

Matrix des Monats

Juni 2013:
Ochratoxin A
in geröstetem Kaffee



Haben Sie einen speziellen Wunsch, welche Matrix wir testen sollen? Geben Sie uns Bescheid per e-Mail an info@LCTech.de!

Protokoll

5 g Probe werden mit 40 mL (Methanol / 3 % NaHCO₃, 1/1, v/v) extrahiert.
10 mL des Rohextraktes werden mit 10 mL Dichlormethan 5 Min gründlich gemischt.
Die obere Phase wird erneut mit 10 mL Dichlormethan 5 min lang gemischt. Die Phasentrennung kann durch Zentrifugation der Probe bei 1000 g für 10 Minuten unterstützt werden. Die obere Phase wird über einen Faltenfilter filtriert. Falls es zu einer Phasentrennung kommt, muss die obere Phase für die nächsten Schritte verwendet werden.
3 mL des filtrierten Extraktes werden mit 72 mL PBS-Puffer (pH 7,2) verdünnt.
Die Probe muss nun gefiltert oder zentrifugiert werden.
Nach dem Öffnen der Säule lässt man den Lagerpuffer abtropfen.
50 mL des verdünnten Rohextraktes (abhängig von der Messempfindlichkeit) werden über die Immunoaffinitätssäule OtaCLEAN gegeben.
Das Vorlagengefäß wird mit 10 mL Wasser gespült und diese Lösung auf die Säule gegeben. Wasserreste sind nun mit leichtem Gasstrom oder Unterdruck zu entfernen.
Es wird 1 mL Methanol auf die geöffnete Säule gegeben und solange gewartet, bis das Methanol den unteren Luer-Ausgang der Säule erreicht hat. Die Säule wird sofort verschlossen und 5 Minuten inkubiert, um die Analyt-Antikörper-Bindung vollständig zu brechen. Nach dem Wiederöffnen wird das Eluat aufgefangen und mit weiteren 1 mL Methanol nacheluiert.
Anschließend wird auf die Erfordernisse verdünnt oder aufkonzentriert und per HPLC gemessen.

Laufbedingungen

HPLC: Dionex Ultimate 3000
Säulenofen: 40 °C
Trennsäule: Mycotoxin HPLC-Säule (EC 120-3 Nucleosil) mit Guard
Flussrate: 0,6 mL/min (40/55/5) (Wasser/Methanol/Acetonitril (v/v/v) +1 % Essigsäure)
Nachsäulenderivatisierung mit PCX5200, Derivatisierungsreagenz Natronlauge 1M, 40 °C Reaktortemperatur, Fluss 0,3 mL/min
Anregungswellenlänge: 390 nm
Emmissionswellenlänge: 440 nm

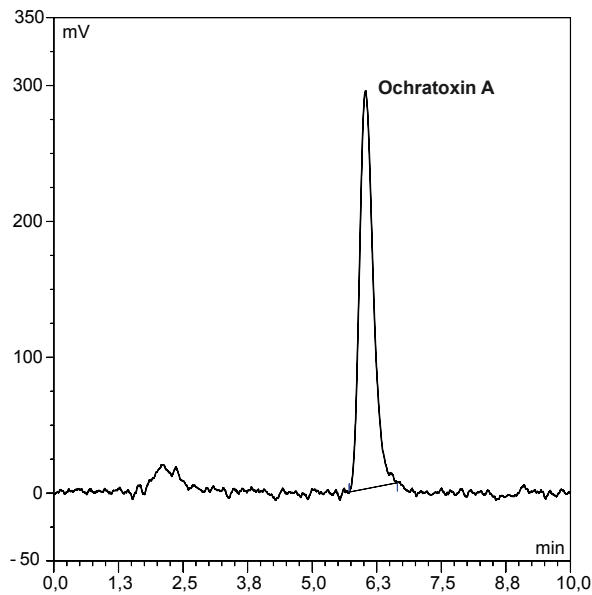
Wiederfindungsrate

Gehalt an Ochratoxin A in geröstetem Kaffee	
	Ochratoxin A
Standard* 10 ppb	100
Wiederfindungsrate** gerösteter Kaffee, gespikt mit 10 ppb	98

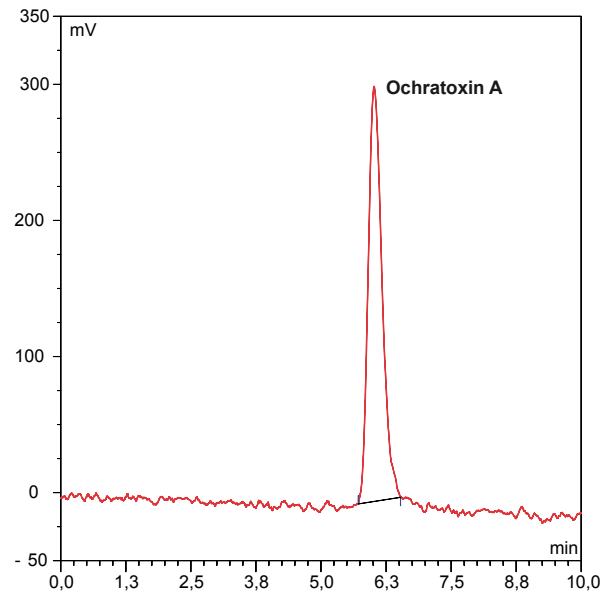
* Standard wurde = 100% gesetzt , ** korrigiert mit nicht gespikter Probe

Chromatogramme

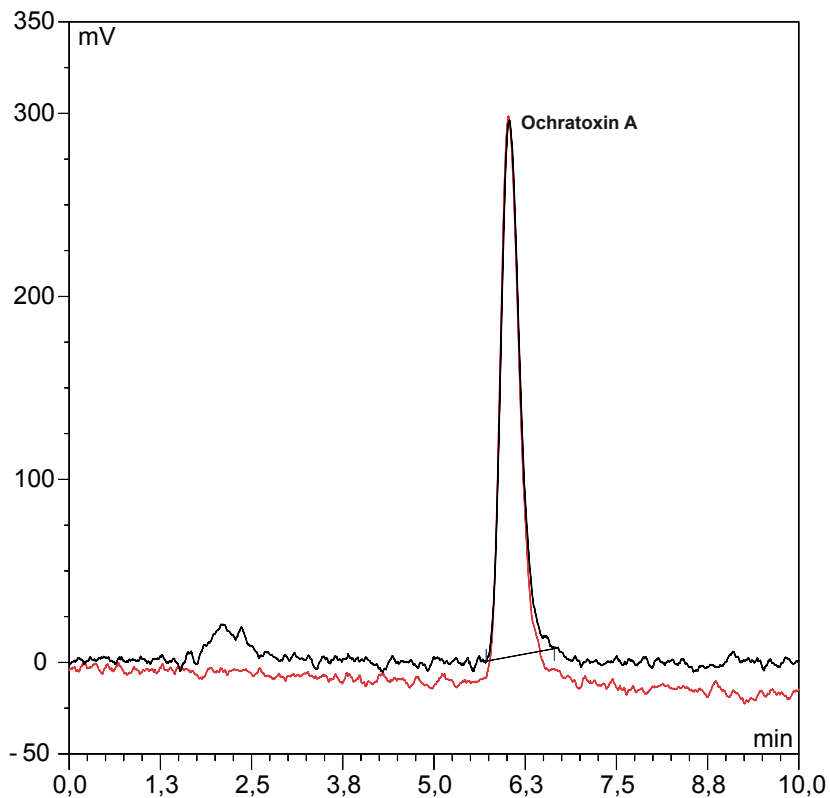
Standard, repräsentiert 100 %



Gerösteter Kaffee, gespickt mit 10 ppb Toxin



Überlagerung der beiden Chromatogramme



Dieses LCTech Produkt
kam zum Einsatz:

OtaCLEAN,
Immunoaffinitätssäule
für Ochratoxin A

P/N 10515

Sie haben weitere Fragen?
Schreiben Sie uns eine e-Mail an info@LCTech.de