

Matrix des Monats

Mai 2014:

Ochratoxin A in Bier

OTA-Analyse während der Halbzeitpause!

*Probenaufgabe, waschen und eluieren
in weniger als 15 Minuten!*



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

Protokoll

Entgasen Sie 20 mL Bier im Ultraschallbad.

Geben Sie 8 mL der 3 % NaHCO₃ Lösung dazu, um den meist niedrigen pH-Wert der Bierprobe zu puffern.

Diese Probe wird durch einen 0,2 µm Spritzenfilter (PVDF) filtriert, um Trübung zu entfernen.

Danach 10 mL des filtrierten Extraktes mit 40 mL PBS-Puffer (pH 7,2) verdünnen.

Alternativ können Sie auch geringere Probenvolumina (z. B. 2 mL + 8 mL Puffer) verwenden.

Falls beim Mischen mit dem Puffer ein Niederschlag auftritt, das Probenvolumen mittels Spritzenfilter (PVDF) filtrieren oder zentrifugieren. Nach dem Öffnen der Säule den Lagerpuffer abtropfen lassen.

Nehmen Sie 10 mL des verdünnten Rohextraktes (abhängig von der Messempfindlichkeit) und geben sie über die OtaCLEAN SMART Kartusche.

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 1.5 mL/min nicht überschritten wird!

Lassen Sie nun die Flüssigkeit vollständig durchlaufen, bis keine Probe mehr in der Säule ist!

Ein komplettes Eintrocknen des Bettes vermeiden!

Die Säule mit 2 mL destilliertem Wasser waschen. Verbleibende Wasserreste mittels eines leichten Gasstromes oder Unterdrucks entfernen.

Geben Sie 0.4 mL Methanol mittels einer Einmalspritze auf die geöffnete Säule und warten solange bis das Methanol den unteren Luer-Ausgang der Säule erreicht hat. Die Säule sofort verschließen und 5 Minuten inkubieren, um die Analyt-Antikörper-Bindung vollständig zu brechen.

Nach dem Wiederöffnen das Eluat auffangen und Methanolreste durch leichten Überdruck ins Elutionsgefäß aus der Säule pressen. Anschließend auf die jeweiligen Erfordernisse verdünnen oder aufkonzentrieren und mittels HPLC messen.

Laufbedingungen

Ochratoxin A

HPLC: Dionex Ultimate 3000 isokratisch

Säulenofen: 40 °C

Trennsäule: RP EC125/3 Nucleosil 120-3 C-18 (z. B. 10522)

Flussrate: 0,6 mL/min, Wasser/Methanol/Acetonitril (40/55/5 (v/v/v)) + 1% Essigsäure

Fluoreszenzdetektion: ohne Derivatisierung

Anregungswellenlänge: 335 nm

Emmissionswellenlänge: 460 nm

Wiederfindungen

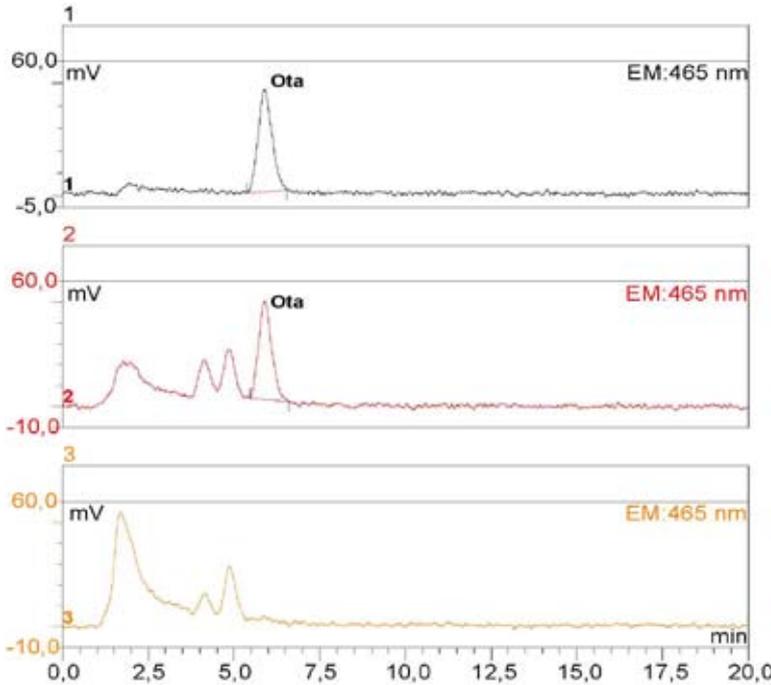
Gehalt an Ochratoxin A in Bier

	Ochratoxin A
Standard*	100
Wiederfindungsrate** Bier 1 ppb	100

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



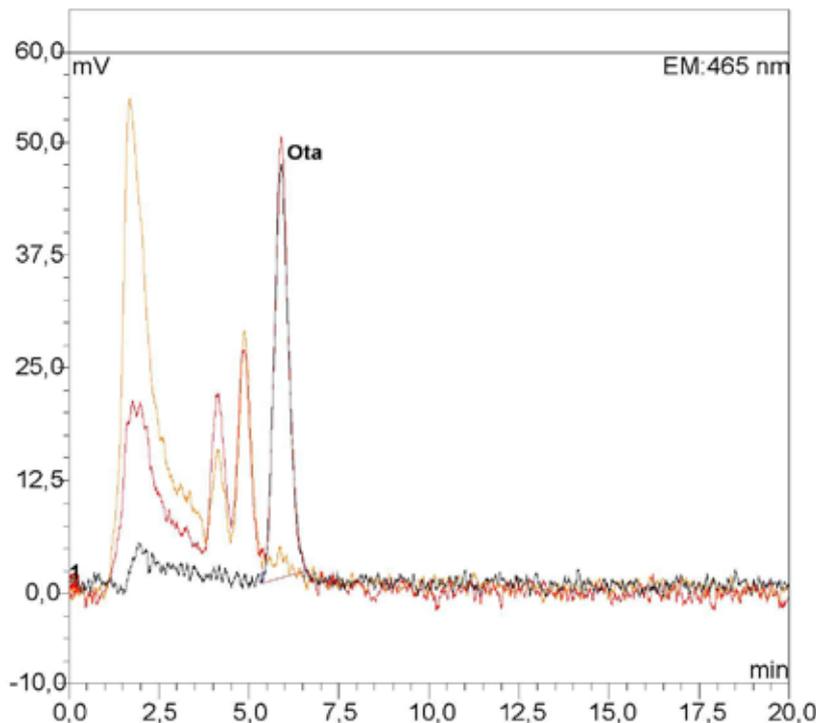
Chromatogramme



Standard 1,42 ng / 400 µL
entspr. 1 ppb

Bier gespikt mit 1 ppb OTA

Bier nicht gespikt (Blindwert)



Ochratoxin A:
Überlagerung der Chromatogramme

Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

OtaCLEAN SMART,
Immunoaffinitäts-Säule
für Ochratoxin A

P/N 13346 / 13351

HPLC Säule,
für die Mykotoxin-Analytik

P/N 10522

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