



Januar 2019

Aflatoxin B/G und Ochratoxin A in Putenaufzuchtfutter ~ 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

Das Putenfleisch

Als Gulasch, Spieß oder Steak - Putenfleisch gehört zu den beliebtesten Fleischsorten der Deutschen. Es ist nicht nur vielseitig einsetzbar und kinderleicht zuzubereiten, sondern liefert uns auch viel hochwertiges Eiweiß, lebenswichtiges Eisen, B-Vitamine und Mineralstoffe. Zusätzlich enthält es einen hohen Anteil an Niacin und regt somit den Stoffwechsel an. Darüber hinaus ist Putenfleisch kalorien- und fettarm.

Um die gute Qualität unseres Fleisches aber auch die Tiergesundheit zu erhalten, spielt vor allem das Futtermittel, wie in diesem Fall Putenaufzuchtfutter, eine entscheidende Rolle. Mykotoxine im Futtermittel können zu erheblichen Ertrags- und Qualitätseinbußen in der Landwirtschaft führen, da sie große Auswirkungen auf die Gesundheit der Tiere haben. Selbst durch Getreidestaub können Mykotoxine ins Futter gelangen und die Qualität dadurch mindern.

Automatisierte Probenvorbereitung mit FREESTYLE SPE

Damit wir unsere Lebensmittel weiterhin mit gutem Gewissen verzehren können, entwickelt und vertreibt LCTech bereits seit 1998 Produkte und Methoden für die Vorbereitung und Analyse von Lebens- und Futtermitteln sowie Umweltproben.

Die Produktpalette umfasst halb- und vollautomatisierte Probenvorbereitungssysteme und Verbrauchsmaterialien für die Analytik von Kontaminationen und Rückständen.

Das automatisierte Robotiksystem FREESTYLE SPE zum Beispiel, bietet einzigartige Möglichkeiten für die Probenvorbereitung per Festphasenextraktion (SPE). Jede manuelle SPE-Methode, die sich bereits im Labor bewährt hat, lässt sich einfach und schnell automatisieren. Führen Sie einfach die auf der nachfolgenden Seite beschriebenen vorbereiteten Bearbeitungsschritte durch. Positionieren Sie die Probe anschließend im FREESTYLE SPE, parametrieren Sie in der Software mit wenigen Mausklicks die Methode und starten Sie das System - fertig.



Bearbeitungsprotokoll

Homogenisieren Sie 10 g Putenaufzuchtfutter und versetzen Sie es mit 1 g Natriumchlorid. Extrahieren Sie anschließend 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 besonders hoher Extraktionseffizienzen, führen Sie die Extraktion für mindestens 10 Minuten durch.

Filtern Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie 10 mL davon mit 64,5 mL PBS. Führen Sie eine weitere Filtration durch, um mögliche Präzipitationen zu entfernen.

Laden Sie 50 mL der Probe (entsprechen 1,4 g Matrix) auf eine Afla-OtaCLEAN Säule für die Aufreinigung beider Toxine auf einmal oder einzeln je nach Toxin auf eine AflaCLEAN oder OtaCLEAN Säule. Waschen Sie die Säule im Anschluss mit 10 mL deionisiertem Wasser.

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

Verdünnen Sie das Eluat auf Laufmittelverhältnisse und messen Sie es mittels HPLC mit Fluoreszenz-Detektion oder LC-MS.

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 EC 125/3 120-3 C18 oder 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
Fluoreszenzdetektion:	Derivatisierung mit UVE Photochemischer Reaktor	Ohne Derivatisierung
Anregungswellenlänge:	365 nm	335 nm
Emmissionswellenlänge:	460 nm	465 nm

Wiederfindungen

Gehalte an Aflatoxin B/G in Putenaufzuchtfutter

Aflatoxin	B1	B2	G1	G2
Standard*	100	100	100	100
Wiederfindungsraten** Putenaufzuchtfutter, 20 ppb (Afla-OtaCLEAN)	100	98	104	91
Wiederfindungsraten** Putenaufzuchtfutter, 20 ppb (AflaCLEAN)	102	100	102	90
Wiederfindungsraten** Putenaufzuchtfutter, 40 ppb (Afla-OtaCLEAN)	94	93	98	92
Wiederfindungsraten** Putenaufzuchtfutter, 40 ppb (AflaCLEAN)	94	94	100	87

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

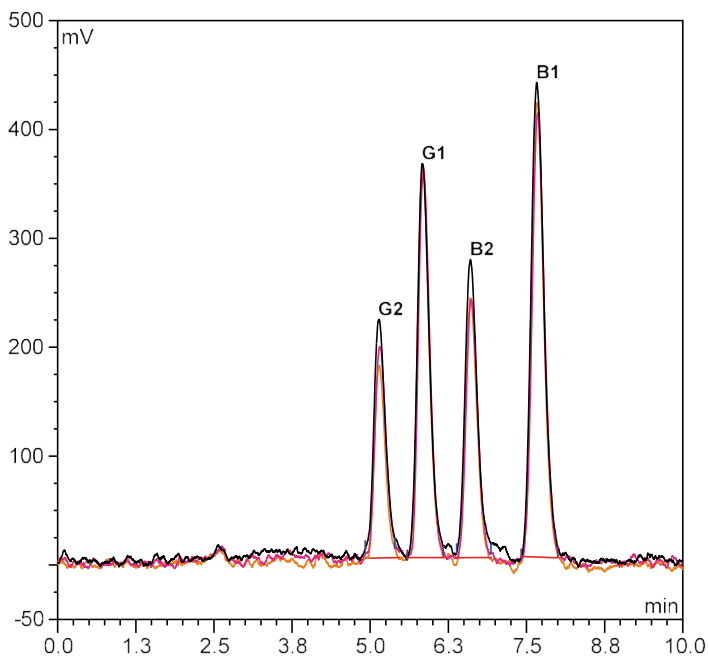
Wiederfindungen

Gehalte an Ochratoxin A in Putenaufzuchtfutter

Mykotoxin	Ochratoxin A
Standard*	100
Wiederfindungsraten** Putenaufzuchtfutter, 20 ppb (Afla-OtaCLEAN)	91
Wiederfindungsraten** Putenaufzuchtfutter, 20 ppb (OtaCLEAN)	87
Wiederfindungsraten** Putenaufzuchtfutter, 40 ppb (Afla-OtaCLEAN)	91
Wiederfindungsraten** Putenaufzuchtfutter, 40 ppb (OtaCLEAN)	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)

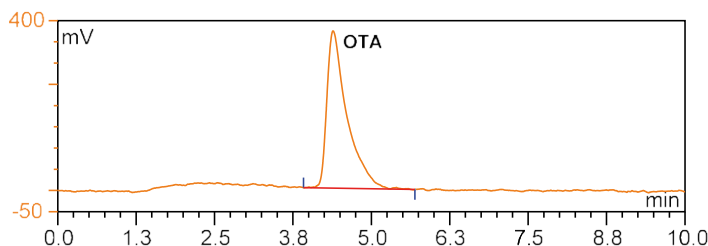
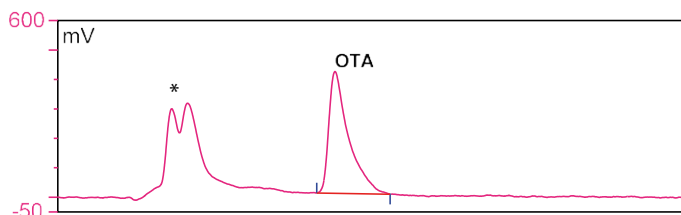
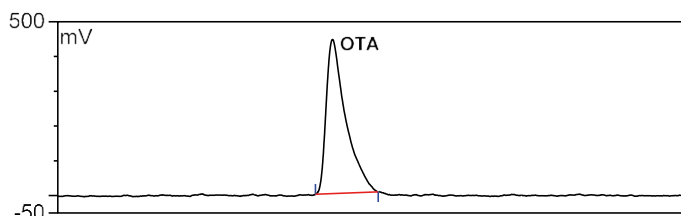
Chromatogramme



Schwarz: Standard 40 ppb = 16 ppb B1/G1 und 4 ppb B2/G2 (56 ng / 2 mL)
Rot: 40 ppb Putenaufzuchtfutter aufgereinigt mit Afla-OtaCLEAN
Orange: 40 ppb Putenaufzuchtfutter aufgereinigt mit AflaCLEAN



AflaCLEAN, OtaCLEAN und Afla-OtaCLEAN Säulen



Schwarz: Standard 40 ppb (56 ng / 2 mL OTA)
Rot: 40 ppb Putenaufzuchtfutter aufgereinigt mit Afla-OtaCLEAN
Orange: 40 ppb Putenaufzuchtfutter aufgereinigt mit OtaCLEAN

* Zusätzliche Signale durch die mit aufgereinigten Aflatoxine B/G

Zeit und Geld clever gespart!

Die Chromatogramme zeigen auf, dass mit den LCTech Immunoaffinitätssäulen selbst im hochkontaminierten Bereich gute Wiederfindungen und exzellente Chromatographieergebnisse erzielt werden können.

Für die Aufreinigung von Aflatoxinen B/G und Ochratoxin A in einer Matrix halbiert Afla-OtaCLEAN zudem die Arbeitszeit und spart gleichzeitig Geld, da mit der kombinierten Immunoaffinitätssäule in einem Arbeitsgang beide Toxingruppen auf einmal aufgereinigt werden können.

These LCTech Products were used:

Afla-OtaCLEAN Immunoaffinity Columns for
Ochratoxin A and Aflatoxin B/G
P/N 11022 / 11771

AflaCLEAN Immunoaffinity Columns for Aflatoxin B/G
P/N 10514 / 11721

OtaCLEAN Immunoaffinity Columns for Ochratoxin A
P/N 10515 / 11535

HPLC Separation Column RP C-18
P/N 10522

UVE Photochemical Reactor
P/N 10519