

Zearalenon und Deoxynivalenol in österreichischem Getreide = Zearalenone and deoxynivalenol in Austrian cereals

Autor(en): **Cvirn, Gerhard / Murkovic, Michael / Pfannhauser, Werner**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **85 (1994)**

Heft 6

PDF erstellt am: **13.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982782>

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.

Zearalenon und Deoxynivalenol in österreichischem Getreide*

Zearalenone and Deoxynivalenol in Austrian Cereals

Key words: Cereals, Zearalenone (ZON), Deoxynivalenol (DON), High pressure liquid chromatography (HPLC), Gas chromatography (GC)

*Gerhard Cvirn, Michael Murkovic, Werner Pfannhauser,
Hans Lew¹ und Wolfgang Lindner²*

Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie, Technische Universität, Graz

Einleitung

Getreide kann sowohl auf dem Feld als auch bei der Lagerung von Pilzsporen befallen werden. Das Getreide dient dem Pilz als Wirt, der Pilz entwickelt sich auf dem Getreide und scheidet im Rahmen seines Sekundärstoffwechsels u. a. giftige Substanzen aus, die man unter dem Begriff Mykotoxine zusammenfasst (1). Man findet in Österreich entsprechend dem Klima und der Produktionstechnik ein bestimmtes Toxinspektrum im Getreide und somit auch in daraus hergestellten Futtermitteln und pflanzlichen Lebensmitteln (2). Die Pilze, die in unseren Breiten Getreide befallen, können in Feldpilze und Lagerpilze unterschieden werden (Tabelle 1).

Die Feldpilze benötigen zum Gedeihen einen Feuchtigkeitsgehalt des Getreides von über 20%, den sie normalerweise nur auf dem Feld vorfinden. In Österreich wird das Getreide üblicherweise erst geerntet, wenn der Feuchtigkeitsgehalt der Körner unter 16% gesunken ist, d.h. in Österreich entstehen Mykotoxinkontaminationen hauptsächlich durch Feldpilze, primär durch die Pilzgattung *Fusarium*. Wenn allerdings das Getreide nach der Ernte bei einer Feuchtigkeit von über 13% gelagert wird, kann es zu einer nachträglichen Verpilzung des Erntegutes durch

¹ Bundesanstalt für Agrarbiologie, Linz

² Institut für Pharmazeutische Chemie, Universität Graz

* Vortrag gehalten an der 106. Jahresversammlung der Schweiz. Gesellschaft für Lebensmittel- und Umweltchemie, Oberägeri, 9. September 1994

Tabelle 1. Häufige Schimmelpilzgattungen auf Getreide

Feldpilzgattungen	Lagerpilzgattungen
Acremonium	Aspergillus
Alternaria	Mucor
Aureobasidium	Penicillium
Cladosporium	Rhizopus
Epicoccum	Wallemia
<i>Fusarium</i>	
Verticillium	

Lagerpilze kommen und bei einer Feuchtigkeit von über 17% zu einer möglichen Kontamination mit Lagerpilztoxinen (3).

Bisherige Untersuchungen haben gezeigt, dass einzelne Fusarienarten nur ganz bestimmte, relativ wenige Toxine bilden (4). Tabelle 2 gibt einen Überblick über die wichtigsten Fusarienarten und die von ihnen gebildeten Toxine.

Tabelle 2. Fusarien und Fusarientoxine, die in Österreich gefunden werden

Dominierende Fusarienarten			Gebildete Toxine
Mais	Weizen	Hafer	
<i>F. sacchari</i> <i>var. subglutinans</i>			Moniliformin
<i>F. graminearum</i>	<i>F. graminearum</i>	<i>F. graminearum</i>	ZON, DON 15- und 3- Acetyl-DON
	<i>F. avenaceum</i>	<i>F. avenaceum</i>	Moniliformin
	<i>F. poae</i>	<i>F. poae</i>	Nivalenol
	<i>F. culmorum</i>		ZON, DON 3-Acetyl-DON

Werden Tiere mit zearalenonkontaminiertem Getreide gefüttert, kann es zu Fruchtbarkeitsstörungen kommen (5). Die akute Toxizität des Deoxynivalenols (DON, Vomitoxin) kann als gering eingestuft werden. Über längere Zeit in geringen Dosen aufgenommen, kommt es aber bei den Tieren zur Beeinträchtigung des Fressverhaltens, zu Durchfall und schlechter Futterverwertung.

Aufgrund von Untersuchungen in Österreich von verpilztem Getreide ergab sich die Notwendigkeit, Vorschläge über Richtwerte zu erstellen. Dies geschah im Rahmen der Kommission zur Herausgabe des österreichischen Lebensmittelbuches, der sog. Codex-Kommission. Die in Tabelle 3 angegebenen Werte gelten für

Weizen und Roggen. Als DON-Richtwert für Durumweizen wurden 750 µg/kg festgelegt.

Tabelle 3. Mykotoxin-Richtwerte für österreichisches Getreide (8)

Zearalenon (ZON)	60 µg/kg
Deoxynivalenol (DON)	500 µg/kg

Probenvorbereitung und Analyse

Zearalenon-Analytik

Aus Abbildung 1 geht hervor, dass Zearalenon einen Laktonring enthält und daher im stark sauren und alkalischen Milieu instabil ist. Die beiden phenolischen Hydroxygruppen können im Alkalischen ionisiert werden.

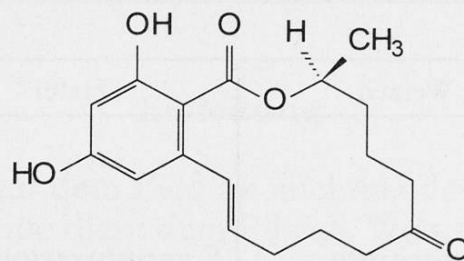


Abb. 1. Chemische Struktur des Zearalenons

Die Gesamtanalyse von ZON lässt sich in 3 Schritte unterteilen (6):

1. Extraktion: ZON wird mit einem organischen Lösungsmittel aus der Matrix, dem Getreidemehl, herausgelöst.
2. Clean-up: Interferenzen werden abgetrennt.
3. Analyse: Quantifizierung mittels HPLC und Fluoreszenzdetektion.

Praktische Vorgangsweise zur ZON-Bestimmung in Getreide mittels HPLC

- 25 g fein gemahlene Getreidemehl werden mit 7,5 ml Wasser und 160 ml Ethylacetat versetzt und 30 Minuten geschüttelt.
- Der Extrakt wird filtriert, 80 ml davon entnommen, abgedampft, der Rückstand in 30 ml Chloroform aufgenommen und in einen Scheidetrichter überführt.
- Ausschütteln mit 40 ml einer wässrigen 1-mol/l-NaOH-Lösung.
- Ein 30-ml-Aliquot der NaOH-Lösung wird entnommen; rasches Absenken des pH-Wertes mit 2 N Phosphorsäure zum Umschlagpunkt von Phenolphthalein; anschliessend wird das ZON wieder in die organische Phase überführt (ausschütteln mit 2mal 30 ml Chloroform).

- Abdampfen der Chloroformphase, Rückstand in 500 µl Methanol aufnehmen und mittels HPLC und Fluoreszenzdetektor vermessen.
- HPLC- und Detektionsparameter:
 HPLC-Instrument: HP 1090
 Säule: Merck LiChrospher 100 RP18 (5 µm) 150 x 4,6 mm I.D., endcapped
 Eluent: Methanol/Wasser = 70:30
 Temperatur: 25 °C
 Flussrate: 1,3 ml/min
 Injektionsvolumen: 20 µl
 Fluoreszenzdetektor: HP 1046 A, $\lambda_{Ex} = 274 \text{ nm}$, $\lambda_{Em} = 450 \text{ nm}$
 Unter diesen Bedingungen beträgt die Retentionszeit des Zearalenons ca. 8 Minuten. Zwischen 20 µg/kg und 1 mg/kg lässt sich ZON mit einer Wiederfindungsrate von ca. 70% bestimmen. Kalibriert wird über externe Standardlösungen. Für den genannten Konzentrationsbereich erhält man gute Linearität.

Deoxynivalenol-Analytik

Deoxynivalenol (Abb. 2) zählt zu der Familie der Trichothecene. Dies sind Sesquiterpene, die aus drei miteinander verknüpften Isoprenmolekülen bestehen. Die Gesamtanalyse des DONs lässt sich, wie die des ZONs, in die 3 methodischen Schritte Extraktion, Clean-up und Detektion unterteilen (7).

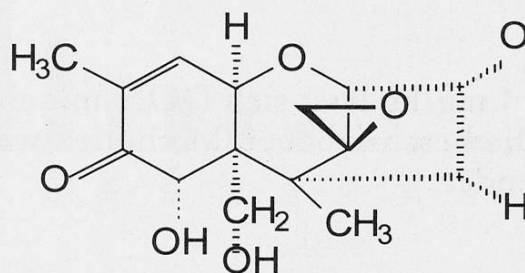


Abb. 2. Chemische Struktur des Deoxynivalenols

Praktische Vorgangsweise zur Trichothecenbestimmung in Getreide mittels GC/ECD, im speziellen von Deoxynivalenol

- 10 g fein gemahlene Mehl werden mit 100 ml eines Methanol-Wasser-Gemisches = 70:30 versetzt und 30 Minuten lang geschüttelt.
- 10 ml des Methanol-Wasser-Gemisches werden mit 10 ml Wasser versetzt und mittels Extrelutsäule mit 200 ml Ethylacetat extrahiert.
- Das Ethylacetat wird abgedampft und der Rückstand in 2 ml Dichlormethan/Methanol = 90:10 aufgenommen.
- Der Extrakt wird in zwei Festphasenextraktionsschritten einer Reinigung unterzogen:
 1. Vorreinigung mittels Silicagelsäule (Abtrennung polarer Interferenzen)
 Eine 500-mg-Silicagelsäule wird mit 5 ml Dichlormethan vorkonditioniert, die

- 2 ml des Dichlormethan/Methanol-Extraktes aufgegeben und mit 14 ml Dichlormethan/Methanol = 90:10 eluiert. Das Eluat wird abgedampft und der Rückstand in 2 ml Wasser/Methanol = 70:30 aufgenommen.
2. Vorreinigung mittels C₁₈-Säule (Abtrennung unpolarer Interferenzen)
Eine 500-mg-C₁₈-Säule wird zuerst mit 5 ml Methanol und 5 ml Wasser vor-konditioniert, der gesamte Probenextrakt von 1. aufgegeben und mit 16 ml Wasser/Methanol = 70:30 eluiert. Das Eluat wird abgedampft und der Rückstand in 1 ml Aceton aufgenommen.
- 50 µl der Acetonlösung werden in ein Reaktionsvial überführt, abgedampft und mit 50 µl Silylierungsreagenz (TRI-SIL, AllTech Associates Inc., USA) versetzt und geschüttelt. Danach lässt man die Lösung 10 Minuten stehen. Es werden 500 µl einer 20-µg/kg-Mirexlösung in Isooctan als interner Standard zugesetzt und mit 1 ml Phosphatpuffer (pH = 7) 1 Minute lang ausgeschüttelt. Die obere Phase wird über Natriumsulfat getrocknet, 100 µl davon werden in ein Vial überführt, auf 1 ml aufgefüllt und mittels GC analysiert.
 - GC- und Detektionsdaten:
GC-Instrument: HP 5890 A
Säule: CP-Sil8CB
Säulendimensionen: 50 m, 0,32 mm, 0,11 µm
Trärgas: He 150 kPA
Temperaturverlauf: 80 °C (2 min), 5 °/min, 290 °C (5 min)
Injektionstemperatur: 250 °C
Detektor: ECD
Injektionsvolumen: 3 µl
- Zwischen 50 µg/kg und 1 mg/kg lässt sich DON mit einer Wiederfindungsrate von ca. 70% bestimmen. Die beschriebenen Methoden werden auf Mais-, Hafer- und Weizenproben angewendet.

Resultate

Zur Mykotoxinbelastung von Mais

Abbildung 3 zeigt die Ergebnisse mehrjähriger Untersuchungen von österreichischen Maisproben aus den Bundesländern Steiermark, Burgenland, Niederösterreich und Oberösterreich. Es wurden vorwiegend Sortenversuche von der Bundesanstalt für Pflanzenbau und der Bundesanstalt für Agrarbiologie durchgeführt.

Aus Abbildung 3 geht hervor, dass ca. 10% der Maisproben einen DON-Gehalt von über 1 ppm aufweisen. Die ZON-Gehalte von Maisproben aus Österreich liegen ungefähr eine Grössenordnung unter den Vomitoxingehalten.

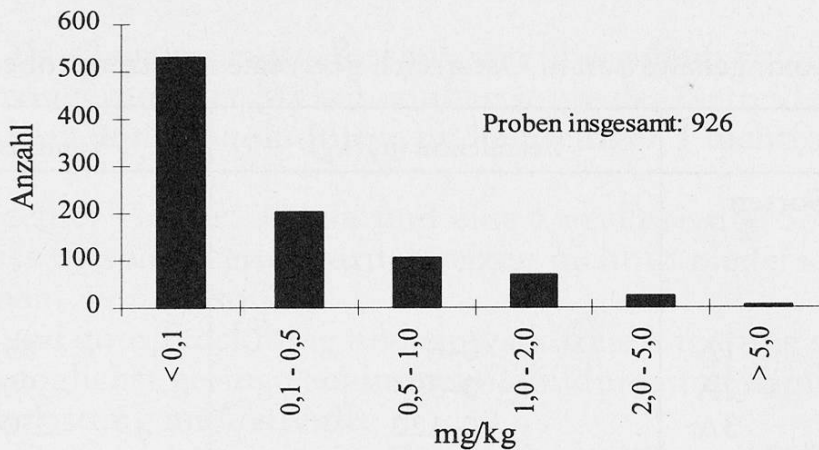


Abb. 3. Deoxynivalenolgehalte von in Österreich geernteten Maisproben

Zur Mykotoxinbelastung des Hafers

Abbildung 4 zeigt die Häufigkeitsverteilung der Deoxynivalenolgehalte von 216 untersuchten Haferproben, die aus den Sortenversuchen der Bundesanstalt für Pflanzenbau und der Bundesanstalt für Agrarbiologie an 6 Standorten in Oberösterreich stammten.

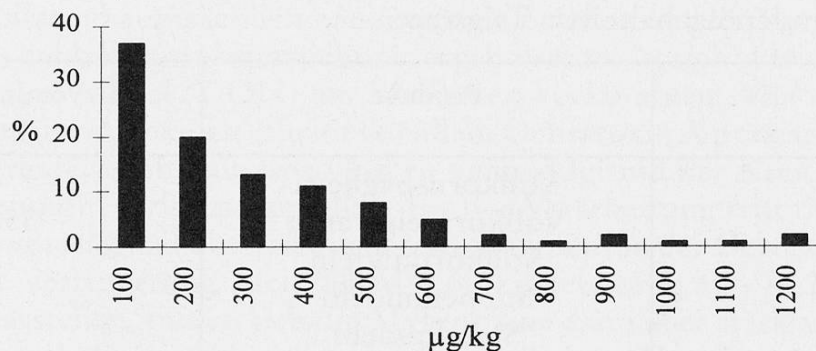


Abb. 4. Deoxynivalenolgehalte von in Oberösterreich geernteten Haferproben

Es ist zu beachten, dass bei der Herstellung von Haferflocken die Haferkörner zuerst entspelzt werden. Dadurch können die Schmachtkörner entfernt werden und mit ihnen ca. 90% des Toxingehaltes.

Zur Mykotoxinbelastung des Weizens

Speziell Durumweizen, der für die Herstellung von Teigwaren verwendet wird, ist besonders anfällig gegenüber Fusarienbefall, insbesondere *F. graminearum*, und weist die höchsten Fusarientoxingehalte auf. Tabelle 4 zeigt die Fusarientoxingehalte von Weizenproben aus 7 Standorten in Niederösterreich (A) und Oberösterreich (B) aus den Sortenversuchen 1991 und 1992 der Bundesanstalt für Pflanzenbau bzw. der Bundesanstalt für Agrarbiologie. Aus Tabelle 4 geht hervor, dass besonders Durumweizen mit relativ grossen Mengen an DON belastet war, Spitzenwerte bis zu ca. 8 ppm DON wurden gefunden.

Tabelle 4. Fusarientoxingehalte von in Österreich geernteten Weizenproben

	Zearalenon ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Vomitoxin ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Durumweizen, 11 Sorten je Standort		
1A	0-6	85-335
2A	0-50	90-580
3A	0-120	230-2575
4A	0-205	740-8200
Durumweizen, 4 Sorten 5B	60-330	630-1440
Sommerweizen, 20 Sorten 6B	0-23	80-260
Winterweizen, 20 Sorten 7B	38-60	270-690

Tabelle 5. Deoxynivalenolgehalte von Teigwaren

	Produkt	Vomitoxingehalt ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Firma A	Vollkornspaghetti	490
Firma B	Vollkornteigwaren	350-450
Firma C	Vollkornnudeln	255
	Suppennudeln	230
Firma D	Spiralnudeln	200
Firma E	Spinatos	145
Firma F	Fleckerl	140
Firma G	Eiernudeln	60
Firma H, I, J, K, L	Spaghetti	0-175

Tabelle 5 zeigt die Ergebnisse einer 1992 durchgeführten Untersuchung über DON-Rückstände bei Teigwaren von 12 verschiedenen Firmen. Hier ist ersichtlich, dass sich bei konventionellen Produkten Konzentrationen bis zu 0,23 mg/kg und bei Vollkornprodukten bis zu 0,49 mg/kg ergaben.

Die höchsten Toxinkonzentrationen sind in den äusseren Schichten des Weizenkorns anzutreffen. Da diese Schichten bei Vollkornprodukten erhalten bleiben, sind diese Produkte im Durchschnitt stärker mit Deoxynivalenol belastet. Es muss daher besonders von den Produzenten von Vollkornprodukten darauf geachtet werden, dass nur mykotoxikologisch einwandfreie Rohware verarbeitet wird. In diesem Zusammenhang ist noch anzumerken, daß beim Kochen von Teigwaren

ca. 50% des DON-Gehaltes in das Kochwasser übergehen. Folgende Massnahmen können zur Verringerung der Mykotoxinbelastung des Getreides beitragen:

- Die Vermeidung von Monokulturen und einseitigen Fruchtfolgen in der Landwirtschaft.
- Standortgerechter Getreideanbau und eine zweckmässige Sortenauswahl. Das bedeutet, dass beispielsweise Durumweizen nicht in niederschlagsreichen Gebieten angebaut werden soll.
- Eine rasche und gute Trocknung und einwandfreie Lagerung sind Grundbedingungen für möglichst geringe Schimmelpilzbildung und damit für eine geringe Mykotoxinbelastung im Getreide.
- Auch der in Österreich seit einiger Zeit verfolgte Weg der Züchtung von gegen Fusarien resistenten Sorten stellt einen Weg zur Risikominderung dar.

Bisher ist es nicht möglich abzuschätzen, inwieweit klimatische Einflüsse, wie zum Beispiel nasse Sommer, zur Pilzbelastung und damit zur Mykotoxinkontamination beitragen.

Zusammenfassung

Unter den klimatischen Bedingungen Mitteleuropas werden vor allem Mais, Hafer und Weizen von Feldpilzen, hauptsächlich von Fusarien, befallen und dadurch mit Mykotoxinen kontaminiert. Aus zahlreichen Untersuchungsergebnissen lässt sich ableiten, dass Zearalenon (ZON) und Deoxynivalenol (DON) am häufigsten vorkommen. Von den weniger häufig vorkommenden Lagerpilztoxinen scheint vor allem Ochratoxin A praxisrelevant zu sein. Der Konsum von Getreideverarbeitungsprodukten kann aufgrund der Kontamination mit Mykotoxinen ein Gesundheitsrisiko darstellen. Bei der Verarbeitung tritt durch den Mahlprozess aufgrund der vorwiegend oberflächlichen Kontamination der Getreidekörner mit Pilzen eine beträchtliche Verringerung auch der Mykotoxinbelastung auf. In Kleien, die zumeist Abfallprodukte darstellen, finden sich die Mykotoxine dann aber stark angereichert. Haferkleie hingegen ist verhältnismässig unbedenklich, da bei der Verarbeitung, dem Entspelzen, ca. 90% des Toxingehaltes verloren gehen. Vollwertprodukte können beachtliche Mykotoxinkontaminationen aufweisen. Futtermittel sollten einer strengen Kontrolle unterliegen, da manche Mykotoxine nicht zuletzt über tierische Nahrung auch auf den Menschen übergehen können.

Résumé

Dans les conditions de climat en Europe centrale, les moisissures (*Fusarium*) peuvent contaminer le maïs, l'avoine et le blé par des mycotoxines. Les analyses démontrent que le zéaralénone (ZON) et le déoxynivalénol (DON) sont les toxines les plus souvent présents. L'ochratoxine A est produite pendant le stockage si l'humidité excède 17%. Les produits céréaliers transformés montrent une teneur réduite en toxines, la transformation des produits céréaliers diminuant la teneur en toxines de 90%. Le pain complet peut contenir beaucoup de mycotoxines. Il faut que les fourrages soient examinés rigoureusement parce que les toxines pourraient finalement être absorbées par le consommateur.

Summary

Under middle European environmental conditions corn can be infected by field growing fungi. Particularly fusarium species can contaminate maize, oat and wheat with mycotoxins. A big number of investigations showed that deoxynivalenol (DON) and zearalenone (ZON) are the most frequently occurring mycotoxins in corn. Ochratoxin A contamination can appear when corn of high moisture content is stored. Corn products usually show low levels of mycotoxin contamination. Grinding decreases the toxin content up to 90%. In contrast full grained corn products and bran contain higher levels of mycotoxins. Feedstuff should be controlled very stringent and permanently because of the carry over of the toxins from animal feed to human beings.

Literatur

1. *Jesenska, Z.*: Micromycetes in foodstuffs and feedstuffs. In: Bushell, M.E. (Ed.), Progress in industrial microbiology, Vol. 28, Kapitel 1. Elsevier, Amsterdam 1993.
2. *Lew, H.*: Die aktuelle Mykotoxinsituation in der heimischen Landwirtschaft. Veröff. Bundesanstalt für Agrarbiologie, Linz/Donau **21**, 5–26 (1993).
3. *Bauer, J. und Gareis, M.*: Ochratoxin A in der Nahrungsmittelkette. J. Vet. Med. **34**, 613–627 (1987).
4. *Adler, A.*: Fusarien auf heimischen Feldfrüchten. Veröff. Bundesanstalt für Agrarbiologie, Linz/Donau **21**, 43–51 (1993).
5. *Ranfft, K., Gerstl, R. und Mayer, G.*: Bestimmung und Vorkommen von Zearalenon in Getreide und Mischfuttermitteln. Z. Lebensm. Unters. Forsch. **191**, 449–453 (1990).
6. *Seidel, V., Poglitz, E., Schiller, K. and Lindner, W.*: Simultaneous determination of ochratoxin A and zearalenone in maize by reversed-phase high-performance liquid chromatography with fluorescence detection and β -cyclodextrin as mobile phase additive. J. Chromatogr. **635**, 227–235 (1993).
7. *Seidel, V., Lang, B., Fraissler, S., Lang, C., Schiller, K., Filek, G. and Lindner, W.*: Analysis of trace levels of trichothecene mycotoxins in Austrian cereals by gas chromatography with electron capture detection. Chromatographia **37**, No. 3/4, 191–201 (1993).
8. Österreichisches Lebensmittelbuch 3. Auflage, GZ. 32.110/1–III/B/1b/93.

Gerhard Cvirn
Technische Universität Graz
Institut für Biochemie und Lebensmittel-
chemie, Bereich Lebensmittelchemie
Petersgasse 12/2
A-8010 Graz