

Matrix des Monats

Dezember 2013:
**Ochratoxin A
in Glühwein**



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

Protokoll

10 mL des Glühweins werden ausgiebig mit 10 mL der Extraktionslösung (5 % NaHCO₃ mit 1 % PEG 8000) 3 Minuten lang gemischt.

Der Extrakt wird durch einen Faltenfilter filtriert.

Anschließend werden 10 mL des filtrierten Extraktes mit 40 mL PBS-Puffer (pH 7,2) verdünnt. Wenn beim Mischen mit dem Puffer ein Niederschlag auftritt, ist das Probenvolumen mit einem Spritzenfilter (PVDF) zu filtrieren oder zu zentrifugieren.

Nach dem Öffnen der OtaCLEAN Säule lässt man den Lagerpuffer abtropfen. Nehmen Sie dann den verdünnten Rohextrakt und geben Sie ihn über die OtaCLEAN Säule.

Ein geringer Unter- oder Überdruck kann in allen Schritten, in denen Flüssigkeit durch die Säule gegeben wird, angelegt werden. Es ist jedoch unabdingbar, dass eine Flussrate von 2 mL/min nicht überschritten wird!

Lassen Sie nun die Flüssigkeit vollständig durchlaufen, bis keine Probe mehr in der Säule ist! Dabei ist ein Trockenlaufen unproblematisch, ein komplettes Eintrocknen des Bettes muss vermieden werden!

Um die Säule zu waschen, wird das Vorlagengefäß mit 10 mL Wasser gespült und diese Lösung auf die Säule gegeben. Verbleibende Wasserreste sind nun mittels eines leichten Gasstromes oder Unterdrucks 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 nacheluiert. Die Eluate werden vereinigt.

Die Probe kann nach Anpassung an die HPLC-Verhältnisse analysiert werden.

Laufbedingungen

HPLC: Dionex Ultimate 3000 isokratisch

Säulenofen: 40 °C

Trennsäule: EC125/3 Nucleosil 120-3 C-18 RP

Flussrate: Laufmittel 0,6 L/min (HPLC Wasser/Methanol/Acetonitril: 40/55/5 + 1 % Essigsäure
Fluorendetektion:

Anregungswellenlänge: 335 nm

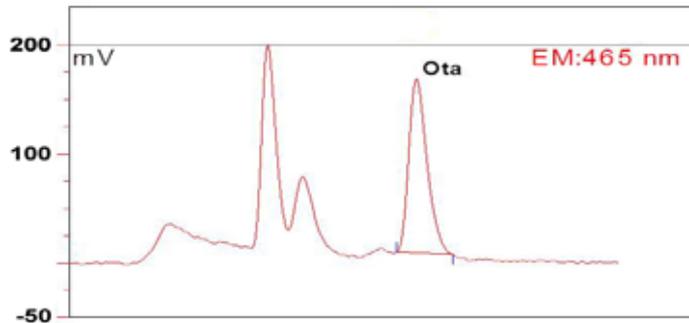
Emmissionswellenlänge: 465 nm

Wiederfindungen

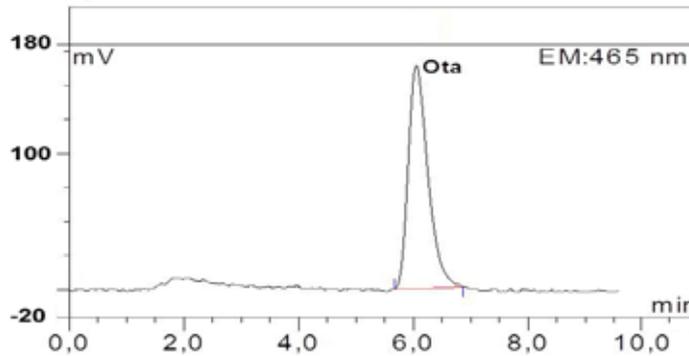
Gehalt an Ochratoxin A in Glühwein	
	Ochratoxin A
Standard*	100
Wiederfindungsrate** Glühwein, gespikt mit 2 ppb	92

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

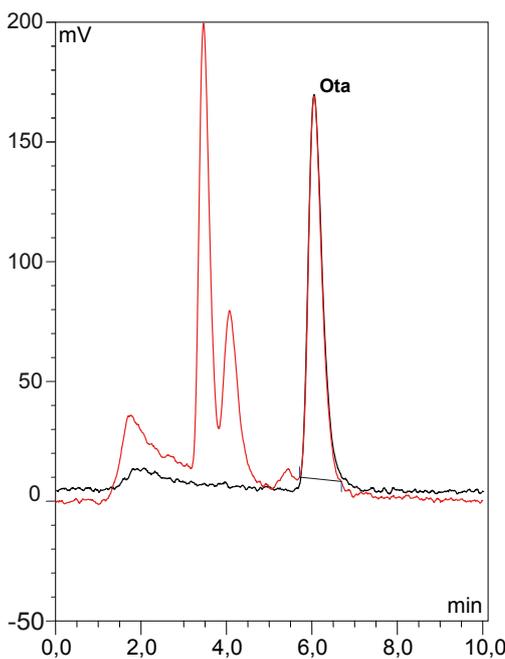
Chromatogramme



Glühwein (OTA ohne Nachsäulenderivatisierung), gespikt mit 2 ppb



Standard, 2 ppb, (10 ng/2 mL)



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