

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

**Band:** 85 (1994)

**Heft:** 5

**Artikel:** Fusarientoxine in Cerealien und cerealienhaltigen Nahrungsmitteln : Methode zur Bestimmung der wichtigsten Trichothecene und erste Ergebnisse = Trichothecenes in cereals and food containing cereals : method and first results

**Autor:** Wegmüller, Fritz / Steiner, Walter

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-982770>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

**Download PDF:** 14.10.2024

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

## **Fusarientoxine in Cerealien und cerealienhaltigen Nahrungsmitteln**

### **Methode zur Bestimmung der wichtigsten Trichothecene und erste Ergebnisse**

Trichothecenes in Cereals and Food Containing Cereals  
Method and First Results

*Key words:* Mycotoxins, Trichothecenes, Cereals, Fodder maize, Deoxinivalenol

*Fritz Wegmüller*

Kantonales Laboratorium Zürich, Zürich

*Walter Steiner*

Zentrallaboratorium Migros-Genossenschaftsbund, Zürich

### **Einleitung**

Der Verzehr von verschimmelten trichothecenbelasteten Lebensmitteln führte bei Menschen und Tieren in Indien (1984/85) und China (1987) zu epidemischen Erkrankungen (1). Erstmals konnten dabei die Krankheitssymptome direkt mit Fusarien und Trichothecenen durchsetzten Weizenmehlen korreliert werden, welche die Erkrankten in Form von Brot zu sich genommen hatten. Positive Gehalte im Konzentrationsbereich von  $\leq 3$  mg/kg wurden für die Trichothecene Nivalenol (NIV), Fusarenon X (FUSX), Diacetoscirpenol (DAS), HT-2-Toxin (HT-2), T-2-Toxin (T-2) und 3-Acetyl-DON betimmt. Deoxinivalenol (DON), das weltweit am häufigsten in Futter- und Nahrungsmitteln nachgewiesene Trichothecen, liess sich in Konzentrationen von 8–40 mg/kg im Probengut nachweisen (1). Da verlässliche Daten über die Trichothecenverteilung in schweizerischen Lebensmitteln fehlen, suchten wir nach einer Bestimmungsmethode, welche die häufigsten Trichothecene in einem Arbeitsgang erfasst. Verfahren mit Hydrolyseschritten (2) fielen ausser Betracht, weil die entstehenden Spaltprodukte von NIV und FUSX bzw. von T-2, HT-2 und Neosolaniol (NEO) nicht mehr voneinander zu unter-

scheiden sind. Beim Versuch, einige Literaturvorschriften (1) für verschiedene Lebensmittel nachzuvollziehen, interferierten oft Beiträge von unbekanntem Stoffen. Beispielsweise resultierten bei nach *Scott et al.* 1989 (3) analysierten Proben häufig zu hohe Nivalenol- und T-2-Toxingehalte, die massenspektrometrisch nicht bestätigt werden konnten. Mit der unten vorgestellten GC-MS-Methode konnten Cerealien, Kindernährmittel und verschiedene Mahlprodukte erfolgreich auf die Trichothezene NIV, DON, FUSX, NEO, DAS, HT-2 und T-2 überprüft werden.

## Methode

### Reagenzien

- Organische Lösungsmittel, pro analysi Qualität (Merck, D-Darmstadt).
- Ethylacetat (EA), Acetonitril (AN), Methanol (MeOH) und tert. Butylmethylether (MTBE) sind in einer Destillationsanlage Typ D 21 (ILUDEST, D-97753 Karlstadt) nachgereinigt worden. Sämtliche Lösungsmittel (inklusive Toluol (TOL) und Pyridin (Py)), die man nach der Florisilreinigung einsetzt, werden über getrocknetem Molekularsieb (Trocknen des Molekularsieves: 500 °C/1 h, Volumenanteil ca. 20%) gelagert.
- Petrolether (PE), Typ: 30–50 °C (Siegfried, CH-4800 Zofingen).
- Trifluoressigsäureanhydrid (TFA), No. 91719 (Fluka, CH-9470 Buchs).
- Silylierungsmittel Tri-Sil/TBT No. 49016, Pierce Chemicals (Socochim, CH-1007 Lausanne).
- Nivalenol, HT-2, T-2 und Neosolaniol (Sigma Chemicals, St. Louis (USA)). Deoxynivalenol, Fusarenon X (Serva, D-Heidelberg) und Diacetoxiscirpenol
- (Senn Chemicals, CH-8157 Dielsdorf).

### Geräte

- Zentrifugalmühle, Typ Retsch ZM1, Sieb 0,5 mm (Schieritz & Hauenstein, CH-4144 Arlesheim).
- Mixer, Typ 8010 (Bender & Hobein, CH-8000 Zürich).
- Ultraschallbad, Typ Sonorex RK 100 H (IG, CH-3014 Bern).
- HRGC-MS: Typ 2150/QMD 1000 (Carlo Erba, I-Milano).
- Trennsäule HRGC-MS aus Alkalisilikatglas, Kant. Laboratorium ZH (I: 20 m, Dia: 0,32, 0,3% Methylsilikon (MeSi), 1% Decumylperoxid/MeSi, Retention Gap und Transferline zu MS aus Quarzglas silanisiert (I: je 1 m, Dia: 0,32 bzw. 0,25 mm).
- Trägergas He (Typ: 50, Carba, CH-8153 Rümlang).
- Planflanschreaktionsgefäß aus Glas (Vol. 1000 ml) mit Destillationsaufsatz und N<sub>2</sub>-Gasanschluss (Schmizo AG, 4800 Zofingen).

- Spritzen aus Glas mit Tefloneinsätzen, Volumina: 0,1/1/10 ml (Brechtbühler, CH-8952 Schlieren; Macherey-Nagel, CH-4702 Oensingen).
- Spitzkölbchen aus Glas, Volumina: 15/30 ml, Glasampullen, Typ: NC Flint, No. 1400, 1 ml.
- Serumfläschchen aus Glas, Typ 8002H/8003 (Infochroma, CH-6300 Zug).
- Papierfilter, Typ 311651/311693 (Schleicher & Schüll).
- Florisil-Sep-Pak-Cartridges, Typ 51960 (Millipore Corp., Milford, MA 01757 (USA)).
- Lösungsmittelbeständige Filter, Typ Millipore SJFHL04NS/FH/0,5 µm (Millipore, Milford, s. oben).

## *Vorbereitungen*

### *Trichothecen-Arbeitslösung*

- Ausgehend von Stammlösungen à 0,1 mg Trichothecen/ml EA (DON in MeOH) wurde eine Arbeitslösung hergestellt, die alle genannten Trichothecene in einer Konzentration von 1 µg/ml EA enthielt.

### *Silanisierung der Glasgefäße und Ampullen*

- 600 ml Toluol in 1000-ml-Planflanschreaktionsgefäß mit Destillationsaufsatz vorgeben.
- Durch Überdestillieren von ca. 50–100 ml unter N<sub>2</sub>-Strom das Toluol vortrocknen.
- Zugabe von 2 ml Tri-Sil/TBT und 2 ml Pyridin (Toluol 105–110 °C).
- Glasgefäße beifügen und während 2 h unter gelindem Sieden (analog dem Vortrocknen) reagieren lassen.
- Silylierungslösung heiss abgiessen und Glasgefäße 2 x mit Toluol und 2- bis 3 mal mit MeOH spülen.
- Im Trockenschrank bei 120 °C/1 h trocknen lassen und im Exsikkator bis zu deren Verwendung lagern.

### *Nachsilanisierung der GC-Trennsäule*

- Säule mit 2–3 ml getrocknetem Toluol bei 110 °C vorspülen.
- Unter He oder Stickstoff (< 0,1 bar, 110 °C, 1 h) die Säule mit 5 ml Tri-Sil/Pyridin (1/1) fluten.
- Unter He (0,1 bar) die Säule bei 250 °C/3 h ausheizen.
- Bei 110 °C mit 0,5 ml getrocknetem Toluol spülen.
- Über Nacht die Säule bei 200 °C/10–15 h/0,5 bar He ausheizen.

### *Konditionierung von Florisil-Sep-Pak-Cartridges*

- Kartuschen mit 5 ml MeOH spülen.
- MeOH während ½ h einwirken lassen.

- Unmittelbar vor Gebrauch mit 5 ml Chloroform/MeOH/EA (97/2/1) konditionieren.

### *Probenahme, -vorbereitung*

- Probengröße von nicht homogenisiertem bzw. ungemahlenem Probengut im Kilogramm-Bereich.
- Proben bei minus 18 °C lagern.
- Heterogenes Probengut homogenisieren, trockenes Probengut mahlen (Siebgröße 0,5 mm).
- Stabile Emulsionen, Dispersionen oder Lösungen unverändert einsetzen.

### *Arbeitsvorschrift*

#### *Temperaturlimite*

Während der gesamten Aufarbeitung sollte die Temperatur von  $\leq 30$  °C nicht überschritten werden.

#### *1. Extraktion der Trichothecene aus dem Probengut*

- 5 g Probengut mit 200 ml AN/EA/ISOP/W (2/2/2/1) versetzen und im Mixer (5 min) die Trichothecene extrahieren.
- Die Feststoffpartikel filtern und verwerfen.

#### *2. Fettabtrennung*

- 20 ml Extrakt (evtl. unter Zugabe von 50–500 ml Arbeitslösung) in 30 ml Spitzkolben am Rotavapor zur Trockne einengen.
- Den Rückstand in 5 ml MeOH/W/EA (100/10/0,1) aufnehmen.
- 5 ml PE/TOL/n-Hexan (1/1/1) zufügen und 3 min intensiv schütteln.
- Die Phasen während 5–10 min trennen lassen.
- Die untere (methanolische) Phase mittels Pasteurpipette in ein neues Gefäß transferieren und erneut mit 5 ml PE/TOL/n-Hexan (1/1/1) ausschütteln.
- Die methanolische Phase in einen silanisierten Spitzkolben filtrieren und unter Zugabe von 5 ml AN zu einem Restvolumen von  $\leq 1$  ml, wie oben, zur Trockne einengen.

#### *3. Florisilreinigung*

- Den Rückstand durch kurzzeitiges Beschallen in 0,4 ml Chloroform/MeOH/EA (97/2/1) aufnehmen.
- Die Lösung durch Millipore-Filter reinigen und auf eine mit Chloroform/MeOH/EA (97/2/1) gefüllte Sep-Pak-Kartusche laden.
- Die Kartusche mit 0,5 ml Chloroform/MeOH/EA (97/2/1) spülen.
- Die Trichothecene mit 20 ml desselben Lösungsmittelgemisches eluieren.

- Das Eluat am Rotavapor zur Trockne einengen.
- Den Rückstand unter Beschallen in 0,5 ml EA (über Mo.sieb) lösen und in eine silanisierte Glasampulle transferieren.

#### 4. TFA-Derivate

- Vermerk: Bei der nachfolgenden Derivatisierung werden sämtliche Hydroxylgruppen durch TFA umgesetzt (NIV: 4, DON: 3, FUSX: 3, DAS: 1, NEO: 2, HT-2: 2, T-2: 1).
- Die Lösung mit Stickstoff auf wenige  $\mu\text{l}$  abblasen und die Prozedur mit 200  $\mu\text{l}$  MTBE/EA/AN (5/5/1, über Mo.sieb) wiederholen.
- Unter Stickstoff je 150  $\mu\text{l}$  TFA und MTBE/EA/AN (5/5/1) zufügen (TFA in Exsikkatoren über Silikagel lagern, Lagerzeit maximal 2–3 Wochen).
- Die Ampullen zuschmelzen und das Gemisch bei 110 °C/30 min reagieren lassen.
- Abkühlen, 200  $\mu\text{l}$  Toluol zufügen und mit Stickstoff auf wenige  $\mu\text{l}$  einengen.
- Das Prozedere mit 200  $\mu\text{l}$  Toluol solange wiederholen (2–3 x), bis das entweichende Gasgemisch feuchtes Merck-Universalindikator nicht mehr verfärbt.
- Den Rückstand in 500  $\mu\text{l}$  getrocknetem EA aufnehmen, in Serumfläschchen transferieren, mit Aluminiumfolie überdecken und mit den entsprechenden Alu-Verschlüssen verschliessen.
- Lösung bei 4 °C aufbewahren (Haltbarkeit: 1–2 Wochen).

#### 5. GC-MS-Messparameter

##### a) GC

- Trägergas: He, 1 bar
  - Injektion: on column, 0,5–2  $\mu\text{l}$
  - Temperatur-Zeit-Programm
- | Step | Heizmodus | Zeitdauer | Temperatur |
|------|-----------|-----------|------------|
| A    | isotherm  | 3 min     | 70 °C      |
| B    | 25 °C/min | 4 min     | bis 110 °C |
| C    | 05 °C/min | 20 min    | 230 °C     |
| D/   | 25 °C/min | 3 min     | bis 290 °C |
| E    | isotherm  | 15 min    | 290 °C     |

##### b) MS

- Temperatur der Transferline: 250 °C.
- Filament: 70 eV, 100  $\mu\text{A}$ , 200 °C.
- Multiplier: 750 V, dwell time: 0,08 s, inter channel time: 0,02 s
- Modus: EI+, MID.

## 6. Screening und Identifikation

In Screening Tests werden die toxinbelasteten Proben aussortiert. Im Gegensatz zu den nachfolgenden quantitativen Bestimmungen werden sämtliche Trichothecene gleichzeitig massenspektrometrisch erfasst (Tabelle 1). Pro Trichothecen wird dabei lediglich eine Masse, die des Moleküls oder diejenige des höchsten Massenfragmentes, bestimmt. Identifiziert werden die einzelnen Trichothecenderivate über die Retentionszeiten, die Massenfragmente und die Massenverhältnisse (Tabelle 1). Die Massenverhältnisse variieren geräteabhängig. Die entsprechenden Datensätze sind somit für jede GC-MS-Einheit neu zu erstellen.

Tabelle 1. Trichothecen-TFA-Derivate: Retentionszeiten und detektierte Massen

Toxine	$R_t$	$m/z_1$	$m/z_2$	$m/z_3$	Massenverhältnisse
DON	14.2	584	347	259	$584/259 = 0,41 \pm ,03$
FUSX	17.1	642	469	427	$642/469 = 0,28 \pm ,02$
NIV	13	696	359	257	$696/257 = 0,61 \pm ,05$
DAS	20.6	403	402	401	$403/402 = 0,21 \pm ,02$
NEO	20.8	401	400	357	$401/400 = 1,90 \pm ,10$
HT-2	23.2	455	472	327	$472/455 = 1,00 \pm ,10$
T-2	26.6	401	400	327	$401/327 = 0,75 \pm ,20$

$R_t$ : Retentionszeiten (min),  $m/z$  1, 2, 3: detektierte Massen

$m/z_1$ : Derivate über die Signalausbeuten dieser Massen quantifiziert

## 7. Auswertung der MS-Spektren

Durch Flächenvergleiche zwischen Massenpeaks von extern aufgearbeiteten Standards und den entsprechenden Signalen der Proben werden die Trichothecengehalte ermittelt.

Die Berechnung der Gehalte erfolgt nach der Formel [1]

$$T_i = \frac{A * T_s * V_s * f * 10}{A_s * V * E} \quad [1]$$

$T_i$  = Konzentration des Trichothecens i im Probengut (mg/kg)

$A, A_s$  = Peakflächen der Probe ( $A$ ), des Standards ( $A_s$ )

$V, V_s$  = in GC-Kapillare eingespritzte Volumina ( $V$ : Probe,  $V_s$  Standard) ( $\mu$ l)

$V_{EA}$  = Volumen der EA-Probeflösung (Punkt 4) ( $\mu$ l)

$T_s$  = Trichothecenkonzentration im Standard (ng/ $\mu$ l)

$E$  = Einwage in g

$f$  = Verdünnungsfaktor =  $V_{EA}/V$

## Ergebnisse und Diskussion

### *Methodisches*

#### *Lösungsstabilitäten*

Die TFAA-Derivate liessen sich in EA gelöst während ca. 2 Wochen im Kühlschrank bei 4 °C lagern. Die Standardarbeitslösung konnte über die Dauer von 1–2 Jahren bei 4 °C stabil aufbewahrt werden.

#### *Wiederfindungsraten*

Die Vergleiche zwischen MS-Signalen von TFA derivatisierten Reinsubstanzen und aufgearbeiteten toxinunbelasteten Mais- und Weizenproben mit Trichothecenzusätzen von 100–500 ng je Trichothecen zeitigten Wiederfindungsraten von 40–80 % für NIV, FUSX und T-2-Toxin bzw. von 60–100% für DON, DAS, NEO und HT-2-Toxin. Die Raten variierten unabhängig von den eingesetzten Trichothecemengen und dem beigefügten Mais oder Weizen. Geringfügige Empfindlichkeitsänderungen der GC-Säule (vergleiche unten) beeinträchtigten vermutlich die Konstanz der Wiederfindungsraten.

#### *Nachweisgrenzen*

Die Nachweisempfindlichkeit der Methode war im wesentlichen von der Derivatisierung, dem Silanisierungsgrad der Glasoberflächen und den MS-Bedingungen abhängig. Besondere Beachtung war der Silanisierung der GC-Säule beizumessen. Wurden GC-Säulen mit unzureichenden Silanolschichten verwendet, resultierten geringere Detektionsempfindlichkeiten (Faktor: 10–100). Wurden nach positiven Vortests die Trichothecene einzeln detektiert, resultierten für alle Trichothecene Nachweisgrenzen von < 10 ng/g Probe. Bei den Screening-Tests variierten diese Grenzen zwischen 20–60 ng/g Probe. Unter optimalen GC-MS-Bedingungen liessen sich selbst bei den Vortests Trichothecenzusätze von 20 ng je Trichothecen pro Gramm unbelasteter Maisprobe mit Ist-Sollwert-Abweichungen von 10–20% wiederfinden. Die Empfindlichkeit der Methode deckt sich mit der Mehrheit der im WHO-Bericht (1) resümierten Arbeiten.

#### *Richtigkeit und Reproduzierbarkeit*

In Tabelle 2 sind die Analysendaten von zwei zertifizierten BCR-Proben ((4), Weizen RM 379 und Mais RM 378) und zwei Futtermaisproben A und B aus der Schweiz festgehalten. Die gefundenen DON-Werte stimmen innerhalb der beobachteten Streuungen mit den zertifizierten Gehaltsangaben überein. Die Standardabweichungen von 30 bzw. 50% lagen deutlich über den Referenzwerten. Ähnlich streuten die Analysendaten der zwei DON-belasteten Futtermaisproben A und B. Versuche mit derivatisierten Standards zeigten, dass die beobachteten Streuungen im wesentlichen den oben erwähnten Empfindlichkeitsschwankungen der GC-Säule zuzuordnen sind.

*Tabelle 2.* DON-Gehalte bestimmt an zertifiziertem Weizen und Mais (4) und zwei Futtermaisproben A und B aus der Schweiz (Erntejahr 1989)

Probe	eigene Untersuchungen			zertifizierte DON-Werte	
	Anzahl Analysen	$\bar{x}$ (mg/kg)	$s$ (mg/kg)	$\bar{x}$ (mg/kg)	$s$ (mg/kg)
RM 379	5	500	240	670	20
RM 378	9	376	128	430	30
Mais A	5	830	200	—	—
Mais B	6	390	160	—	—

$\bar{x}$  = Mittelwert

$s$  = Standardabweichung

In der Umgebung des GC-Peaks von T-2-Toxin interferierten bei einigen aufgearbeiteten Weizenproben Peaks mit ähnlicher Retention.

### *Untersuchte Lebensmittel*

#### *Probengut/-handling*

Sämtliche in der Tabelle 3 aufgeführten Lebensmittelproben wurden nach der oben beschriebenen Methode auf DON, NIV, FUSX, DAS, NEO, HT-2 und T-2-Toxin untersucht. Die Resultate der mit Trichothecenen belasteten Proben sind

*Tabelle 3.* Sämtliche auf Trichothecenenrückstände untersuchte Lebensmittel

Lebensmittel	gemahlen	Herkunft	Erntejahr	Probenzahl
Weizen	—	Kanada	90/93	8
Weizen	x	biol. Anbau, CH	93	1
Dinkel	x	biol. Anbau, CH	93	1
Korn	x	biol. Anbau, CH	93	1
Korngemische	x	biol. Anbau, CH	93	6
Mais <sup>1</sup>	x	CH	92	4
Futtermais	—	CH	92	4
Futtermais <sup>2</sup>	—	CH	87/89/91	8
Weizenkleie	—	biol. Anbau, CH	1993	4
Haferkleie	—	biol. Anbau, CH	1993	2
Magermilchpulver	x	CH	1991	1
Babynahrung <sup>3</sup>	x	CH	1991/2/3	27
			Total	67

<sup>1</sup> Mais für Humanernährung

<sup>2</sup> Proben mit rotfluoreszierenden Kornfragmenten

<sup>3</sup> ca. 1/3 der Proben waren Fertiggerichte, die restlichen 2/3 bestanden aus Trockenprodukten für pastöse und flüssige Zubereitungen.

Tabelle 4. Proben mit positiven Trichothecenergebnissen

Probe	Erntejahr (mg/kg)	DON <sub>tot</sub> <sup>iii</sup> (mg/kg)	DON <sub>rF</sub> (mg/kg)	DON <sub>orF</sub> (mg/kg)
A	1987	190	185	43
B	1987	60	57	14
C	1989	465	136	465
D <sup>i</sup>	1989	420 ± 240	481	414 ± 237
C	1989	390 ± 160	807 ± 204	385 ± 158
E	1991	200 ± 50	–	–
F	1991	150 ± 50	–	–
G <sup>ii</sup>	1991	40	–	–

i NIV<sub>tot</sub>: 280 mg/kg

ii FUSX<sub>tot</sub>: 100 mg/kg, HT-2<sub>tot</sub>: 20 mg/kg

iii DON<sub>tot</sub> (Proben A–C): berechnete DON-Gehalte aus den Wertepaaren der Fraktionen mrF (mit roter) und orF (ohne rote) Fluoreszenz

– Proben unaufgetrennt gemessen

in der Tabelle 4 aufgeführt. Bei den Proben der Tabelle 4 fluoreszierten einzelne Körner unter dem langwelligen UV-Licht rot. Bei verschiedenen Proben wurden die rotfluoreszierenden Körner durch Handpicken an- bzw. abgereichert. Die mit rotfluoreszierenden Körnern angereicherten Aliquote (Mengenanteile: 20–200 g/20 kg) sind mit dem Kürzel rF, jene an rotfluoreszierenden Kornanteilen abgereicherten Fraktionen mit orF gekennzeichnet. Unter der Abkürzung «tot» sind Trichothecengehalte der unaufgetrennten Proben aufgeführt (vgl. Tabelle 4). 23 rotfluoreszierende Mais Kornfragmente der Probe C (Tabelle 4) wurden einzeln analysiert. Die Gewichte der Kornfragmente variierten zwischen 0,1 und 0,3 g. Die Messergebnisse dieser Probenreihe sind in Tabelle 5 festgehalten.

Tabelle 5. DON-Verteilung in rotfluoreszierenden, DON-belasteten Kornfragmenten eines Futtermaises der Ernte 1989

DON <sub>orF</sub> (mg/kg)	Anzahl Fragmente <i>n</i>	Gewichtsanteile (%)
2000–1000	2	12
1000–500	0	–
500–100	5	21
100–10	11	42
< 10	5	25

### Analysenresultate

Bei keiner der für die Humanernährung bestimmten Lebensmittelproben (Cerealien: 21, Kleie: 6, Milchpulver: 1, Kindernährmittel: 27) wurden positive Trichothecenanteile gefunden. Sämtliche Toxingehalte lagen unter den entsprechenden

Nachweisgrenzen. Dasselbe Ergebnis lieferten Analysen von vier Futtermaisproben des Jahrganges 1992. Einzig die Futtermaisproben aus den Jahren 1987/89/91, die unter ungünstigen klimatischen Bedingungen reiften und/oder geerntet wurden, zeigten positive Trichothecenanteile (Tabelle 4). DON-Konzentrationen von  $40 - \leq 1000$  mg/kg wurden in diesen Maisproben nachgewiesen. In den Proben D und G von 1991 (Tabelle 4) wurden auch Rückstände der Toxine NIV, FUSX und HT-2 nachgewiesen.

### *Trichothecenbelastete Futtermaisproben*

Im Gegensatz zu den toxinunbelasteten Proben waren die DON-enhaltenden Maiskörner grau verfärbt und wiesen aufgerauhte, z.T. stark beschädigte Oberflächen auf. Einzelne Kornfragmente dieser Proben fluoreszierten unter dem langwelligeren UV-Licht intensiv rot. Die Analysen der aussortierten rotfluoreszierenden Maiskörner ( $\text{DON}_{rF}$ , Tabelle 4) zeigten aber ähnliche DON-Gehalte wie die der verbliebenen Probenaliquote ( $\text{DON}_{orF}$ ). Unter der Annahme, dass das Handpicken mindestens 90% der rotfluoreszierenden Körner erfasste, wären bei den unterschiedlichen Massen ( $rF: 0,020 - 0,20$  kg,  $orF: 20$  kg) DON-Konzentrationsunterschiede von einem Faktor  $\geq 10$  zu erwarten. Eine direkte Korrelation zwischen der beobachteten roten Fluoreszenz und den bestimmten Trichothecengehalten lässt sich somit ausschließen. Die Resultate der einzeln analysierten rotfluoreszierenden Kornfragmente der Probe C (Tabelle 5) zeigen, dass, analog den Gehaltsvariationen von Aflatoxinen und anderen Mykotoxinen in Cerealien (5), DON im Probengut inhomogen verteilt ist. Die DON-Gehalte variierten um einen Faktor 1000 ( $< 10$  mg/kg und  $2000$  mg/kg). 30% der Körner zeigten DON-Konzentrationen  $> 100$  mg DON/kg.  $\frac{2}{3}$  der Kornfragmente waren mit geringen DON-Mengen ( $< 100$  mg/kg) belastet. Da selbst die Kornfragmente mit den höchsten DON-Gehalten ähnlich grosse fluoreszierende Bezirke wie jene der schwach kontaminierten aufwiesen, verweisen auch diese Messergebnisse darauf, dass die rotfluoreszierende(n) Substanz(en) nicht mit den Trichothecengehalten korrelieren. Andere Stämme des gleichen Pilzes, Fusarien anderer Gattungen (6, 7) und/oder Anteile des Pilzes *Mycelia sterilia* Ord. (8) können für die rotfluoreszierenden Pigmentkomplexe verantwortlich sein. Möglicherweise sind die DON-enhaltenden Maisproben mit weiteren Mykotoxinen belastet, etwa jenen der Methyl-anthrachinon-Reihe (9). *Sevcenko* u. a. (8) wiesen bei rosa gefärbtem Roggen und Weizen rotfarbene Oxyderivate von Methylanthrachinon nach (u. a. das Mykotoxin Emodin), die Pilzfäden von *Mycelia sterilia* Ord. entstammten. Da sämtliche DON-aufweisenden Maisproben mit rotfluoreszierenden Kornfragmenten durchsetzt waren, scheint das Auftreten der roten Fluoreszenz auf toxinbelastete Cerealien hinzuweisen. Ob die beobachtete Fluoreszenz künftig in Screening Tests als treffsicheres Kriterium für toxinbelasteten Mais, Roggen, Weizen und evtl. weitere Cerealien genutzt werden kann, ist in eingehenderen Tests abzuklären.

## Schlussfolgerung

Die untersuchten Cerealien und cerealienhaltigen Lebensmittelprodukte (67 Proben) waren frei von Trichothecenen. Doch erst aus Daten von umfangreicheren Probenserien lässt sich ableiten, ob die in der Schweiz gehandelten Produkte tatsächlich weitgehend frei von Fusarientoxinen sind. Die positiven Befunde bei Futtermais mit DON-Gehalten von 100–1000 µg/kg zeigen zumindest auf, dass mit Trichothecen kontaminierte Proben auch hierzulande geerntet werden können und unterstreichen so die Notwendigkeit weiterer Untersuchungen.

## Dank

Für die verschiedensten Hilfeleistungen danken wir dem Kantonalen Laboratorium Basel-Stadt und dem Bundesamt für Gesundheitswesen sowie *A. Artho, K. Grob, P. Nägeli, St. Reber* und *E. Romann*.

## Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird eine Methode vorgestellt, welche die Erfassung der Trifluoracetyl-derivate von Deoxinivalenol, Nivalenol, Fusarenon X, Diacetoscirpenol, Neosolaniol, HT-2-Toxin und T-2-Toxin mittels GC-MS in Lebensmitteln ermöglicht. Die TFA-Trichothecenderivate liessen sich durch das Silylieren der Glasgefässe bis zu Toxinkonzentrationen von < 10 mg/kg reproduzierbar detektieren. In den untersuchten 21 Cerealienproben, 6 Kleieproben und 27 Kindernährmitteln konnten keine Trichothecene nachgewiesen werden. Positive DON-Gehalte zwischen 40–800 mg/kg wurden in schweizerischen Futtermaisproben der Ernten 1987/89/91 bestimmt. In einer dieser Proben liess sich auch Nivalenol (280 mg/kg) und in einer weiteren Fusarenon X (100 mg/kg) und HT-2-Toxin nachweisen. Vier Futtermaisproben der Ernte 1992 waren frei von Trichothecenen. Sämtliche mit Deoxinivalenol belasteten Futtermaisproben waren mit Kornfragmenten durchsetzt, die unter der UV-Lampe (360 nm) rot fluoreszierten. Eine direkte Korrelation zwischen der roten Fluoreszenz und den Deoxinivalenolgehalten liess sich aber nicht nachweisen.

## Résumé

Le présent travail décrit une méthode qui rend possible la détermination dans les denrées alimentaires des dérivés de trifluoroacétylés du déoxynivalénol, du diacétoscirpénol, de la fusarénone-X, de la toxine HT-2, du néosolaniol, du nivalénol et de la toxine T-2 à l'aide du GC-MS. La silylation des surfaces de la verrerie réduit la variation des résultats et rend possible la détection de dérivés TFA des trichothécènes dans le domaine de < 10 mg/kg. Dans les denrées alimentaires analysées (21 échantillons de céréales, 6 échantillons de son, 27 denrées alimentaires pour enfant) aucun trichothécène n'a pu être mis en évidence. Des concentrations en déoxynivalénol allant de 40 à 800 mg/kg ont été décelées dans 8 échantillons de maïs fourrager suisse des récoltes 1987/1989/1991. Dans un de ces échantillons on a pu mettre en évidence 280 mg/kg de nivalénol, dans un autre 100 ng/g de fusarénone-X et 20 ng/g

de toxine HT-2. Quatre échantillons de maïs fourrager de la récolte 1992 ne contenaient pas de trichothécènes. Tous les échantillons de maïs fourrager contaminés par le déoxynivalénol contenaient des fragments de grains fluorescents rouges. Il n'a cependant pas été possible de mettre en évidence une corrélation directe entre la fluorescence rouge et la teneur en déoxynivalénol.

### Summary

With the presented method the trifluoroacetyl derivatives of deoxinivalenol, nivalenol, fusarenon-X, neosolaniol, diacetoscirpenol, HT2-toxin and T2-toxin can be detected in different foods. The silylation of the glassware surfaces reduced the deviation of the data considerably and allowed to detect the toxins down to concentrations of  $\leq 10$  mg/kg. In the investigated foods (21 samples of cereals, 6 samples of bran, and 27 samples of baby foods) no trichothecenes were found. Eight samples of fodder maize kernels of Switzerland, harvested at 1987/1989/1991, were contaminated with deoxinivalenol between 40 and 800 mg/kg. Additionally, one of these samples contained 280 mg/kg nivalenol, another sample 100 mg/kg fusarenon-X and HT2-toxin. Four samples of fodder maize kernels of 1992, which were harvested in the same region, contained no detectable trichothecene amounts. All samples which were contaminated with deoxinivalenol contained maize kernels that exhibited red fluorescence under a UV light source of 360 nm. But no direct correlation between the deoxinivalenol content and the red fluorescence was found.

### Literatur

1. WHO Task Group (IPCS): Selected mycotoxins: Ochratoxins, trichothecenes. Environmental Health Criteria 105, p. 17–20, p. 71–164. World Health Organization, Geneva 1990.
2. Rood, Jr., H.D., Buck, W.B. and Swanson, St.: Gas chromatographic screening method for T-2 toxin, diacetophenol, deoxynivalenol and related trichothecenes in feeds. J. Assoc. Off. Anal. Chem. **71**, 493–498 (1988).
3. Scott, P.M., Lombaert, A., Pellaers, P., Bacler, S., Kanhere, S.R., Sun, W.F., Lau, P.-Y. and Weber, D.: Application of capillary gas chromatography to a survey of wheat for five trichothecenes. Food Additives and Contaminants **6**, 489–500 (1989).
4. Gilbert, J., Wagstaffe, P.J. and Boenke, A.: The certification of the 4-deoxynivalenol mass fraction in wheat and maize flour reference materials. Commission of the European Communities, BCR Information XII/214/92-EN, Brüssel (1992).
5. Steiner, W., Pacciarelli, B. und Battaglia, R.: Aflatoxin B<sub>1</sub>, BGY-Fluoreszenz und Kojisäure in Maiskörnern: eine Untersuchung auf Mais schweizerischer Herkunft. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **82**, 457–474 (1991).
6. Krüger, W.: Pilzkrankheiten an Mais. Mais **2**, 34–38 (1989).
7. Böhm-Schraml, M., Niessen, L., Donhauser, S., Engelhard, G. und Wallhöfer, P.: Medium zur selektiven Abgrenzung von Fusarium graminearum. Deut. Lebensmittel-Rundschau **89**, 152–154 (1993).
8. Sevcenko, V.I. et al.: Die Pigmente von rosagefärbtem Roggen und Weizen aus Nichtfusariose-befallenem Probengut. Deut. Lebensmittel-Rundschau, Fachschriften-Rundschau **89**, 25 (1993).

9. v. *Milczewski, K.E., Engel, G. und Teuber, M.*: Übersicht über die wichtigsten toxinbildenden Schimmelpilze und ihre Toxine. In: Reiss, J. (Hrsg.), *Mykotoxine in Lebensmitteln*, S. 23–24. G. Fischer Verlag, Stuttgart 1981.

Dr. Walter Steiner  
Zentrallaboratorium  
Migros-Genossenschafts-Bund  
Postfach  
CH-8031 Zürich

Fritz Wegmüller  
Kantonales Laboratorium Zürich  
Postfach  
CH-8030 Zürich