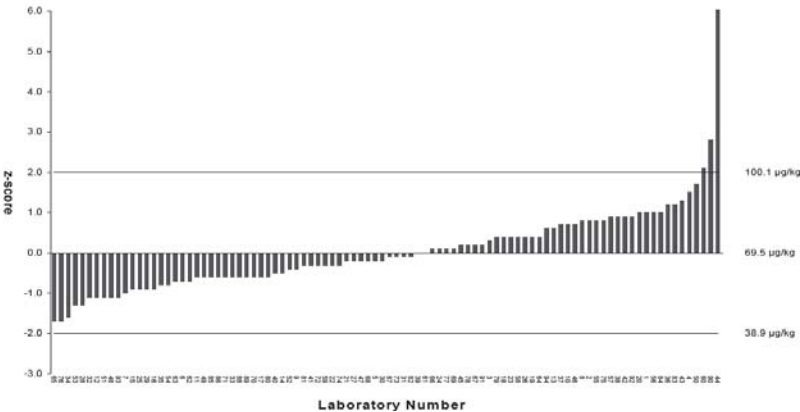


LVA (Labor 62) ermittelter Wert 5,04 µg/kg (z-Score 0,4)



» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

## FAPAS Proficiency Test 2257 Zearalenone in Breakfast Cereal (July – August 2009)



LVA (Labor 91) ermittelter Wert 72,8 µg/kg (z-Score 0,2)



» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

# LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

## Zusammenfassung und Ausblick

- Mycotoxinkontaminationen werden zukünftig noch stärker geregelt
- Der Bedarf an leistungsfähigen akkreditierten Methoden steigt
- Multimethoden können den Anspruch der Verhältnismäßigkeit erfüllen
- HPLC ist das geeignete Trennverfahren für diese heterogenen Substanzgruppen
- Tandem Massenspektrometrie ist das geeignete Messverfahren für hohen Probendurchsatz und geringes clean up

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt



## Danksagung an die Beteiligten

DI Eva Guhsl

Dr. Céline Lesueur Entwicklungsleiterin der LVA

DI Patrik Knittl Leiter der Rückstandsanalytik der LVA und seinem Team

Univ. Prof. DI Dr. Wolfgang Kneifel vom LQS der Universität für Bodenkultur

Ao. Univ. Prof. Dipl.-Chem. Dr. Rainer Schuhmacher Analytikzentrum IFA Tulln

Österreichischen Forschungsförderungsgesellschaft (FFG) Förderung des Projekts „Entwender Mykotoxinanalysenverfahren“



FFG



» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt



# LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

**Entwicklung und Optimierung einer Methode zur  
Extraktion und Bestimmung von Mykotoxinen in  
Lebensmitteln mittels LC-MS/MS**

**Danke für Ihre Aufmerksamkeit**

**Kontakt:** Michael Gartner LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt Blasstr.29  
1190 Wien  
**Tel.:** 01-3688555-513  
**Email:** michael.gartner@lva.co.at

» LVA GmbH und Lebensmittelversuchsanstalt

