



Juli 2017

## Aflatoxine B/G und Ochratoxin A in gepuffter Hirse ~ 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](mailto:mycotoxins@LCTech.de)

### Probenvorbereitung

### MYKOTOXINE

#### Die Hirse

Hirse gehört zu der Familie der Süßgräser (*Poaceae*) und wird überwiegend in tropischen und subtropischen Gebieten angebaut. Weltweit existieren über 600 Hirse-Arten. Die Farbe variiert dabei je nach Art zwischen weißgrau, gelb und rotbraun. Die winzig kleinen Hirsekörner liefern eine hohe Nährstoffdichte, sind vollkommen glutenfrei und eine wunderbare Zutat für eine schnelle Küche. In vielen Teilen Afrikas und Asiens gehört Hirse sogar zu den wichtigsten Grundnahrungsmitteln.

Mittlerweile wird Hirse auch in vielen europäischen Ländern, darunter auch Deutschland, angebaut. Beim Import werden jedoch nicht immer unsere Qualitätsansprüche erfüllt. Dies zeigen Grenzkontrollen der EU, bei denen zu hohe Aflatoxin und Ochratoxin A Werte immer wieder zu Zurückweisungen führen.



*Alles in einem – schnell und effizient*

#### **Kombinierte Immunoaffinitätssäule Afla-OtaCLEAN zur Aufreinigung von Mykotoxinen**

Aflatoxine 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, so auch in der Hirse. Um die Arbeit zu erleichtern und die Arbeitszeit zu halbieren, bietet es sich an, die Extrakte in einem Arbeitsgang auf mehrere Mykotoxine zu untersuchen. Aus diesem Grund hat LCTech die kombinierte Immunoaffinitätssäule Afla-OtaCLEAN zur Aufreinigung von Aflatoxin B1, B2, G1, G2 und Ochratoxin A entwickelt. Da LCTech sowohl die Antikörper als auch die Aufreinigungssäulen produziert, stellen umfangreiche Qualitätstests während des gesamten Produktionsprozesses die hohe Produktqualität sicher.

Alle Aufreinigungssäulen sind für die automatisierte Bearbeitung, z. B. mit dem Robotiksystem FREESTYLE SPE oder FREESTYLE ThermELUTE™ geeignet. Zeitaufwendige Applikationen sind für das FREESTYLE System kein Problem. Zuverlässig und konsequent werden auch diese Aufgaben am Tag, in der Nacht und am Wochenende bearbeitet. Das FREESTYLE SPE kann neben den LCTech Immunoaffinitäts- und SPE-Säulen für alle Arten von Mykotoxin-Säulen der führenden Hersteller eingesetzt werden.

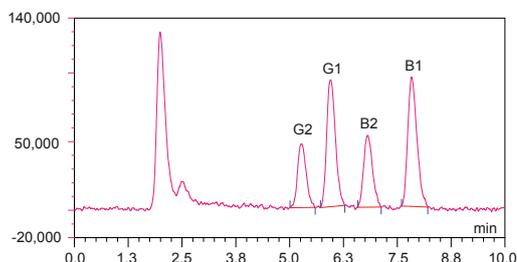
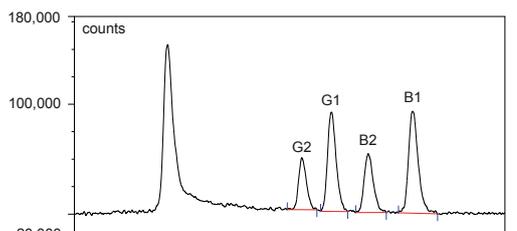
Immunoaffinitätssäulen Afla-OtaCLEAN

## Protokoll zur manuellen Bearbeitung

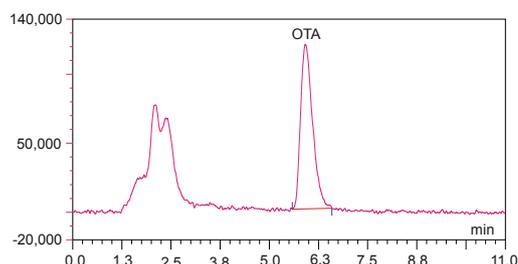
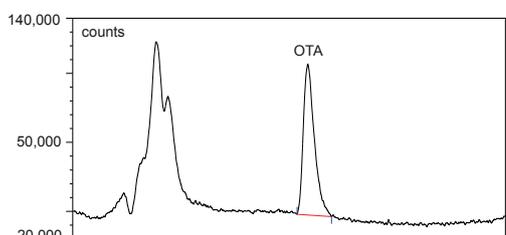
Versetzen Sie 10 g homogenisierte Hirse mit 2 g Natriumchlorid und extrahieren Sie die Mischung durch 100 mL Methanol/Wasser (80/20 (v/v)) und 50 mL n-Hexan, um Fette und Öle zu entfernen. Führen Sie die Extraktion für mindestens 10 Minuten durch.

Filtern Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie 2 mL davon mit 12 mL PBS (enthält 8 % Tween). Laden Sie die Probe vollständig auf eine Immunoaffinitätssäule Afla-OtaCLEAN. Spülen Sie anschließend das Probengefäß mit 2 x 5 mL deionisiertem Wasser und laden Sie diese Lösung ebenfalls auf die Säule.

Trocknen Sie die Säule und eluieren Sie mittels 2 mL Methanol. Achten Sie dabei darauf, dass das Methanol in das Säulenbett einfließt und mindestens 5 Minuten inkubiert, um die Antikörper-Toxinbindung vollständig aufzulösen. Verdünnen Sie die Probe auf HPLC-Laufmittelverhältnisse und messen diese anschließend.



Schwarz: gepuffte Hirse 10 ppb  
Rot: Aflatoxin Standard 10 ppb (2 ng / 2 mL)



Schwarz: gepuffte Hirse 10 ppb  
Rot: Ochratoxin A Standard 10 ppb (2 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 10544)	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

Gehalte an Aflatoxin B/G und Ochratoxin A in gepuffter Hirse

Aflatoxine B/G / Ochratoxin A	B1	B2	G1	G2	OTA
Standard*	100	100	100	100	100
Wiederfindungsraten** gepuffte Hirse, 10 ppb	94	101	94	94	88

\*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, Immunoaffinitätssäule  
für Aflatoxine B/G und Ochratoxin A  
P/N 11022 / 11771

HPLC Trennsäule RP C-18  
P/N 10544

UVE, Photochemischer Reaktor  
P/N 10519

FREESTYLE SPE, Robotiksystem  
für die automatisierte Probenvorbereitung  
P/N 12663 / 12668

