



Juni 2018

## Ochratoxin A in Bier

### ~ 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

### Das Bier

Bald fiebert wieder ganz Deutschland bei den Spielen der Fußball-WM 2018 mit. Ob nun bei großen Public Viewings mit riesigen LED-Wänden oder gemütlich zuhause beim Grillen im Garten - eines darf bei den meisten dabei nicht fehlen: ein leckeres kühles Bier. Die Sortenvielfalt ist dabei gigantisch, denn derzeit gibt es rund 7.500 Biersorten. Bier wird durch Gärung aus stärkehaltigen Stoffen gewonnen. Laut Reinheitsgebot, erlassen von Wilhelm IV., Herzog von Bayern, am 24. April 1516, dürfen dabei nur Malz, Hopfen, Wasser und Hefe verwendet werden. 2016 wurde das Reinheitsgebot 500 Jahre alt und ist somit heute die älteste geltende lebensmittelrechtliche Vorschrift.

Doch trotz allem ist Bier ein Getreideprodukt und kann daher dem Begriff „rein“ nicht immer gerecht werden. Die Herausforderung stellen giftige Schimmelpilze dar, die mit dem Anbau, der Lagerung und der Verarbeitung von Getreide entstehen können und zu Qualitätseinbußen führen. Aus diesem Grund haben wir diesen Monat einige Biersorten für Sie untersucht. Chromatogramme, Wiederfindungsraten und ein Bearbeitungsprotokoll stellen wir Ihnen auf den nachfolgenden Seiten zur Verfügung.

### Immunoaffinitätssäulen OtaCLEAN für Ochratoxin A



Damit die Qualität von Bier auch weiterhin so gut ist, unterstützt LCTech weltweit Laboratorien im Bereich der Probenaufreinigung in der Lebens- und Futtermittelanalytik. Speziell für die Aufreinigung von Ochratoxin A bieten wir mit den Immunoaffinitätssäulen OtaCLEAN eine Lösung, die selbst bei schwierigen Matrices mit sehr guten Wiederfindungen überzeugt. Neben dem praktischen 3 mL Format sind sie auch im 1 mL Format erhältlich und zur manuellen wie auch zur automatisierten Bearbeitung, z. B. mit dem Robotiksystem FREESTYLE SPE, geeignet.

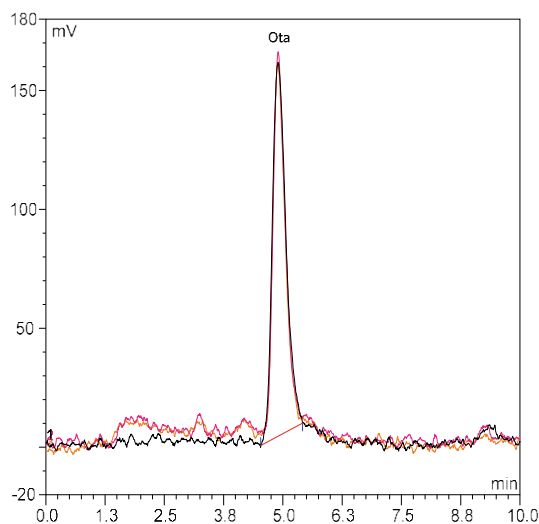
Bereiten Sie Ihre Bierprobe einfach entsprechend das Bearbeitungsprotokolls auf den nachfolgenden Seite vor, bestücken Sie die Racks mit den Proben, konfigurieren Sie in der Software die gewünschte Methode und drücken Sie START - während das System nun Probe für Probe abarbeitet, haben Sie Zeit für andere wichtige Tätigkeiten im Labor.

## Bearbeitungsprotokoll

Entgasen Sie 20 mL Bier durch Behandlung mittels Ultraschall. Versetzen Sie 8 mL einer 3 %igen NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und vermischen Sie diese gut. Filtrieren Sie den Rohextrakt und verdünnen Sie 10 mL davon mit 40 mL PBS. Laden Sie die Probe (50 mL entspricht 7,14 g) auf die OtaCLEAN Säule. Waschen Sie die Säule mit 2 x 5 mL deionisiertem Wasser.

Eluieren Sie das Toxin mit 2 mL Methanol von der Säule. 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.

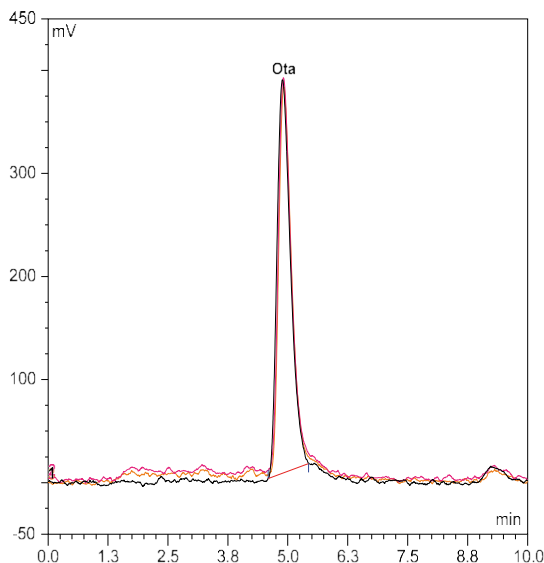
## Chromatogramme



Schwarz: Standard entspricht 0,4 ppb

Rot: Dunkelbier, 0,4 ppb

Orange: Dunkelbier, 0,4 ppb



Schwarz: Standard entspricht 1 ppb

Rot: Dunkelbier, 1 ppb

Orange: Dunkelbier, 1 ppb

## HPLC-Laufbedingungen (Ochratoxin A)

Mykotoxin:	Ochratoxin A
HPLC:	isokratisch
Säulenofen:	40 °C
Trennsäule:	RP EC 125/3 nucleosil 120-3 C18
Flussrate:	0,6 mL/min
Laufmittel:	HPLC-Wasser/Methanol/ Acetonitril + 1 % (40/55/5 (v/v/v))
Fluoreszenzdetektion:	ohne Derivatisierung
Anregungswellenlänge:	335 nm
Emmissionswellenlänge:	465 nm

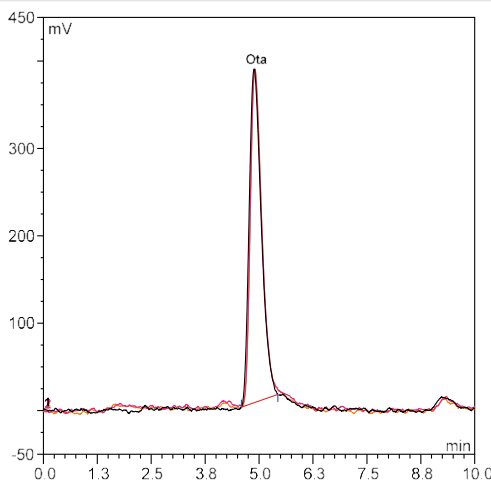
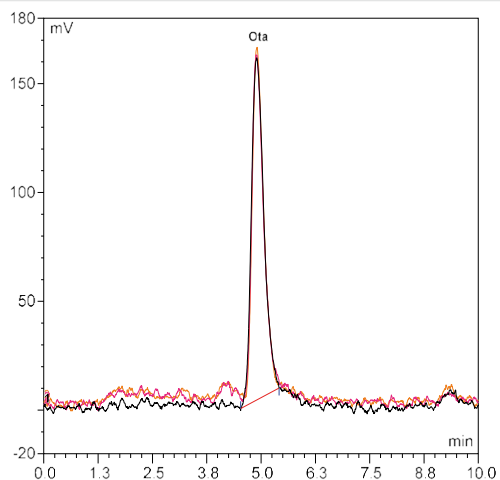
## Wiederfindungen

Gehalte an Ochratoxin A in Bier

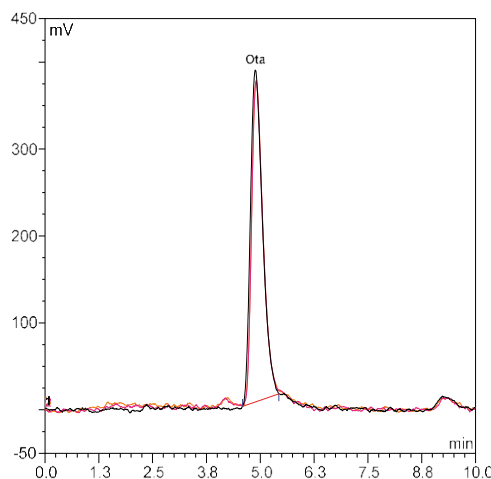
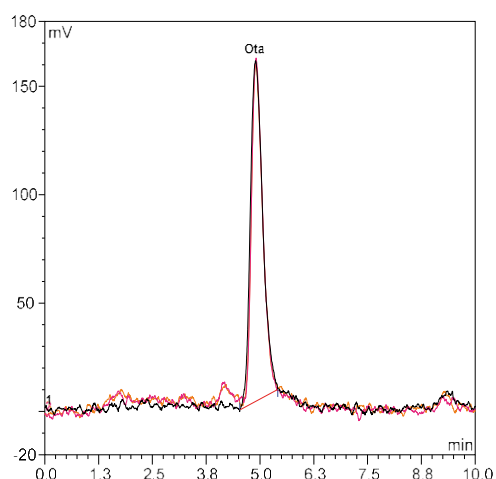
Mykotoxin	Ochratoxin A
Standard*	100
Wiederfindungsrate** Dunkelbier, 0,4 ppb	93
Wiederfindungsrate** Dunkelbier, 1 ppb	94
Wiederfindungsrate** Hellbier, 0,4 ppb	96
Wiederfindungsrate** Hellbier, 1 ppb	95
Wiederfindungsrate** Bockbier, 0,4 ppb	93
Wiederfindungsrate** Bockbier, 1 ppb	91
Wiederfindungsrate** Weißbier, 0,4 ppb	93
Wiederfindungsrate** Weißbier, 1 ppb	97

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

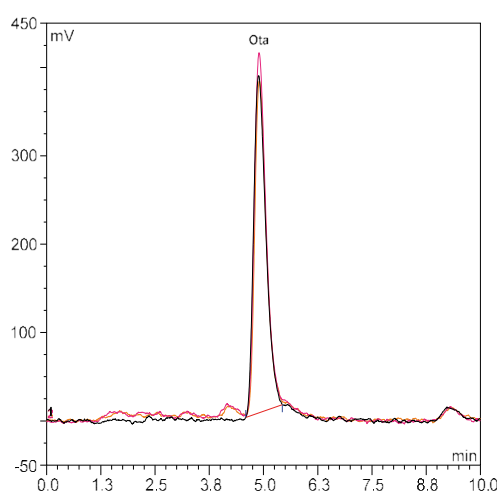
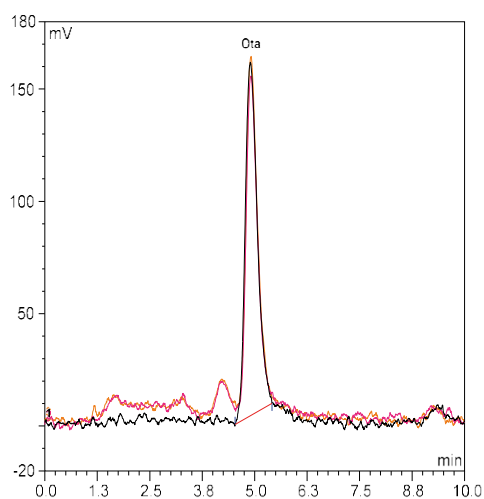
Weitere Chromatogramme auf Seite 3



**Schwarz:** Standard entspricht  
0,4 ppb (links); 1 ppb (rechts)  
**Rot:** Helles Bier,  
0,4 ppb (links); 1 ppb (rechts)  
**Orange:** Helles Bier,  
0,4 ppb (links); 1 ppb (rechts)



**Schwarz:** Standard entspricht  
0,4 ppb (links); 1 ppb (rechts)  
**Rot:** Bockbier,  
0,4 ppb (links); 1 ppb (rechts)  
**Orange:** Bockbier,  
0,4 ppb (links); 1 ppb (rechts)



**Schwarz:** Standard entspricht  
0,4 ppb (links); 1 ppb (rechts)  
**Rot:** Weißbier,  
0,4 ppb (links); 1 ppb (rechts)  
**Orange:** Weißbier,  
0,4 ppb (links); 1 ppb (rechts)

*LCTech Immunoaffinitätssäulen für hervorragende chromatographische Ergebnisse mit sehr hohen Wiederfindungsraten bei hohen Beladungskapazitäten.*

### Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

OtaCLEAN,  
Immunoaffinitätssäule für Ochratoxin A  
P/N 10515 / 11535

HPLC Trennsäule RP C-18  
P/N 10522

FREESTYLE SPE,  
Robotersystem für automatisierte Probenvorbereitung  
P/N 12663 / 12668