

# Aflatoxine in Haselnüssen

Aufgereinigt mit **AflaCLEAN SMART** Manuell und Automatisiert



## Haselnüsse

Im Rahmen des RASFF wurden für das Jahr 2021 über 240 Beanstandungen für Nüsse und Nussprodukte festgestellt, die auf Mykotoxine zurückzuführen sind. Diese führten meistens zu einem Importverbot an den Grenzen der EU. Derzeit stellen Nüsse die größte Fraktion dar, welche durch Mykotoxine an den EU-Grenzen abgelehnt wurde. Haselnüsse sind häufig mit Aflatoxin G1/G2 aber auch B1 kontaminiert.



AflaCLEAN SMART

## AflaCLEAN SMART - klein + schnell + günstig = SMART

Die AflaCLEAN SMART Säule ist als kleines 3 cm großes Polypropylen-Format erhältlich, welches signifikante Bearbeitungs- und Lagervorteile gegenüber größeren Säulen hat.

### Vorteil auf einem Blick:

- Einsparung von 80 % Lösungsmittel durch Miniaturisierung
- Beladungskapazität: 100 ng Aflatoxin B1
- Wiederfindungsraten:  
B1 > 90 %, B2 > 80 %, G1 > 90 %, G2 > 60 %
- Geeignet für die manuelle und die automatisierte Bearbeitung

Bei Extraktion, Verdünnung, Waschen und Elution wird die Bearbeitungszeit wesentlich verkürzt. So ist z. B. keine Säulenentleerung nötig und das Laden der Probe und Waschen der Säule dauert nur noch maximal 4 Minuten

bei 10 mL Probenaufgabe und einer Flussrate von 3 mL/min. Da auch zur Elution maximal nur 400 µL verwendet werden, verringert sich die Bearbeitungszeit nochmals. Der Funktionsmechanismus basiert auf dem Prinzip der Immunoaffinitätschromatographie mit erhöhten Flussraten und einem angepasst, niedrigen Elutionsvolumen, um Bearbeitungszeit zu sparen. Das Material in der Säule ist mit Antikörpern belegt, die gegen Aflatoxin B und G gerichtet sind. Bei der Aufgabe des Probenextraktes auf die Säule werden die Aflatoxine B und G in der Säule zurückgehalten, während die Matrixkomponenten die Säule passieren. Nach einem Waschschrift können die Aflatoxine B und G quantitativ von der Säule durch Methanol eluiert werden und anschließend mittels einer HPLC untersucht werden.

## Manuelle Bearbeitung mit AflaCLEAN

Extrahieren Sie 20 g homogenisierte Haselnuss Matrix mit 100 mL 80/20 (v/v) Methanol/Wasser. Geben Sie 2 g Natriumchlorid und 50 mL n-Hexan während der Extraktion zu, um Fette und Öle abzutrennen. Nach 10-minütigem Rühren wird der Rohextrakt filtriert und optional bei 3000 xg zentrifugiert, um eine effiziente Phasentrennung zwischen dem methanolischen Extrakt und dem n-Hexan zu gewährleisten. Nun verdünnen

Sie 3,5 mL des n-Hexan freien Extraktes mit 21,5 mL PBS-Puffer. 10 mL dieser verdünnten Probe laden Sie mit 3 mL/min auf die AflaCLEAN Säule. Anschließend spülen Sie das Probengefäß mit 2 mL deionisiertem Wasser und laden dies ebenfalls auf die Säule. Nach Trocknen der Säule eluieren Sie das Toxin durch 400 µL Methanol und messen nach Verdünnung ein Aliquot in der HPLC mittels Fluoreszenz nach photochemischer Derivatisierung durch den UVE.

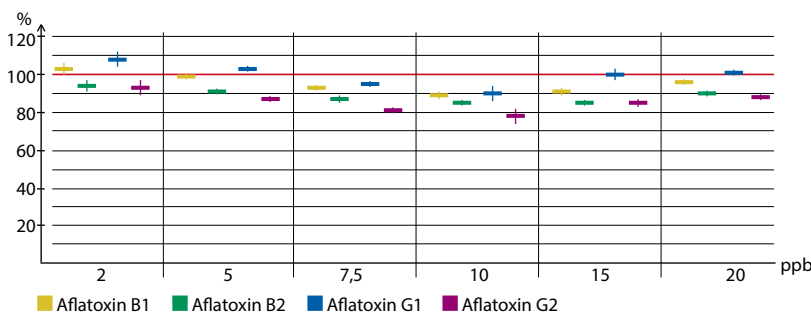


## Automatisierung mit dem Robotiksystem **FREESTYLE ThermELUTE™**

Der Prozess der Probenaufreinigung kann an einem FREESTYLE-Gerät mit ThermELUTE™-Modul auch vollautomatisiert abgebildet werden. Die Parametrierung erfolgt über die Software, die Probenliste wird erstellt und die Probenvorlagegefäße und Säulen im Gerät platziert. Nach weniger als 30 Minuten kann das erste Ergebnis anhand der Chromatographiesoftware beurteilt werden. Nach diesem ersten Zyklus folgt alle 20 Minuten ein weiteres Ergebnis, so kann ein Durchsatz von bis zu 120 Proben in 24 Stunden erreicht werden. Durch die Automatisierung mit dem Robotiksystem FREESTYLE ThermELUTE™ kann ein hoher Probendurchsatz realisiert werden (500 Proben/Woche). Das System kann mit einem Direkt Injection-Modul mit einer beliebigen HPLC oder LC-MS Anlage kombiniert werden - das Ergebnis ist eine umfassende Automatisierung mit einer Bearbeitung vom Rohextrakt bis zum fertigen Chromatogramm ohne manuelle Arbeitsschritte mit überzeugenden Vorteilen:

- Probenbearbeitung Tag und Nacht
- Reproduzierbare Ergebnisse
- Sehr gute Wiederfindungsraten
- Bemerkenswerte Sensitivität im unteren ppt-Bereich → Jede Matrix unterhalb der EU-Grenzwerte, sogar bei Babynahrung

## Wiederfindungsraten



Automatisierte Aufreinigung mit dem Robotiksystem FREESTYLE ThermELUTE™

## Fazit

Konsistente Wiederfindungen im Bereich von 2 – 20 ppb (Gesamttoxin). Wiederfindungen sind reproduzierbar, schnell, effizient und die Proben lassen sich mit guter chromatographischer Leistung vollautomatisiert analysieren.

### Laufbedingungen

HPLC	Isokratisch
Säulenofen	36 °C
Trennsäule	PN 10522
Flussrate, Laufmittel	1.2 mL/min (60/30/15) (HPLC-Wasser/Methanol/Acetonitril)
Fluoreszenzdetektion	Derivatisierung mittels UVE (photochemisch) (PN 10519)
Anregungswellenlänge	365 nm
Emmissionswellenlänge	460 nm

### Wiederfindungsraten\*\* in Haselnuss

Aflatoxin	B1	B2	G1	G2
Standard*	100	100	100	100
2 ppb	103	94	106	93
5 ppb	99	91	103	87
7.5 ppb	93	87	95	81
10 ppb	89	85	90	78
15 ppb	91	85	100	85
20 ppb	96	90	101	88

\* Standard wurde gesetzt = 100% gesetzt

\*\* Korrigiert mit nicht gespikter Probe / Die Ergebnisse stimmen mit den Performancevorgaben der EC 401 / 2006 (Abschnitt 4.3.1) überein.

Bei den Wiederfindungsraten handelt es sich um Mittelwerte

### Diese LCTech Produkte kamen zum Einsatz:

- 10522 Mykotoxin HPLC-Säule
- 10519 UVE
- AflaCLEAN SMART 12863 (1000 Stück/VE);
- 10862 (100Stück/VE)

Haben Sie einen speziellen Wunsch, welche Matrix wir für Sie testen sollen? Kontaktieren Sie uns per E-Mail unter: [info@LCTech.de](mailto:info@LCTech.de)