

Matrix des Monats

Februar 2015:

Aflatoxine B/G und Ochratoxin A in Hanfsamen



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

Protokoll

Versetzen Sie 20 g homogenisierte Hanfsamen mit 2 g Natriumchlorid. Extrahieren Sie diese mittels Zugabe von 100 mL Methanol/Wasser (80/20 (v/v)) und 50 mL n-Hexan. Filtrieren Sie den Extrakt und zentrifugieren Sie ihn zur Unterstützung der Phasentrennung zwischen der wässrigen und der n-Hexan-Phase bei 2000 x g für 10 Minuten. Von der wässrigen Phase (untere Phase) verdünnen Sie 10,5 mL mit 64,5 mL PBS-Puffer. Den verdünnten Extrakt filtrieren Sie durch einen Glasfaserfilter, um Trübungen zu entfernen.

Laden Sie 50 mL des Extraktes (entspricht 1,4 g) auf die Immunoaffinitätssäule Afla-OtaCLEAN. Spülen Sie nach dem Auftragen der Probe das Vorlagengefäß mit 10 mL deionisiertem Wasser und laden Sie die Waschlösung ebenfalls auf die IAC-Säule.

Trocknen Sie die Säule und eluieren Sie mittels 2 mL Methanol. Achten Sie hierbei darauf, dass das Methanol in das Säulenbett eindringt und 5 Minuten inkubiert, um die Antikörper-Toxinbindung komplett aufzulösen.

Verdünnen Sie das Eluat gemäß der HPLC-Flussmittleigenschaften für die analytische Messung.

HPLC-Laufbedingungen

Aflatoxin B/G

HPLC: Isokratisch
Säulenofen: 36 °C
Trennsäule: RP C18 (z.B. P/N 10522)
Flussrate: 1,2 mL/min,
Wasser/Methanol/Acetonitril (60/30/15 (v/v/v))
Fluoreszenzdetektion mit
Nachsäulenderivatisierung
(photochemisch mit UVE)
Anregungswellenlänge: 365 nm
Emmissionswellenlänge: 460 nm

Ochratoxin A

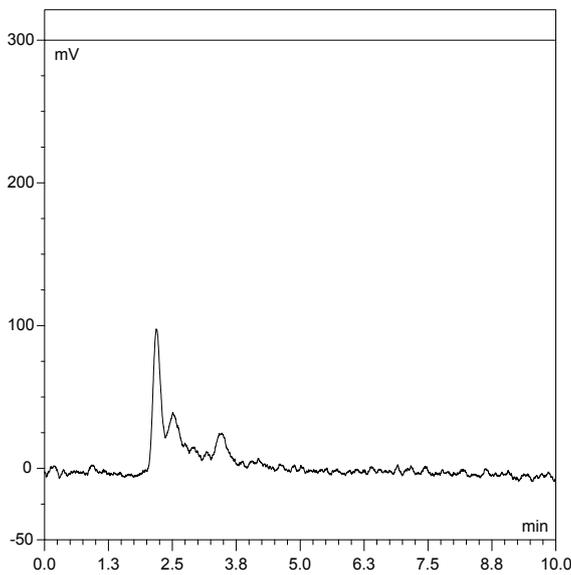
HPLC: Isokratisch
Säulenofen: 40 °C
Trennsäule: RP C18
Flussrate: 0,6 mL/min, HPLC-Wasser/Methanol/
Acetonitril (40/55/5) + 1% Essigsäure
Fluoreszenzdetektion ohne
Nachsäulenderivatisierung
Anregungswellenlänge: 335 nm
Emmissionswellenlänge: 465 nm

Wiederfindungen

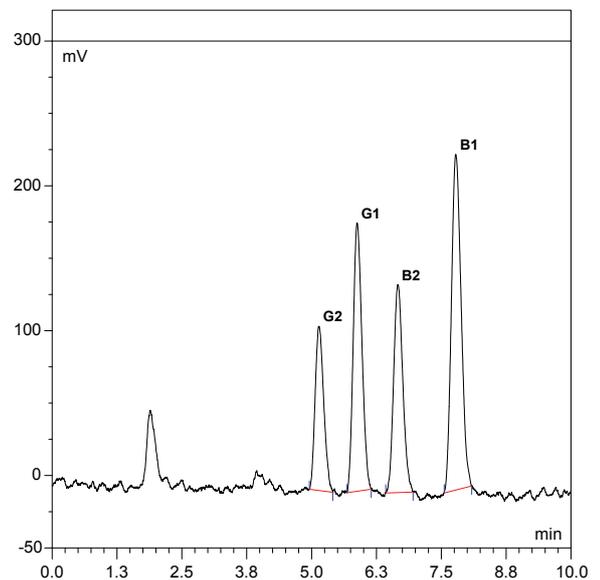
Gehalte an Aflatoxinen B1, B2, G1, G2 und OTA in Hanfsamen					
Aflatoxin	B1	B2	G1	G2	OTA
Standard*	100	100	100	100	100
Wiederfindungsrate** Hanfsamen 10 ppb (10 ppb = 10 µg / kg Matrix)	91	95	92	91	91

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

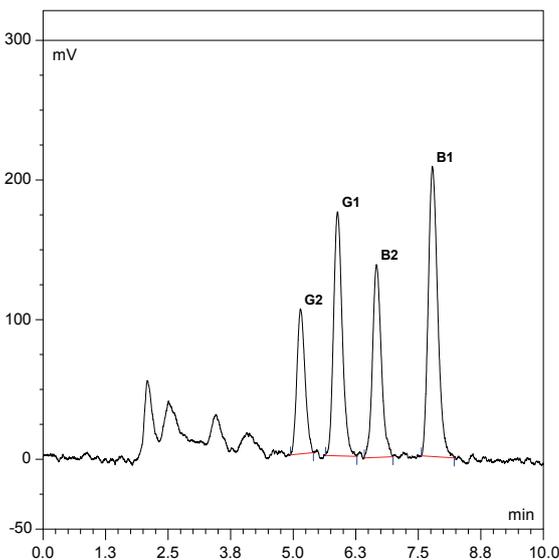
Chromatogramme



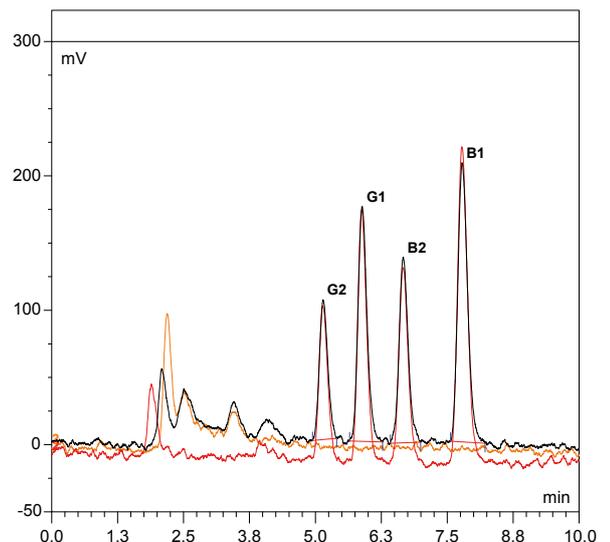
Hanfsamen (nicht gespikt)



Aflatoxin Standard 14 ng / 2 mL (10 ppb)



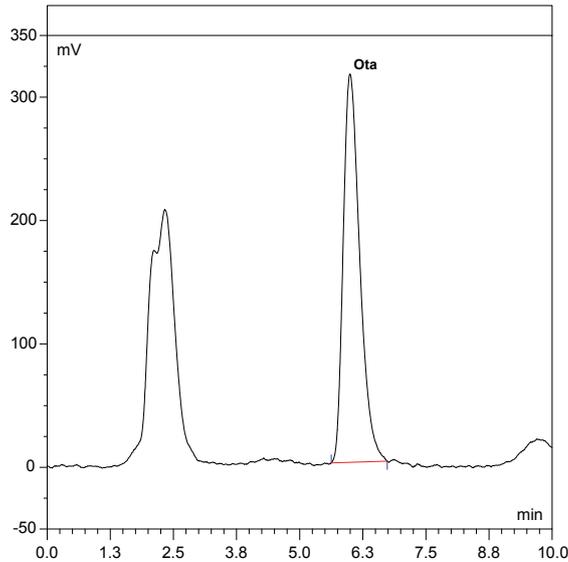
Hanfsamen gespikt mit 10 ppb Aflatoxin



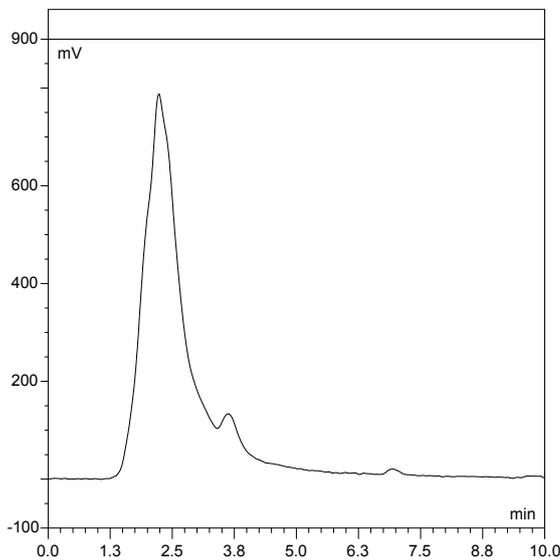
Chromatogrammüberlagerung
Standard (rot) (14 ng / 2 mL (entspricht 10 ppb)),
Hanfsamen 10 ppb (schwarz),
Hanfsamen nicht gespikt (orange)

Chromatogramme →

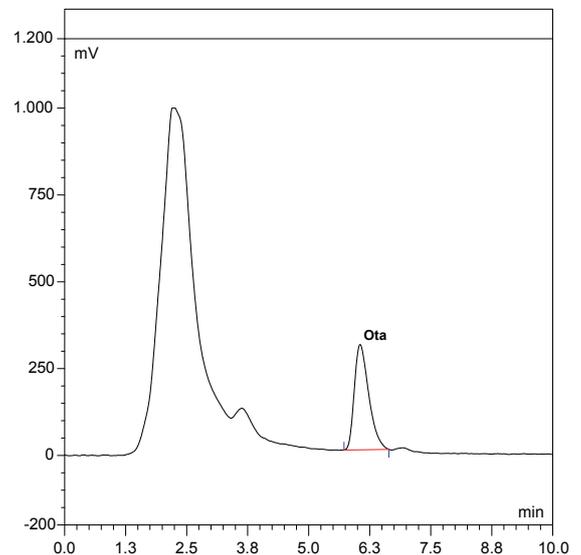
Chromatogramme



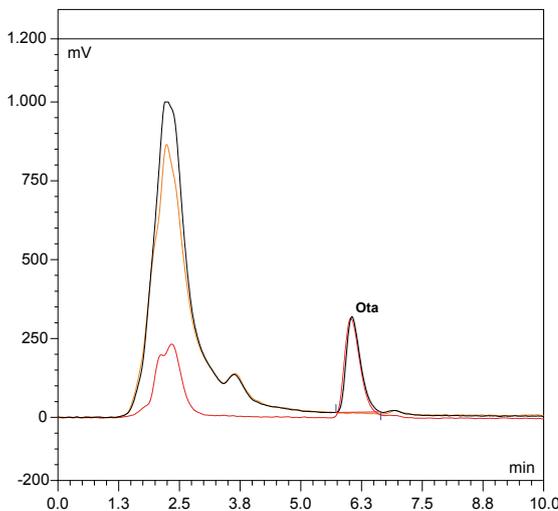
Ochratoxin A Standard 14 ng / 2 mL (10 ppb)



Hanfsamen, nicht gespikt



Hanfsamen, gespikt mit 10 ppb Ochratoxin A



Chromatogrammüberlagerung
Standard 14 ng / 2 mL (rot), Hanfsamen gespikt
mit 10 ppb Ochratoxin A (schwarz),
Hanfsamen nicht gespikt (orange)

Diese LCTech Produkte
kamen zum Einsatz:

Afla-OtaCLEAN,
Kombinationssäule
für Afla- und Ochratoxin

P/N 11022 / 11771

UVE,
Photochemischer Reaktor
für die Aflatoxin Analytik

P/N 10519

HPLC-Säule,
für die Mykotoxin-Analytik

P/N 10522

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