

# BESTIMMUNG VON DEOXYNIVALENOL IN LEBENS- UND FUTTERMITTELN AUS KONVENTIONELLEM UND BIOLOGISCHEM LANDBAU

**Christine Klinglmayr<sup>1</sup>, Katharina Nöbauer<sup>2</sup>, Ebrahim Razzazi-Fazeli<sup>2,3</sup>,  
Margit Cichna-Markl<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Institut für Analytische Chemie, Universität Wien, Währinger Straße 38, 1090 Wien*

<sup>2</sup> *Technologiezentrum Vetomics, Veterinärmedizinische Universität Wien,  
Veterinärplatz 1, 1210 Wien*

<sup>3</sup> *Institut für Tierernährung, Veterinärmedizinische Universität Wien, Veterinärplatz 1,  
1210 Wien*

**Schlüsselwörter:** Deoxynivalenol, Mykotoxine, Weizen, biologischer Landbau, konventioneller Landbau, Sol-Gel Immunaffinitätschromatographie

## EINLEITUNG

Das von Fusarien produzierte Mykotoxin Deoxynivalenol (DON) ist eines der am häufigsten nachgewiesenen Mykotoxine in Weizen und aus Weizen hergestellten Produkten aus gemäßigten Zonen. Als Folge der Hemmung der Proteinsynthese führt DON zu einer Reihe von toxischen Effekten, u.a. zu Erbrechen, Durchfall und gastrointestinaler Hämorrhagie. Eine chronische Exposition führt zu einem reduzierten Körpergewicht und Anorexie. In *in vitro* Studien lassen darauf schließen, dass DON das menschliche Immunsystem beeinträchtigen kann [1]. Um die Exposition von Menschen und Tieren zu reduzieren, wurden in vielen Ländern, u.a. auch in der Europäischen Union, Höchstwerte für die DON Konzentration in Lebens- und Futtermittel erstellt [2]. Mehrere Studien beschäftigten sich bereits mit der Untersuchung des Einflusses von verschiedenen Parametern, welche die Infektion von Getreide mit Fusarien

beeinflussen. So weiß man bereits, dass eine hohe Luftfeuchtigkeit während der Blüte des Getreides das Wachstum von Fusarien begünstigt [3]. Der Einfluss der Art des Landbaus auf das Fusarien-Wachstum wird jedoch kontrovers diskutiert. Einige Studien berichten von einer höheren Inzidenz und höheren DON Konzentrationen in Futter- und Lebensmitteln aus biologischem Landbau, während andere Studien das Gegenteil zeigen [4-9].

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Bestimmung der DON Konzentration in auf Weizen basierenden Lebens- und Futtermitteln aus konventionellem und biologischem Landbau. Zur Probenvorbereitung wurden Sol-Gel Immunaффinitätssäulen verwendet, die Bestimmung von DON erfolgte mittels HPLC und UV-Detektion.

## EXPERIMENTELLES

### **Chemikalien und Reagenzien**

Monoklonale Anti-DON Antikörper (1 mg/mL in PBS) wurden von Zhongming Zheng (Department of Chemical and Environmental Engineering, National University of Singapore, Singapur) geliefert. Deoxynivalenol (DON) wurde von Sigma, Tetramethoxysilan (TMOS) von Fluka bezogen. Lebensmittel wurden in lokalen Supermärkten gekauft. Futtermittel wurden von verschiedenen Mühlen bezogen.

### **Probenvorbereitung**

Fünfundfünfzig Weizenprodukte (26 aus konventionellem und 29 aus biologischem Landbau; 40 Lebens- und 15 Futtermittel) wurden untersucht. Unter den 40 Lebensmitteln befanden sich 12 Nudelproben, 13 Keksproben und 15 Snacks.

7,5 g der homogenisierten Probe wurden mit 60 mL bidestilliertem Wasser gemischt und die Suspension 10 min gerührt. Ein 40 ml Aliquot wurde zentrifugiert (10 min bei 2800 g) und durch ein Schwarzband- und danach durch ein Blaubandfilter filtriert. Anschließend wurde ein 5 mL Aliquot auf eine Sol-Gel Immunoaffinitätssäule aufgegeben. Die Herstellung und Charakterisierung der Immunaффinitätssäulen ist in Ref [10] beschrieben. Um interferierende Matrixkomponenten zu entfernen, wurde die Säule zuerst mit 10 mL MeOH-Wasser (10:90, v/v) und danach mit 20 mL Wasser

gewaschen. Die Elution von DON erfolgte mit 4 mL ACN–Wasser (40:60, v/v) in einen 5 mL Messkolben. Nach dem Wegblasen des ACN im Stickstoffstrom wurde der Kolben mit Wasser bis zur Ringmarkierung aufgefüllt. Die Immunaффinitätssäule wurde durch Spülen mit 20 mL PBS regeneriert.

## HPLC

Das HPLC System bestand aus einer Hochdruckgradientenpumpe (Modell L-7100, Merck), einem Säulentermostaten (Modell bfo-04 dt, W.O. electronics, Langenzersdorf) und einem Injektionsventil (Modell 7161, Rheodyne), welches mit einer 100 µL Dosierschleife ausgestattet war. Als analytische Säule wurde eine Phenomenex Synergi 4u Polar-RP Säule, 80 Å, 250 mm x 4.6 mm i.d., 4 µm (Phenomenex, Aschaffenburg, Deutschland) verwendet. Die mobile Phase bestand aus bidestilliertem Wasser–ACN-MeOH (80:10:10, v/v/v). Alle Trennungen wurden bei 25 °C und einer Fließgeschwindigkeit von 1 ml/min durchgeführt. DON wurde mit einem UV Detektor (Modell L-4200, Merck) bei 220 nm detektiert. Die Auswertung erfolgte mittels der McDacq Software (Bischoff, Leonberg, Deutschland).

## ERGEBNISSE

Tabelle 1 gibt die Häufigkeit und Höhe der DON Belastung der untersuchten Lebens- und Futtermittel wieder. Generell gesehen war die Inzidenz der belasteten Proben sehr gering. In 8 Proben (14,5%) lag die DON-Konzentration über dem LOQ (380 ng/g), in 6 Proben (10,9%) wurde DON detektiert, konnte jedoch nicht quantifiziert werden (> LOD (200 ng/g), aber < LOQ)). In 7 konventionellen Proben, jedoch nur in einer Probe aus biologischem Landbau lag die DON Konzentration über dem LOQ.

In den Proben aus biologischem Landbau war die DON Konzentration generell niedriger als in den Proben aus konventionellem Landbau. Die höchste Konzentration (625 ng/g) wurde in einer konventionellen Keksprobe gefunden. In drei Proben (zwei Kekspuben und einem Snack, alle aus konventionellem Landbau) überstieg die DON Konzentration die von der EU Kommission festgesetzte maximale tolerierbare Konzentration.

**Tabelle 1:** DON-Konzentrationen in Lebens- und Futtermitteln aus konventionellem (konv.) und biologischem (biolog.) Landbau. LOD: 200 ng/g, LOQ: 380 ng/g.

Probe	Landbau	Anzahl der untersuchten Proben	Anzahl der Proben mit Konz. < LOD	Anzahl der Proben mit Konz. < LOQ	Anzahl der Proben mit Konz. > LOQ
Nudeln	konv.	5	3	0	0
	biolog.	7	7	0	0
Kekse	konv.	6	3	1	2
	biolog.	7	7	0	0
Snacks	konv.	10	7	1	2
	biolog.	5	2	2	1
Futtermittel	konv.	5	4	0	1
	biolog.	10	8	2	0

Die in der vorliegenden Studie erhaltenen Ergebnisse weisen sowohl auf eine häufigere als auch auf eine stärkere DON Belastung von Lebens- und Futtermitteln aus konventionellem Landbau hin. Unsere Ergebnisse stimmen damit mit Daten überein, die bereits von anderen Gruppen (Schneweis et al. [6] und Schollenberger et al. [8]) publiziert worden sind.

## REFERENZEN

- [1] PESTKA, J.J.; SMOLINSKI, A.T. Deoxynivalenol: Toxicology and Potential Effects on Humans. *J. Toxicol. Environ. Health, Part B.* 8 (2005) 39-69.
- [2] European Commission, Regulation 856/2005, European Union, Brussels, Off. J. Eur. Union L143/3 (2005) 143/8.
- [3] PESTKA, J.J. Deoxynivalenol: Toxicity, mechanisms and animal health risks. *Anim. Feed Sci. Technol.* 137 (2007) 283.

- [4] MALMAURET, L.; PARENT-MASSIN, D.; HARDY, J.-L.; VERGER, P. Contaminants in organic and conventional foodstuffs in France. *Food Addit. Contam.* 19 (2002) 524.
- [5] BIRZELE, B.; MEIER, A.; HINDORF, H.; KRÄMER, J.; DEHNE, H.-W. Epidemiology of *Fusarium* infection and deoxynivalenol content in winter wheat in the Rhineland, Germany. *Eur. J. Plant Path.* 108 (2002) 667.
- [6] SCHNEWEIS, I.; MEYER, K.; RITZMANN, M.; HOFFMANN, P.; DEMPLE, L.; BAUER, J. Influence of organically or conventionally produced wheat on health, performance and mycotoxin residues in tissues and bile of growing pigs. *Arch. Animal Nutr.* 59 (2005) 155.
- [7] ANSELME, M.; TANGNI, E.K.; PUSSEMIER, L.; MOTTE, J.-C.; VAN HOVE, F.; SCHNEIDER, Y.-J.; VAN PETEGHEM, C.; LARONDELLE, Y. Comparison of ochratoxin A and deoxynivalenol in organically and conventionally produced beers sold on the Belgian market. *Food Addit. Contam.* 23 (2006) 910.
- [8] SCHOLLENBERGER, M.; DOCHNER, W.; RÜFLE, M.; SUCHY, S.; TERRY-JARA, H.; MÜLLER, H.-M. Trithothecene toxins in different groups of conventional and organic bread of the German market. *J. Food Com. Anal.* 18 (2005) 69.
- [9] PUSSEMIER, L.; PIERARD, J.-Y.; ANSELME, M.; TANGNI, E.K.; MOTTE, J.-C.; LARONDELLE, Y. Development and application of analytical methods for the determination of mycotoxins in organic and conventional wheat. *Food Addit. Contam.* 23 (2006) 1208.
- [10] KLINGLMAYR, C.; NÖBAUER, K.; RAZZAZI-FAZELI, E.; CICHNA-MARKL, M. Determination of deoxynivalenol in organic and conventional food and feed by sol-gel immunoaffinity chromatography and HPLC-UV detection. *J. Chromatogr. B* 878 (2010) 187.