Zum Vorkommen von Citrinin in Cerealien = Occurrence of citrinin in cereal grains

Autor(en): **Dick, R. / Baumann, U. / Zimmerli, B.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **79 (1988)**

Heft 2

PDF erstellt am: **24.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-982581

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **79**, 159–164 (1988)
Eingegangen 22. Dezember 1987. Angenommen 14. Januar 1988

Zum Vorkommen von Citrinin in Cerealien

Occurrence of Citrinin in Cereal Grains

R. Dick, U. Baumann und *B. Zimmerli*
Bundesamt für Gesundheitswesen, Bern

Einleitung

Citrinin gehört wie Ochratoxin A zu den nephrotoxischen Mykotoxinen, sekundären Metaboliten, die von bestimmten Pilzen der Stämme Aspergillus und Penicillium gebildet werden. Nierenschädigungen nach Aufnahme von pilzkontaminiertem Futter sind bei Tieren nachgewiesen und durch orale Citriningaben in Tierversuchen bestätigt worden (1). Citrininproduzierende Organismen kommen verbreitet in Getreidearten vor, so dass eine potentielle Gesundheitsgefährdung des Menschen nicht ausgeschlossen werden kann. Aus diesem Grund sind in den letzten Jahren Bestimmungsmethoden für Citrinin in Cerealien veröffentlicht worden (2), bei denen dünnschichtchromatographische (3) und hochleistungsflüssigchromatographische (4, 5) Verfahren vorgeschlagen wurden. In dieser Arbeit wird ein einfaches Probenaufarbeitungsverfahren vorgestellt. Die Probenextrakte werden unter Verwendung einer gepufferten HPLC-Silicagelsäule aufgetrennt und das Citrinin fluorimetrisch nachgewiesen und bestimmt. Mit dieser Methode wurden verschiedene Cerealienproben auf das Vorkommen von Citrinin untersucht.

Experimentelles

Bestimmung von Citrinin

Allgemeines

Der saure Charakter sowie die fluoreszierende Eigenschaft von Citrinin begünstigt dessen spurenanalytische Erfassung. Probleme traten jedoch bei der Hochdruckflüssigchromatographie insofern auf, als Citrinin bei der Normalphasenchromatographie irreversibel an Silicagel gebunden wurde. Die Chromatogra-

phierung von Citrinin als Ionenpaar auf Reversed-Phase ist möglich (4), aber mit dem Nachteil verbunden, dass das Ionenpaar keine fluoreszierenden Eigenschaften mehr aufweist und UV-photometrisch mit entsprechend geringerer Empfindlichkeit nachgewiesen werden muss. Durch eine Nachkolonnen-Säure-Zudosierung ist es möglich, das Ionenpaar zu zerstören und Citrinin fluorimetrisch nachzuweisen. Einfacher jedoch kann Citrinin auf einer stark sauer gepufferten Silicagelsäule chromatographiert werden. Die Herstellung der auf pH 2,5 gepufferten Silicagelsäule erfolgte nach *Schwarzenbach* (6).

Probenaufarbeitung

40 g fein zerkleinertes Probematerial werden in eine 250-ml-Serumflasche eingewogen, mit 150 ml Chloroform und 20 ml 0,1 M Phosphorsäure versetzt und 5 Minuten gemixt. Durch Zentrifugieren wird eine saubere Phasentrennung erreicht. Mit einem Spatel wird der Cerealienkuchen vorsichtig geneigt, so dass 100 ml (entsprechend 26,7 g Einwaage) der klaren Chloroformlösung entnommen werden können.

Bereitung der Extrelut®-Säule

7 g Extrelut®-Nachfüllmaterial werden in einem Becherglas mit 10 ml 1%iger Natriumbicarbonatlösung gleichmässig benetzt. Das Adsorbens wird in eine verkürzte Extrelut®-Säule eingefüllt, durch Klopfen verdichtet und der Stempel aufgesetzt. Am Ausfluss wird ein Hahn angebracht.

Die 100 ml Chloroformlösung werden auf die vorbereitete Säule gegeben und langsam durchlaufen gelassen. Mit 2mal je 40 ml Chloroform wird die Säule gespült und hernach ausgeblasen. Die erhaltenen Eluate werden verworfen. Der Ausflusshahn wird verschlossen, der Stempel entfernt und eine Mischung aus 30 ml Chloroform + 1 ml 100%ige Ameisensäure auf die Säule gegeben und mit einem Glasstab vollständig gemischt. Die Lösung wird in einen Spitzkolben ablaufen gelassen. Nach dem Aufsetzen des Stempels und leichter Komprimierung der Säulenpackung wird 2mal mit je 40 ml Chloroform gespült. Die Spüllösungen werden ebenfalls im Spitzkolben aufgefangen. Die vereinigten Eluate werden am Rotavap bei 40 Grad und Wasserstrahlvakuum zur Trockene eingeengt.

Hochleistungsflüssigchromatographie

Der ad 1,00 ml Chloroform gelöste Rückstand wird auf einer gepufferten Silicagel-Säule chromatographiert.

Bereitung der gepufferten Säule (6)

Spülen der Säule (z. B. Lichrosphere Si 100, 5 μm, 300 × 4,6 mm, Merck) mit ca. 50 Säulenvolumina Methanol, hernach mit ca. 50 Säulenvolumina Wasser.

Durchpumpen von ca. 80 Säulenvolumina Pufferlösung (0,2 M Citronensäurelösung, die mit gesättigter Dinatrium-Hydrogenphosphat-Lösung auf den pH-Wert 2,5 eingestellt wurde). Die Säule wird an eine Stickstoffbombe angeschlossen und die überschüssige Pufferlösung ausgeblasen. Die Säule wird im Trockenschrank bei 80 Grad durch 20stündiges Durchleiten von Stickstoff getrocknet.

Trennbedingungen

Mobile Phase: 60% n-Hexan, 40% Chloroform
Fluss: 1 ml/min
Injektionsvol.: 10 μl
Standardlösung: 0,5 ng Citrinin (Sigma Chemical Company, St. Louis, MO. USA, aus Penicillium citrinum)/μl Chloroform

Fluorimetrische Detektion

Fluorimeter Perkin-Elmer 650-10S, Anregungswellenlänge 360 nm, Emissionswellenlänge 500 nm.

Retentionszeit von Citrinin: 13–18 min

Bemerkung: Polare Verunreinigungen aus den Probelösungen können die Trennleistung der HPLC-Säule merklich herabsetzen und die Retentionszeit von Citrinin verkürzen. Es empfiehlt sich deshalb, diese Verunreinigungen von Zeit zu Zeit mit 5% Methanol/95% Chloroform wegzuspülen (50 ml genügen zumeist).

Wiederfindung

Zur Überprüfung der Methode wurden Verstärkungsversuche durchgeführt. Die Resultate sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1. Verstärkungsversuche/Wiederfindung des Citrinins

Verstärkungsniveau μg/kg	Analysenprobe	Wiederfindung %
1,0	Ruchmehl	82,0
5,0	Ruchmehl	86,4
5,0	Hartweizengriess	98,2
10,0	Ruchmehl	87,6
10,0	Ruchmehl	99,5
20,0	Ruchmehl	77,1
20,0	Ruchmehl	77,2
30,0	Ruchmehl	80,3
30,0	Ruchmehl	83,8
30,0	Ruchmehl	93,2

Typische Chromatogramme sind in Abbildung 1 dargestellt.

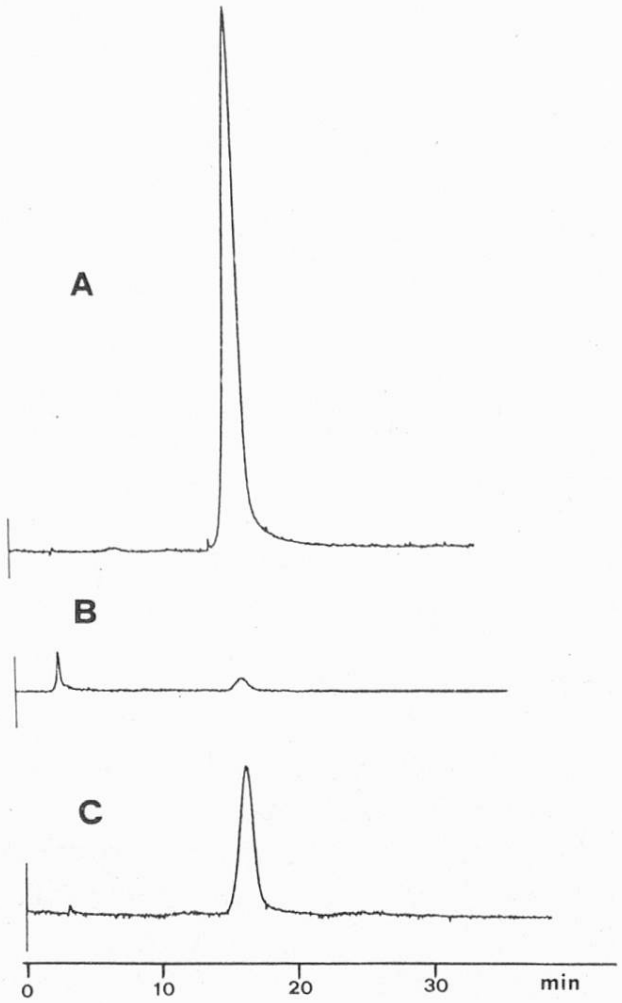

Abb. 1. Hochdruckflüssigchromatogramme von Citrinin. Bedingungen siehe Text
A Extrakt eines mit Penicillium viridicatum beimpften Ruchmehles. Der Citriningehalt wurde zu 6,9 mg/kg berechnet
B Extrakt eines Ruchmehles. Citriningehalt 0,6 μg/kg
C Citrininstandard (5,3 ng)

Vorkommen von Citrinin in Cerealien

Verschiedene auf dem Platz Bern erhobene Cerealienproben wurden auf das Vorhandensein von Citrinin analysiert. In Tabelle 2 sind die gefundenen Citrininkonzentrationen zusammengestellt.

Der Höchstwert an Citrinin in den untersuchten Cerealien lag bei 1 μg/kg. Bei den meisten Proben war der Citriningehalt unter der Nachweisgrenze von 0,1 μg/kg. Eine Ruchmehlprobe wurde versuchsweise mit dem citrininbildenden Organismus Penicillium viridicatum (No 26169, American Type Culture Collection, 12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852 USA) beimpft und nach einer 1wöchigen Inkubation bei Raumtemperatur auf Citrinin analysiert: Der erwartete hohe Citriningehalt lag bei 6,9 mg/kg.

Tabelle 2. Citrininkonzentrationen in Cerealienproben

Analysenprobe	Gehalt in µg/kg		Analysenprobe	Gehalt in µg/kg
Ruchmehl	nn		Hartweizengriess	0,3
Ruchmehl	0,2		Hartweizengriess	nn
Ruchmehl	1,0		Hartweizengriess	0,7
Ruchmehl	0,6		Hartweizengriess	nn
Ruchmehl	0,5		Teigwaren	0,5
Ruchmehl	nn		Teigwaren	nn
Ruchmehl	nn			
Ruchmehl	0,6		Weizenkleie	nn
Ruchmehl	0,7		Weizenkleie	nn
Ruchmehl	nn		Weizenkleie	nn
Ruchmehl	0,3		Weizenkleie	nn
Ruchmehl	nn		Weizenkleie	nn
Ruchmehl	0,2			
Ruchmehl	nn		Maisgriess	nn
			Maisgriess	nn
Bauernbrotmehl	nn			
Bauernbrotmehl	0,6		Hafergrütze	nn
Haushaltmehl	0,7		Haferkerne	nn
Vollweizenmehl	0,7			
Vollweizenmehl	nn		Vollreis	nn
Vierkornbrotmischung	nn			
Vollkornmehl	nn		Vollgerste	nn

nn = kleiner als 0,1 µg/kg

Zusammenfassung

Für die Bestimmung von Citrinin in Cerealien wird ein einfaches Probenaufarbeitungsverfahren vorgestellt. Die Extrakte werden auf einer auf pH 2,5 gepufferten Silicagel-HPLC-Säule getrennt und das Citrinin fluorimetrisch erfasst. Bei einer Nachweisgrenze von 0,1 µg/kg wurden in 14 von 38 Cerealienproben Gehalte von 0,2 bis 1,0 µg/kg gefunden.

Résumé

Une méthode de détermination de la citrinine dans les céréales est décrite. Elle consiste en une purification au moyen d'Extrelut®, suivie de l'analyse par HPLC sur une colonne de gel de silice tamponné, avec détection fluorimétrique (limite de détection : 0,1 µg/kg). Des quantités de citrinine allant de 0,2 à 1 µg/kg ont été déterminées dans 14 des 38 échantillons de céréales analysés.

Summary

A procedure for the determination of citrinin in cereals is described. It consists of an Extrelut® clean-up and HPLC on a buffered silica gel column with fluorimetric detection (detection limit 0.1 μg/kg). In 14 of a total of 38 analyzed samples of cereals citrinin was detected in the range of 0.2–1 μg/kg.

Literatur

1. *Hanika, C., Carlton, W. W.* and *Boon, G. D.:* Citrinin mycotoxicosis in the rabbit: Clinicopathological alterations. Food. Chem. Toxic. **22**, 999–1008 (1984).
2. *Trantham, A. L.* and *Wilson, D. M.:* Fluorometric screening method for citrinin in corn, barley and peanuts. J. AOAC. **67** (1), 37–38 (1984).
3. *Gimeno, A.:* Determination of citrinin in corn and barley on thin layer chromatographic plates impregnated with glycolic acid. J. AOAC. **67** (1), 194–196 (1984).
4. *Nakagawa, T., Kawamura, T., Fujimoto, Y.* and *Tatsuno, T.:* Determination of citrinin in grain by reversed-phase ionpair partition chromatography. Shokuhin Eiseigaku Zasshi **23**, 297–301 (1982).
5. *Lepom, P.:* Simultaneous determination of the mycotoxins citrinin and ochratoxin A in wheat and barley by high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. **355**, 335–339 (1986).
6. *Schwarzenbach, R.:* Adsorption chromatographic separations on buffered silica gel. J. Chromatogr. **334**, 35–48 (1985).

Dr. R. Dick
Dr. B. Baumann
Dr. B. Zimmerli
Bundesamt für Gesundheitswesen
Abteilung Lebensmittelkontrolle
Sektion Lebensmittel- und Radiochemie
Postfach
CH-3000 Bern 14