Gesellschaft für
Mykotoxinforschung e.V.

BgVV

21. Mykotoxin-Workshop
Jena
7. - 9. Juni 1999

Programm

Abstracts der Vorträge und Poster

Teilnehmerverzeichnis

Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV)
Fachbereich 4: Bakterielle Tierseuchen und Bekämpfung von Zoonosen, Jena

---

21. Mykotoxin-Workshop
Jena
7. - 9. Juni 1999

Programm

Abstracts der Vorträge und Poster

Teilnehmerverzeichnis

Veranstalter:

Gesellschaft für Mykotoxinforschung e. V.

Vorsitzender: Prof. Dr. E. Märtlbauer
Ludwig-Maximilians-Universität München, Tierärztliche Fakultät, Lehrstuhl für Hygiene und Technologie der Milch
Veterinärstr. 13, 80539 München

Organisation:

Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV)

Fachbereich 4: Bakterielle Tierseuchen und Bekämpfung von Zoonosen, Jena
Naumburger Str. 96 a, D-07743 Jena

Prof. Dr. P. Kielstein
Dr. H. Rosner
Dr. Heike Köhler

21. Mykotoxin-Workshop vom 7. - 9. Juni in Jena

Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin (BgVV)
Fachbereich 4: Bakterielle Tierseuchen und Bekämpfung von Zoonosen, Jena

---

Programm

Montag, den 7. Juni 1999

ab 7.30	Registration im Tagungsbüro
9.00 - 9.30	Begrüßung
Ellner, F.	1998 - ein Jahr für Fusariumtoxine
Reutter, M.	Zearalenon und Deoxynivalenol in Getreide u. Futtermitteln Schleswig-Holsteins: Untersuchungen aus dem Erntejahr 1998
Thalmann, A.	Fusarienprobleme in einer Agrar-Genossenschaft in Brasilien
Meier, Anja; Birzele, Barbara; Oerke, E.-C.; Dehne, H.-W.	Auftreten von *Fusarium* spp. und Mykotoxingehalte von Winterweizen und Möglichkeiten zur Bekämpfung
11.00 - 11.20	Kaffeepause
11.20 - 13.00	
Birzele, Barbara; Meier, Anja; Krämer, J.	Einfluß suboptimaler Lagerung auf die Entwicklung von DON in Weizen aus Organischem Landbau
Oldenburg, Elisabeth; Weinert, J.; Wolf, G. A.	Einfluss von Pflanzenschutzmaßnahmen auf den Fusarientoxin-Gehalt in Weizen
Meister, Ute	Veränderung des Fumonisingehaltes von Mais in hydrothermischen Prozessen der Maisverarbeitung
Meyer, K.; Usleber, E.; Märtlbauer, E.; Bauer, J.	Zearalenon, α- und β-Zearalenol in Gallen von Zuchtsauen - ein Indikator zur Diagnose von Fertilitätsstörungen?
Leyk, W.	Untersuchungen zur Bedeutung von Mykotoxinen in der Schweinehaltung

13.00 - 14.00	Mittagspause

14.00 - 15.20

Hartl, Michaela; Humpf, H.-U.	Empfindlicher und selektiver Nachweis von hydrolysiertem Fumonisin HFB_1 in maishaltigen Lebensmitteln mittels HPLC-ESI-MS
Razzazi, E.	Einsatz von HPLC/MS - Kopplung in der Analytik der B-Trichothecenen
Josephs, R.; Krska, R.; Grasserbauer, M.	Internationaler Laborvergleichstest für die Bestimmung von Deoxynivalenol und Zearalenon in Mais und Weizen

15.20 - 15.40	Kaffeepause

15.40 - 17.00

Krska, R.	Neue Entwicklungen in der Analytik von Zearalenon
Schneider, Liane; Pichler, H.; Krska, R.; Grasserbauer, M.	Bestimmung von DON in Weizen mittels eines ELISA basierend auf Antikörpern aus Hühnereidottern
Chaturvedi, P.; Smith, T.; Zabe, N.; Kohn, Barb	An immunoaffinity based method for simultaneous isolation of Aflatoxin and Ochratoxin from grains and their detection by HPLC
Färber, P. F.	Die Pulsfeld-Gelelektrophorese zur Untersuchung des Kariotyps Sekundärmetabolit-produzierender filamentöser Pilze

17.30	Abfahrt in die Stadt (Straßenbahn) und gemeinsames Abendessen im Gasthof „Zur Noll"

Dienstag, den 8. Juni 1999

8.15 - 10.00

Bevis, S.	Three different test formats to help enforce mycotoxin legislation
Kielstein, P.; Müller, G.; Rosner, H.; Köhler, Heike; Berndt, Angela; Heller, M.	Einfluß von Ochratoxin A, Fumonisin, T-2-Toxin und DON auf die Abwehr des Schweines
Özpinar, H.; Kutay, C.; Bilal, T.; Yildiz, G.; Abas, I.; Eseceli, H.	Einfluss der Mikroorganismen im Pansensaft auf die Umsetzungsgeschwindigkeit von Ochratoxin A
Zepnick, H.; Pähler, A.; Schauer, U.; Dekant, W.	Biotransformation and lack of mutagenicity of ochratoxin A using combinations of mammalian biotransformation enzymes
Benesic, A.; Eder, St.; Sauvant, Ch.; Schwerdt, G.; Gekle, M.	Ochratoxin A induces proliferation of immortalized human kidney epithelial cells at low nanomolar concentrations by interference with cellular Ca^{2+}-homeostasis

10.00 - 10.20 Kaffeepause

10.20 - 13.00

Wolff, J.; Bresch, H.; Cholmakow-Bodechtel, Constanze; Engel, G.; Gareis, M.; Majerus, P.; Rosner, H.; Scheuer, R.	Belastung des Verbrauchers und der Lebensmittel mit Ochratoxin A
Cholmakow-Bodechtel, Constanze;	Ochratoxin A: Repräsentative Verzehrserhebung und epidemiologische Analyse
Wolff, J.	Ochratoxin A in Getreide und Getreideprodukten
Engel, G.; Wolff, J.	Vorkommen von OTA in Milchprodukten, Süßwaren und Ölsaaten
Bresch, H.	Ochratoxin A in Getränken: Status in der Bundesrepublik Deutschland 1996 bis 1998
Majerus, P.	Ochratoxin A in Wein, Saft und Würzmitteln

Gareis, M.; Scheuer, R.	Ochratoxin A in Fleisch und Fleischerzeugnissen
Rosner, H.; Rohrmann, Barbara; Peiker, Gertrud	Ochratoxin A in Serum
Gareis, M.; Rosner, H.; Erhardt, S.	Ochratoxin-A-Gehalte im Blutserum und Ernährungsgewohnheiten auf der Basis einer retrospektiven Befragung über die letzten 4 Wochen vor Blutabnahme

13.00 - 14.00	Mittagspause

14.00 - 15.40

Weber, R.	Festsetzung von Höchstmengen für Mykotoxine in der EU
Föllmann, W.; Dörrenhaus, Angelika; Kullik, Brigitte; Koch, Martina; Bolt, H. M.	Vergleichende Untersuchungen zur Zytotoxizität und Genotoxizität der Mykotoxine Ochratoxin A und Citrinin *in vitro*
Reinhard, H.; Zimmerli, B.	Chromatographisches Verhalten von Citrinin
Dietrich, R.; Usleber, E.; Märtlbauer, E.	Nachweis von Citrinin in Lebensmitteln

15.40 - 16.00	Kaffeepause
16.00 - 17.00	Mitgliederversammlung
17.15	Abfahrt zur Leuchtenburg (Bus) und gemeinsames Abendessen

Mittwoch, den 9. Juni 1999

8.30 - 9.00	Posterdiskussion (2minütige Vorstellung der Poster P1 - P10)
P 1: Dänicke, S.; Valenta, Hana; Halle, I.; Matthes, S.; Flachowsky, G.; Gareis, M.	Untersuchungen zum Einfluß von Deoxynivalenol (DON)-belastetem Weizen in Kombination mit einem Nicht-Stärke-Polysaccharid (NSP)-spaltendem Enzym in der Broilermast
P 2: Fuchs, Elisabeth; Binder, E. M.; Heidler, D.; Krska, R.	Analytik von Mykotoxinmetaboliten aus dem mikrobiellen Abbau mittels LC-MS und NMR
P 3: Grajewski, J.; Böhm, J.; Szczepaniak, Katarzyna; Twaruzek, Magdalena; Skladanowska, Beata; Starczewska, Renata	Degradation von Ochratoxin A mittels biologischer Substanzen
P 4: Hennel, M.	Ochratoxin A in Röstkaffee
P 5: Kuhlmann, Iris; Valenta, Hana; Goll, M.; Oldenburg, Elisabeth; Flachowsky, G.	Untersuchungen zum Schimmelpilzbesatz und Mykotoxingehalt in Getreide aus Thüringen und Sachsen-Anhalt von 1996
P 6: Sauvant, Ch.; Silbernagl, St.; Gekle, M.	72-stündige Exposition von Zellen des proximalen Tubulus der Niere mit Ochratoxin A führt zur Abnahme der mRNA-Menge des Antiporters von organischen Anionen und Dikarboxylaten OAT1
P 7: Schwerdt, G.; Freudinger, Ruth; Silbernagl, St.; Gekle, M.	Ochratoxin A-induzierte Expressionsänderungen des Tumorsuppressorproteins p53 in Zellen des humanen proximalen Tubulus
P 8: Wilkens, J.; Jörissen, U.	Abbau von Ochratoxin A bei der Produktion von Röstkaffee
P 9: Woese, Katrin	Untersuchung von Roh- und Röstkaffee auf Ochratoxin A
P 10: Vrabcheva, Terry; Usleber, E.; Dietrich, R. ; Märtlbauer, E.	Ochratoxin A and Citrinin in Cereals from Bulgarian Villages with a History of Balkan Endemic Nephropathy

9.00 - 10.00

Wild, D.; Gareis, M.	Licht- und Schattenseite von Rotschimmel-Reis: Farbstoffe und Citrinin
Taschan, H.	Ochratoxin-A-Gehalt in amtlich erhobenen Malz- und Bierproben aus Hessen
Böhm, J.; Razzazi, E.; Grajewski, J.	Aktuelles und Zukunftsperspektiven der Biodegradation von Mykotoxinen

10.00 - 10.20 Kaffeepause

10.20 - 11.20

Buschhaus, H.	Mykotoxin Gehalte in Getreideproben von 1998
Lauber, U.; Müller, H.-M.	Xanthomegnin, Viomellein und Verrucosidin: Vergessene Mykotoxine?
Usleber, E.; Schneider, Elisabeth; Bürk, Christine; Brösigke, Karen; Dietrich, R.; Märtlbauer, E.; Bauer, J.	Enzymimmuntests zum Nachweis der Penicillientoxine Mycophenolsäure und Roquefortin

11.20 - 11.45 Schlußwort

Vorträge

1998 - Ein Jahr für Fusariumtoxine

F. M. Ellner

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Institut für ökologische Chemie
14195 Berlin, Königin Luise Str. 19

Die Witterungsbedingungen waren 1998 in vielen Regionen Deutschlands förderlich für den Befall von Getreide mit Ährenfusariosen. An Weizen konnte vor allem *Fusarium graminearum* nachgewiesen werden, ein Erreger der partiellen Taubährigkeit, der in der Lage ist, verschiedene Mykotoxine zu bilden. Von besonderer Bedeutung sind Deoxynivalenol und Zearalenon, die sowohl beim Menschen als auch bei Tieren schwere gesundheitliche Schäden verursachen können und zu den am häufigsten in Getreide vorkommenden Mykotoxinen zählen.
An unterschiedlichen Standorten in den Bundesländern Brandenburg, Mecklenburg Vorpommern, Niedersachsen, Sachsen-Anhalt und Schleswig-Holstein wurden Proben sowohl von Feldversuchen als auch von erwerbsmäßig bearbeiteten Schlägen gezogen und auf das Vorkommen von Deoxynivalenol, Nivalenol, 3-Acetyldeoxynivalenol, Zearalenon sowie α- und β-Zearalenol untersucht.
Erwartungsgemäß war die Mykotoxinbelastung der Proben entsprechend ihrer Herkunft sehr heterogen, wobei die hohen Konzentrationen an Deoxynivalenol mit bis zu 38,6 mg/kg in einigen Proben besonders hervorzuheben sind. Vergleichbar auch die Situation bezüglich des Zearalenons, hier lag die höchste nachgewiesene Konzentration bei 2,4 mg/kg. Die anderen untersuchten Mykotoxine waren in nur sehr viel geringeren Konzentrationen nachweisbar. Betrachtet man die durchschnittliche Belastung aller Proben nur mit Deoxynivalenol ist festzustellen, daß sie - begünstigt durch die Witterungsbedingungen - mit ca. 5 mg/kg weit über den in einigen Ländern existierenden zulässigen Höchstmengen liegt. Angesichts der sich ergebenden Gesamtkonzentration an Mykotoxinen im Getreide der Ernte 1998 ist eine gesundheitliche Gefährdung der Verbraucher nicht auszuschließen.

Zearalenon und Deoxynivalenol in Getreide und Futtermitteln Schleswig- Holsteins - Untersuchungen aus dem Erntejahr 1998

M. Reutter

Landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt (LUFA), Gutenbergstr.75-77, D-24116 Kiel

In der euröpäischen Futtermittelindustrie und bei den Landwirten stellt die Kontamination von Getreide und Futtermitteln mit Fusarientoxinen, vor allem mit Zearalenon (ZEA) und Deoxynivalenol (DON) ein bedeutendes Problem dar. Schleswig-Holstein galt allerdings bisher als problemfreies Gebiet. Ungünstige Wetterbedingungen während der Getreideblüte und während der Getreide- und Maisernte haben diese Situation im letzten Jahr dramatisch verändert. Besonders Weizen, Triticale und auch Mais waren betroffen. Die LUFA mußte daher in umfangreichen Untersuchungen sicherstellen, daß sowohl Futtermittelhersteller als auch Landwirte die Getreide-und Futtermittelpartien hinsichtlich ihrer Kontamination mit ZEA und DON kategorisieren und soweit möglich entsprechende Verschneidungsrezepturen entwickeln konnten.

Für die Bestimmung von ZEA kam das VDLUFA-HPLC-Verfahren zur Anwendung. Zur Bestimmung von Deoxynivalenol mittels HPLC wurde die bis dahin angewandte Methode optimiert. Zusätzlich zu einer Extraktreinigung mittels Aktivkohle/ Aluminiumoxid/Celite wurde ein weiterer clean-up Schritt mittels Immunaffinitätssäule eingeführt. Bis 3/1999 wurden 125 Weizenproben des Erntejahres 1998 auf ZEA, 116 Weizenproben auf DON untersucht. Entsprechend wurden 144 Schweinefutter auf ZEA und 175 Schweinefutter auf DON untersucht.

In den vergangenen Jahren war die Kontamination von Weizen und Futtermitteln in Schleswig-Holstein mit ZEA vernachläßigbar. So war im Zeitraum 1995-6/1998 in nur 6 % der Weizenproben Zearalenon bestimmbar. Der Maximalwert lag bei 20 µg/kg. DON konnte in diesem Zeitraum in keiner Getreideprobe bestimmt werden.
In Weizen des Erntejahres 1998 war dagegen ZEA in 74% der Proben bestimmbar. Der ZEA-Mittelwert lag bei 69,1 µg/kg, der Maximalwert bei 346 µg/kg. Entsprechend waren in 86% aller untersuchten Weizenproben DON bestimmbar. Der DON-Mittelwert lag bei 1,43 mg/kg, der Maximalwert bei 10,8 mg/kg.

Ein entsprechendes Bild zeigte sich bei Schweinefuttermitteln. Während für den Untersuchungszeitraum 1995-6/1998 nur eine geringe Zearalenonbelastung und kein DON ermittelt wurde, waren die Futtermittel aus dem zweiten Halbjahr 1998 und im ersten Halbjahr 1999 deutlich mit Zearalenon und DON belastet. In 88% aller Schweinefutterproben war ZEA bestimmbar. Der ZEA-Mittelwert lag bei 49,8 µg/kg, der Maximalwert bei 304 µg/kg. Entsprechend war in 84% aller untersuchten Schweinefutterproben DON bestimmbar. Der DON-Mittelwert lag bei 1,0 mg/kg, der Maximalwert bei 10,2 mg/kg.

Neben der Kontamination von Weizen und entsprechend der Futtermittel mit ZEA und DON wurde die Situation für Landwirte und Futtermittelhersteller zusätzlich verschärft, daß heimischer Triticale, z.T. Mais und Maissilage aber auch Sojaschrot aus diversen Herkunftsländern ebenfalls mit ZEA und/oder DON kontaminiert waren. Entsprechende Zahlen werden präsentiert.

Fusarienprobleme in einer Agrar-Genossenschaft in Brasilien

A. Thalmann

Staatliche Landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt Augustenberg, Karlsruhe

Das Ministerium Ländlicher Raum Baden-Württemberg steht seit vielen Jahren in Kontakt mit einer 1951 von Donauschwaben gegründeten Genossenschaft Agrária Entre Rios in Brasilien. Es wurde 1997 um Rat ersucht, weil sich im Ackerbau und in der Zuchtsauenhaltung Probleme zeigten, die auf Fusarien und deren Toxine zurückzuführen sind.

In den letzten 10 Jahren sind im Ackerbau zwei entscheidende Änderungen eingetreten:

- In die vorher übliche Fruchtfolge (Sommerfrucht: Soja, Winterfrüchte. Hafer, Gerste oder Weizen) wurde als weitere Sommerfrucht Mais eingeführt, der mittlerweile einen Anteil von 25 % erreicht hat.
- Um die Gefahr von Bodenerosion zu mindern oder zu bannen wurde die wendende Bodenbearbeitung mit dem Pflug weitgehend aufgegeben und die Direktsaat eingeführt.

Während vor 10 Jahren keine Probleme mit Fusarien beobachtet wurden (Fusariosen am Getreide, Hyperöstrogenismus oder Futterverweigerung bei Schweinen) nehmen die Probleme anscheinend jetzt ständig zu, so daß nach Lösungen gesucht werden muß.

Die für Fusariosen typischen Verfärbungen der Körner (vor allem die Rotfärbung durch F. graminearum) wird vielfach beobachtet. Mittlerweile sieht man in Sojabeständen immer häufiger einzelne Pflanzen, die absterben. Bei näherer Betrachtung findet man Rotverfärbungen in Stellen der Stengelbasis, die mit den organischen Rückständen auf dem Boden in Kontakt sind. Es ist zu vermuten, daß die Fusarien sich im zerrottenden Stroh befinden und auf die Pflanze übergehen.

Nach den in Brasilien durchgeführten Analysen (vorwiegend ELISA-Tests, die aber noch nicht systematisch vorgenommen wurden) ist das Vorkommen von Zearalenon und Deoxynivalenol in Getreide und Mais häufig festzustellen, und zwar in Konzentrationen, bei denen mit typischen Erscheinungen zu rechnen ist (> 0,25 mg/kg bei ZEA und > 1 mg/kg bei DON). Die Leistungen der Zuchtsauen sind trotzdem sehr gut. Hyperöstrogenismus tritt vor allem im Hochsommer auf, wenn die Tiere unter zu großer Hitze zu leiden haben.

Ansätze, Fusarienprobleme zu mildern, könnten sein:

- Optimierung der Schweinehaltung vor allem im Hinblick auf das Mikroklima im Stall.
- Einstellen der Zuammensetzung des Mischfutters auf die erschwerten Bedingungen.
- Aufgreifen und Weiterverfolgen von Beobachtungen in Betrieben, die im Pflanzenbau weniger oder keine Probleme haben. Wirc z.B. der nach Mais gesäte Hafer als Grünhafer abgeweidet, treten keine Fusarienprobleme auf. Auch in der Behandlung der organischen Reste auf dem Acker liegen anscheinend Möglichkeiten (z.B. Besprühen mit Harnstofflösung zum schnelleren Umsatz.

Auftreten von *Fusarium* spp. und Mykotoxingehalte von Winterweizen und Möglichkeiten zur Bekämpfung

Meier, Anja*; Birzele, Barbara**; Oerke, E.-C.*; Dehne , H.-W.*

Institut für Pflanzenkrankheiten, *Abt. Pflanzenkrankheiten und **Landwirtschaftliche und Lebensmittel Mikrobiologie, Universität Bonn, Nußallee 9, 53115 Bonn

In den Jahren 1997 und 1998 wurden das Auftreten von *Fusarium*-Arten und die Belastung von Weizen mit dem Mykotoxin Deoxynivalenol (DON) an drei Standorten im Rheinland erfaßt. Dabei wurde untersucht, inwieweit Fungizide zu einer Verminderung des Befalls mit *Fusarium* spp. und der DON-Belastung der Körner führten. Die Fungizide wurden zum Zeitpunkt der Blüte appliziert. Die *Fusarium*-Arten und *Microdochium nivale* wurden auf Selektivmedien isoliert und mikroskopisch differenziert. DON wurde immunologisch nachgewiesen.

Die Symptomausprägung und Befallsintensität von *Fusarium* spp. waren 1997 an allen Standorten gering, zur Ernte lag der Befall je nach Standort jedoch bei 23 - 33%. 1998 waren die Unterschiede im Befall bei Werten von 8 - 51% befallener Körner zwischen den Standorten größer. Das Spektrum der *Fusarium*-Arten variierte zwischen den Standorten und Jahren erheblich. Neben *M. nivale* traten mit abnehmender Häufigkeit *F. avenaceum*, *F. poae*, *F. tricinctum*, *F. culmorum*, *F. graminearum* sowie weitere *Fusarium*-Arten auf. Die Mykotoxinbelastung der Körner erreichte 1997 je nach Standort 50 - 380 µg DON/kg. Im folgenden Jahr lag die DON-Belastung an zwei Standorten um bis zu 200 µg DON/kg höher, am Standort Kerpen blieb sie jedoch geringer als im Vorjahr.

Die Azol-Fungizide reduzierten die Befallshäufigkeit von *Fusarium* spp. 1997 um 10 - 60%. Der unterschiedliche Wirkungsgrad beruhte vermutlich darauf, inwieweit mit der Applikation der Zeitpunkt der Ähreninfektion getroffen wurde. Entsprechend der Befallshäufigkeit wurde auch die Mykotoxinkonzentration je nach Standort um 5 - 60% gesenkt, durchschnittlich um 37%. Im Jahr 1998 wurde die Befallshäufigkeit nicht oder nur um bis zu 30% reduziert. Die DON-Konzentration wurde dagegen um 20 - 90% reduziert, im Durchschnitt um 60%. Gegenüber den einzelnen *Fusarium*-Arten wurde keine selektive Wirkung der Fungizide festgestellt. Keines der Azol-Fungizide wies gegenüber dem z.T. hohen Befall mit *M. nivale* eine ausreichende Wirkung auf. Ein Strobilurin als Mischpartner verringerte zwar den Befall mit *M. nivale*, zeigte aber weder einen Einfluß auf das Auftreten von *Fusarium* spp. noch auf den DON-Gehalt.

Im integrierten Anbau führte 1997 ein *Fusarium*-Befall von fast 30% zu einer durchschnittlichen Toxinbelastung von 250 µg DON/kg, 1998 erreichte der Befall 50%, der DON-Gehalt 490 µg/kg. Fungizide reduzierten 1997 diese Werte auf 20% bzw. 150 µg DON/kg, im Jahr 1998 auf 35% und 150 µg DON/kg. Vergleichsflächen im Organischen Landbau wiesen 1997 bzw. 1998 bei erheblich niedrigerem Ertragsniveau einen durchschnittlichen Befall von 5% bzw. 15% auf. Der DON-Gehalt lag 1997 bei 100 µg/kg, 1998 dagegen bei 300 µg/kg.

Um das Inokulumpotential der Pathogene für den späteren Kornbefall zu charakterisieren, wurde das Auftreten von *Fusarium* spp. und *M. nivale* am Saatgut, im Boden sowie an verschiedenen Pflanzenteilen zu mehreren Entwicklungsstadien untersucht. Im Gegensatz zum Befall mit *M. nivale* war der Saatgutbefall mit *Fusarium* spp. für den weiteren Infektionsverlauf von geringer Bedeutung,. Der Ährenbefall resultierte vor allem aus dem Populationsaufbau der im Boden vorhandenen *Fusarium*-Arten, die im Verlauf der Vegetationsperiode an den verschiedenen Pflanzenteilen nachzuweisen waren.

Einfluß suboptimaler Lagerung auf die Entwicklung von DON in Weizen aus Organischem Landbau

Barbara Birzele*, Anja Meier** und J. Krämer*

* Institut für Pflanzenkrankheiten, Abt. Landwirtschaftliche und Lebensmittel-Mikrobiologie, Meckenheimer Allee 168, 53115 Bonn

** Institut für Pflanzenkrankheiten, Abt. Pflanzenkrankheiten, Nußallee 9, 53115 Bonn

Eine unsachgemäße Lagerung kann die Getreidequalität stark herabsetzen und wirtschaftliche Einbußen sowie gesundheitliche Beeinträchtigungen zur Folge haben. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wurde das Auftreten potentieller Deoxynivalenol (DON)-Bildner auf Winterweizen aus Organischem Landbau der Ernten 1997 und 1998 dem Nachweis von DON gegenübergestellt. Anschließend wurde überprüft, wie sich der DON-Gehalt unter suboptimaler Lagerung entwickelt.

Winterweizenproben wurden auf ihre Pilz-Gesamtkeimzahl und anschließend nach Auslegen der Körner auf Selektivnährmedien mikroskopisch hinsichtlich der Infektionsrate mit *Fusarium* spp. sowie den bisher bekannten DON-Bildnern *Fusarium culmorum* und *Fusarium graminearum* untersucht. Mit dem Nachweis *Fusarium*-spezifischer extrazellulärer Polysaccharide (EPS) im Latex-Agglutinationstest war darüber hinaus eine Abschätzung hoher *Fusarium*-Infektionen möglich. Bei positivem EPS-Test werden DON-Gehalte größer 150 µg/kg erwartet. Die Quantifizierung von DON erfolgte mittels ELISA (R-Biopharm). Lagerversuche wurden bei Kornfeuchten von 17 und 20 % durchgeführt.

Auf dem erntefrischen Weizen wurden 1997 und 1998 einheitliche Pilzgesamtkeimzahlen von $1{,}3 \times 10^5$ bzw. $1{,}2 \times 10^5$ KbE/g ermittelt. Dabei machte *Fusarium* spp. 1997 mit fast 5 % einen geringeren Anteil am Pilzspektrum aus als 1998 mit 10 %. Dieser in 1998 höhere *Fusarium*-Besatz der Körner wurde im EPS-Test bestätigt, der 1998 im Gegensatz zu 1997 für jede untersuchte Probe positiv war. Dieser Befund spiegelte sich in den DON-Gehalten wider, die 1997 mit durchschnittlich 104 µg/kg ein Drittel der Werte von 1998 mit durchschnittlich 300 µg/kg ausmachten. Die Differenzierung der *Fusarium*-Arten ergab 1998 erstmals hohe Anteile von *Fusarium graminearum* mit bis zu 11 %. Eine 2- bzw. 4wöchige Lagerung des Weizens der Ernte 1997 bei 17%iger Kornfeuchte führte zu einem Anstieg der mittleren DON-Gehalte von 104 µg/kg auf 367 bzw. 928 µg/kg, bei 20%iger Kornfeuchte auf 1567 bzw. 2197 µg/kg. Während die durchschnittlichen DON-Gehalte erntefrischer Proben unterhalb des in Österreich geltenden Richtwerts von 500 µg/kg lagen, wurden nach 4wöchiger Lagerung bei 17%iger Kornfeuchte und 2wöchiger Lagerung bei 20%iger Kornfeuchte DON-Konzentrationen oberhalb dieses Richtwerts ermittelt. Ausgehend von einem höheren DON-Kontaminationsniveau des Weizens 1998 überschritt der DON-Gehalt nach Lagerung bei einer Kornfeuchte von 17 % bereits nach 2 Wochen deutlich diesen Richtwert.

Einfluß von Pflanzenschutzmaßnahmen auf den Fusarientoxin-Gehalt in Weizen

Elisabeth Oldenburg[1], J. Weinert[2] und G. A.Wolf[2]

[1] Institut für Grünland- und Futterpflanzenforschung, Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL), Bundesallee 50, 38116 Braunschweig
[2] Institut für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz, Georg-August-Universität Göttingen, Grisebachstraße 6, 37077 Göttingen

Unter den Qualitätsparametern von Getreide ist der Gehalt an Mykotoxinen aufgrund der potentiellen gesundheitlichen Gefährdung von Nutztier und Mensch von großer Bedeutung. Vor allem im Weizen können hohe Gehalte von Fusarientoxinen (insbesondere Deoxynivalenol) auftreten, da die Ähren dieser Getreideart häufig stark von toxinbildenden Fusariumarten (F. culmorum, F. graminearum) befallen werden. Das Potential einer Bekämpfung des Fusariumbefalls von Getreide mit Fungiziden und einer möglicherweise damit einhergehenden Minderung des Toxin-Kontaminationsrisikos ist bisher nicht ausreichend untersucht und wird aufgrund widersprüchlicher Untersuchungsergebnisse kontrovers beurteilt.
In einem Verbundprojekt der Universität Göttingen, der Biologischen Bundeanstalt für Land- und Forstwirtschaft (BBA), der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL) und Mitgliedern des Arbeitskreises "Integrierter Pflanzenschutz-Getreide" der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft (DPG) wurden deshalb die Auswirkungen von Fungizidmaßnahmen auf den Fusarientoxingehalt in Ernteprodukten von Weizen unter Berücksichtigung von Standorteinflüssen und Sorteneffekten untersucht.
Es wurden dreijährige (1996-1998), bundesweite Feldversuche an max. 18 Standorten durchgeführt, bei denen 20 m2 große Parzellen in 4-facher Wiederholung mit zwei gegenüber Ährenfusariose unterschiedlich anfälligen Winterweizensorten angelegt wurden. Auf diesen Parzellen wurden die Auswirkungen von drei unterschiedlichen, praxisrelevanten Fungizidstrategien im Vergleich zu Varianten ohne Fungizidapplikation (Kontrolle) untersucht. Bei zwei Fungizidvarianten wurden Azolfungizide entweder in 3 terminierten Anwendungen oder in 2 Anwendungen nach Bekämpfungsschwelle eingesetzt, und bei der dritten Variante wurden Fungizide ohne Azole in 2 Anwendungen nach Bekämpfungsschwelle angewandt. Dieses Basisprogramm wurde zudem in zwei getrennten Blöcken durchgeführt, einerseits unter natürlichen Infektionsbedingungen und andererseits unter künstlich erhöhtem Infektionsdruck. Als künstliches Inokulum wurden Haferkörner, infiziert mit Fusarium culmorum bzw. F. graminearum, gleichmäßig auf dem Boden der entsprechenden Parzellen verteilt.

Die Parzellen wurden mit einem Mähdrescher beerntet und ein Ernteanteil von jeweils 500 g wurde auf 2 mm Partikelgröße vermahlen. In diesem Probenmaterial wurden die Fusarientoxine Deoxynivalenol (DON) und fallweise Zearalenon (ZEA) mittels ELISA-Test (r-Biopharm GmbH, Darmstadt) bestimmt.

In den künstlich inokulierten und nicht mit Fungiziden behandelten Varianten wurden im Vergleich zu den natürlich infizierten Kontrollen erwartungsgemäß deutlich höhere DON-Gehalte festgestellt, die jedoch jahres- und standortspezifisch erheblich variierten. Ein sortenspezifischer Einfluß auf die Höhe der Toxinanreicherungen war nicht so deutlich erkennbar.

An den Standorten, bei denen hohe Deoxynivalenol-Gehalte (5 mg/kg im Erntegut der künstlich inokulierten Kontrollen nachgewiesen wurden, erbrachten alle Fungizidmaßnahmen Minderungen in den DON-Gehalten der Weizenkörner im Vergleich zu den unbehandelten Kontrollen. Mit dem Fungizid Folicur (Wirkstoff Tebuconazol) appliziert zur Vollblüte wurde dabei die beste Wirkung (bis 75% Senkung der DON-Werte) erzielt. Bei DON-Gehalten <5 mg/kg in den Kontrollen wurde durch die Fungizidmaßnahmen jedoch keine eindeutige Verringerung der DON-Kontaminationen erzielt. Dagegen erbrachte die Applika-

tion der Azolfungizide sowohl bei höheren (0,2 bis 1,0 mg/kg; Kontrolle) als auch bei geringen Zearalenon-Belastungen (0,1 mg/kg; Kontrolle) deutliche Reduzierungen von maximal 90% in den ZEA-Gehalten der Körner.

Veränderung des Fumonisingehaltes von Mais in hydrothermischen Prozessen der Maisverarbeitung

Ute Meister

IGV Institut für Getreideverarbeitung GmbH, Arthur-Scheunert-Allee 40-41, D-14558 Bergholz-Rehbrücke

Fumonisine, Mykotoxine von Fusarium moniliforme und einigen verwandten Spezies, sind weltweit in Mais und in verarbeiteten Maisprodukten zu finden. Maisrohstoffe wie Maisgrits, Maisgrieß oder Maismehl zeigen wesentlich höhere Fumonisingehalte als verarbeitete Lebensmittel, die während ihrer Herstellung hydrothermischen Prozessen ausgesetzt (Cornflakes, Frühstückscerealien, Popcorn) bzw. mit Alkalien behandelt worden sind (Masa, Tortilla). Diese Befunde legen den Schluß nahe, daß die Fumonisine während der Verarbeitung abgebaut werden. Dem stehen jedoch Literaturbefunde zur Hitzestabilität in wässrigen Pilzkulturen gegenüber. Alkalische Prozesse führen zur Bildung von hydrolysierten Fumonisinen, die mit den üblichen Methoden (HPLC, ELISA) nicht zu erfassen sind. Postuliert wurde auch die Bildung von Addukten aus Fumonisinen und reduzierenden Zuckern in thermischen Prozessen der Nahrungsmittelindustrie. Die Addukte sind ebenfalls mit der herkömmlichen HPLC-Methode nicht nachzuweisen, da die Aminogruppe des Fumonisinmoleküls nicht mehr für die Derivatisierungsreaktion zur Verfügung steht.

Da bisher nur sehr wenige Untersuchungen zur Veränderung des Fumonisingehaltes in verschiedenen Prozessen der Nahrungsmittelindustrie vorliegen, wurde mit Hilfe von Versuchsplänen untersucht, wie sich der Fumonisingehalt bei der Extrusion und der Cornflakesherstellung in Abhängigkeit von den gewählten Prozessparametern verändert. Dazu wurden Maisgrieß bzw. Maisgrits mit Fumonisin B1 und B2 im mg/kg-Bereich dotiert. Die Kontamination wurde so hoch gewählt, um die Abnahme des Fumonisingehaltes während der technologischen Prozesse gut verfolgen zu können. Der dotierte, genetzte Maisgrieß wurde in einem Labor-Einschneckenextruder unter Variation der Extrusionsparameter heißextrudiert und gelatiniert. Dotierte, genetzte Maisgrits wurden in Anlehnung an den herkömmlichen Prozess der Cornflakesherstellung unter erhöhtem Druck und Temperatur gekocht, anschließend geflockt und geröstet. Nach allen hydrothermischen Prozessstufen wurde der Fumonisingehalt mittels HPLC und ELISA bestimmt.
Alle hydrothermischen Prozesse führten wie erwartet zur Abnahme des bestimmbaren Fumonisingehaltes. Relativ unabhängig von den gewählten Extrusionsparametern nahm der bestimmbare Fumonisingehalt bei der Heißextrusion um ca. 50 - 70 %, bei der Gelatinierung um ca. 40 - 60 % ab. Eine Erhöhung von Temperatur, Schneckenkompres-sion und Drehzahl bewirkten sowohl bei der Heißextrusion als auch bei der Gelatinierung eine stärkere Abnahme der Fumonisingehalte. Die Rohstofffeuchte hatte bei Heißextrusion und Gelatinierung unterschiedlichen Einfluß. Bei der Heißextrusion führte die Erhöhung der Feuchte zu einer geringeren Abnahme, bei der Gelatinierung dagegen zu einer stärkeren Abnahme des bestimmbaren Fumonisingehaltes.
Beim Kochen der dotierten Grits nahm der bestimmbare Fumonisingehalt mit zunehmender Kochdauer ab. 30 min Kochzeit bei 120 °C reduzierten den Fumonisingehalt auf ca. 60 - 65 % des ursprünglichen Gehaltes, 60 min auf ca. 40 - 50 % und 90 min auf ca. 20 - 25 %. Der nachfolgende Röstprozess reduzierte den bestimmbaren Fumonisingehalt in Abhängigkeit von der Röstdauer nochmals (auf ca. 6 - 40 % des in den dotierten Grits bestimmten Gehaltes).
Mittels ELISA wurden ähnliche Fumonisingehalte ermittelt, die jedoch oftmals höher als die HPLC-Werte lagen. Eine Erklärung für die mittels ELISA bestimmten höheren Fumonisingehalte könnten die postulierten Fumonisin-Addukte liefern, da sowohl die FB1-Glucose- als auch die FB1-Fructose-Addukte Kreuzreaktionen mit den Fumonisin-Antikörpern des ELISA-Testsatzes eingehen, die allerdings geringer sind als bei reinem Fumonisin B1.

Zearalenon, α- und β-Zearalenol in Gallen von Zuchtsauen - ein Indikator zur Diagnose von Fertilitätsstörungen ?

K. Meyer[1], E. Usleber[2], E. Märtlbauer[2] und J. Bauer[1]

[1]Lehrstuhl für Tierhygiene, Technische Universität München
[2]Lehrstuhl für Hygiene und Technologie der Milch, Ludwig-Maximilians-Universität München

Die östrogene Wirkung von Zearalenon [6-(10-Hydroxy-6-oxo-trans-1-undecenyl)-β-resorcylsäurelacton] ist seit langem bekannt. Rötung und Schwellung der Vulva, geringgradige Anschwellung des Gesäuges, Vergrößerung des Uterus, pathologische Funktionsgebilde auf den Ovarien sowie Fruchtbarkeitsstörungen wurden in Zusammenhang mit der Verfütterung Zearalenon-haltiger Futtermittel an Sauen beobachtet (Etienne und Jemmali, 1982). Welche Bedeutung Zearalenon aber bei Fertilitätsstörungen in der Praxis zukommt, ist bislang weitgehend unbekannt; unter anderem aufgrund der Tatsache, daß Mykotoxine inhomogen in Futtermitteln verteilt sind und deshalb die Aussagekraft mykotoxikologischer Futtermitteluntersuchungen limitiert ist. Dieser Sachverhalt hat dazu geführt, Probenmaterial vom Tier zur Abklärung mykotoxikologischer Probleme heranzuziehen. Zearalenon wird beim Tier überwiegend zu α- und β-Zearalenol reduziert, größtenteils an Glucuronsäure konjugiert und bilär sezerniert (Biehl et al., 1993). In einer epidemiologischen Studie wurde deshalb untersucht, inwieweit das Vorkommen von Zearalenon bzw. Zearalenon-Derivaten (α- und β-Zearalenol) in der Galle mit Fruchtbarkeitsstörungen nicht infektiöser Genese bei der Sau miteinander korrelieren. Hierzu wurden insgesamt 794 Gallen von Zuchtsauen aus 212 Betrieben sowie 158 Futtermittel analysiert. Neben Betrieben mit ungeklärten Fertilitätsstörungen wurden auch solche mit zumindest durchschnittlichen reproduktionsbiologischen Daten in die Untersuchungen einbezogen.
Das angewandte Verfahren zur Gallenanalyse, eine Verbindung von HPLC mit einem EIA, gestattete den sensitiven, reproduzierbaren und auch selektiven Nachweis von Zearalenon, α- und β-Zearalenol. Die Nachweisgrenzen lagen bei 1 ng/g. Die Untersuchung der Futtermittel erfolgte sowohl mit als auch ohne vorherige Inkubation mit β-Glucosidase. In 25,9% der Proben konnte Zearalenon in Konzentrationen von 4 bis 1136 µg/kg nachgewiesen werden. Ein Anstieg der meßbaren Zearalenongehalte nach enzymatischer Vorbehandlung war nicht zu beobachten. In Schweinegallen erwiesen sich Zearalenon bzw. dessen Metabolite dagegen als ubiquitär verbreitet; 96,2% der Proben zeigten ein positives Resultat (1,0-220,4 ng/g). Die ermittelten Gehalte von Galle und der der entsprechenden Futtermittel waren nur sehr gering korreliert. Die Diagnose einer Belastung mit Zearalenon anhand der Analyse von Gallenflüssigkeit stellt somit, da sie die Bestandssituation besser widerspiegelt, eine sinnvolle Alternative zur Futtermitteluntersuchung dar.
Ein Zusammenhang zwischen dem qualitativen und quantitativen Vorkommen von Zearalenon, α- und β-Zearalenol in der Galle von Zuchtsauen und Fruchtbarkeitsstörungen konnte jedoch nicht nachgewiesen werden.

BIEHL, M.L., D.B. PRELUSKY, G.D. KORITZ, K.E. HARTIN, W.B. BUCK, H.L. TRENHOLM, 1993:
Biliary excretion and enterohepatic cycling of zearalenone in immature pigs.
Toxicol. Appl. Pharmacol. **121**, 152-159

ETIENNE, M., M. JEMMALI, 1982:
Effects of zearalenone (F2) on estrous activity and reproduction in gilts.
Anim. Sci. **55**, 1-10

Untersuchungen zur Bedeutung von Mykotoxinen in der Schweinehaltung

Dr. W. Leyk

Untersuchungszentrum Münster -LUFA- der Landwirtschaftskammer Westfalen-Lippe,
Referat 42, Nevinghoff 40, 48147 Münster

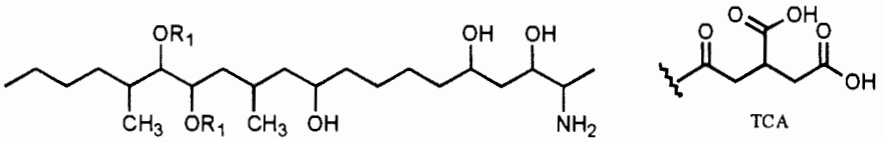
Mykotoxine sind seit langem bekannt und sind regelmäßig in den verschiedenen Getreidesorten (Gerste, Hafer, Mais) anzutreffen. Für die Tierhaltung sind die Mykotoxine Zearalenon (ZEA) Deoxynivalenol (DON) von besonderer Bedeutung. Die Risiken für die Gesundheit und vor allem Leistungsfähigkeit von landwirtschaftlichen Nutztieren sind hoch einzuschätzen. In Jahren mit schlechter Witterung in der Erntezeit oder an klimatisch benachteiligten Standorten kann davon ausgegangen werden, daß der Anteil der o. a. Mykotoxine so hoch ist, daß es zu klinischen Erscheinungen bei den Nutztieren kommt. Bei Untersuchungen auf ZEA und DON in der Erntezeit 1998 wurde unterschiedliche zum Teil sehr hohe Toxingehalte festgestellt. Bei den klinischen Erscheinungen, die im Rahmen der Aufnahme von ZEA festgestellt wurden, sind im Vordergrund sogenannte Hyperöstrogenismus. Der vor allem bei den weiblichen noch nicht geschlechtsreifen Tieren zum Ausdruck kommt. Typisch sind die brunstähnlichen Rötungen und Schwellungen der Vulva bei fehlendem Duldungsreflex. Die Fruchtbarkeitsrate sinkt stark ab. Bei neugeborenen Saugferkeln scheint die Milchleiste angebildet.
Bei DON sind insbesondere Schleimhautreizungen, Futterverweigerung und Durchfall typische Leitsymptome.
Im Rahmen von Untersuchungen wurden Grenzwerte festgelegt und Maßnahmen bei mykotoxinbelastetem Getreide erarbeitet.
Die Ergebnisse der Untersuchungen auf DON und ZEA und die für Futtermittel festgelegten Grenzwerte werden vorgetragen, Mittelwert lag bei DON 1,19 mg/kg und bei ZEA 0,10 mg/kg. Es wird empfohlen, rechtzeitig Untersuchungen auf Fusarientoxine durchführen zu lassen, um rechtzeitig Vorsorge zur Vermeidung von klinischen Erkrankungen treffen zu können.

Empfindlicher und selektiver Nachweis von hydrolysiertem Fumonisin HFB_1 in maishaltigen Lebensmitteln mittels HPLC-ESI-MS

Michaela Hartl und H.-U. Humpf

Lehrstuhl für Lebensmittelchemie, Universität Würzburg, Am Hubland, 97074 Würzburg

Die Fumonisine sind eine seit nunmehr zehn Jahren bekannte Gruppe von Mykotoxinen, die von einigen *Fusarium spp.*, hauptsächlich von *Fusarium moniliforme*, gebildet werden und vorwiegend in Mais zu finden sind. Ihr bedeutendster Vertreter ist das Fumonisin B_1, das als Kontaminante in Maismehlen weit verbreitet ist und möglicherweise kanzerogen wirkt [1]. Durch Hitze- und Alkalibehandlung, wie sie bei der Herstellung von maishaltigen Lebensmitteln zur Anwendung kommt, wird FB_1 unter Abspaltung der beiden TCA-Reste zum sogenannten hydrolysierten Fumonisin HFB_1 abgebaut [2].



FB_1: R_1 = TCA
HFB_1: R_1 = H

Neuere Untersuchungen zur Aufklärung des Wirkmechanismus haben gezeigt, daß die Fumonisine der B-Reihe als potente Inhibitoren der Ceramid-Synthase entscheidend in den Sphingolipidstoffwechsel eingreifen. HFB_1 fungiert darüberhinaus nicht nur als Inhibitor, sondern kann vom Enzym auch als Substrat erkannt und zum entsprechenden Ceramid N-Acyl-HFB_1 umgesetzt werden. Bei Untersuchungen an einer humanen Darmzellinie zeigte dieses Folgeprodukt eine stärkere Toxizität als HFB_1 und FB_1 [3].
Zum Nachweis und zur Erfassung einer möglichen Belastung mit HFB_1 wurde eine geeignete Analytik zur qualitativen und quantitativen Bestimmung in Maisprodukten, vor allem in Knabberartikeln, entwickelt. Die untersuchten maishaltigen Proben, Tortilla Chips, Tacos, Nachos und Extruderprodukte, wurden nach Extraktion mit Methanol-Acetonitril-Wasser (25:25:50) über eine C18-Festphase aufgereinigt und anschließend mittels HPLC/Elektrospray-Massenspektrometrie im „selected ion monitoring" (SIM)- Modus analysiert. Diese Technik erlaubt den selektiven Nachweis von HFB_1 neben FB_1. Die Quantifizierung erfolgte über deuteriummarkiertes FB_1 als internen Standard. Die Wiederfindungsraten lagen für HFB_1 zwischen 64 und 88%, für FB_1 betrugen sie 97 bzw. 96%. Bei einer Bestimmungsgrenze von 8 ng/g (Signal-Rausch-Verhältnis 5:1) konnten in 70% der Proben HFB_1 in Konzentrationen von 8-80 µg/kg nachgewiesen werden. In fast allen untersuchten Lebensmitteln lag daneben auch FB_1 mit Gehalten von 40-450 µg/kg vor (Bestimmungsgrenze 5 ng/g). Nur eine der elf Proben war frei von Fumonisinen.

1. Marasas W F O (1996) Adv Exp Med Biol 392: 1-17.
2. Sydenham E W, Stockenström S, Thiel P G, Shephard G S, Koch K R, Marasas W F O (1995) J Agric Food Chem 43: 1198-1201.
3. Humpf H-U, Schmelz E M, Meredith F I, Vesper H, Vales T R, Wang E, Menaldino D S, Liotta D C, Merrill A H Jr (1998) J Biol Chem 273: 19060-19064.

Einsatz der HPLC/MS Kopplung in der Analytik der B-Trichothecene

E. Razzazi

Institut für Ernährung / Veterinärmedizinische Universität Wien
Veterinärplatz 1 / A-1210 Wien

Wie die Untersuchungen der letzten Jahre gezeigt haben, spielen Fusarien und deren toxische Stoffwechselprodukte besonders in Getreideanbaugebieten Österreichs eine wesentliche Rolle. In österreichischen Getreidesorten konnten immer wieder das Erbrechen bzw. Futterverweigerung auslösende Deoxynivalenol (Vomitoxin) und Nivalenol nachgewiesen werden. Die Belastung der Futtermittel mit Fusarientoxinen führte in den letzten Jahren immer häufiger zu Problemen in der Tierhaltung.
Die Spurenanalytik der Mykotoxine Nivalenol und Deoxynivalenol im unteren ppb-Bereich in Getreide mittels HPLC ist meist durch Verbindungen aus der Probenmatrix limitiert, da die UV-Detektion im unteren Bereich bei 220 nm erfolgt. Die Kombination von empfindlicherer und spezifischerer Detektion ist oft die einzige Lösung für dieses Problem. Mit der Verfügbarkeit von LC-Kopplungssysteme kann nun auch das Massenspektrometer als höchstselektiver und gleichzeitig hochempfindlicher Detektor in der HPLC eingesetzt werden. Darüber hinaus bietet die Kombination von HPLC und Massenspektrometrie ein hohes Potential in der direkten Analyse von polaren, ionischen, schwerflüchtigen und hochmolekularen Verbindungen, die ansonst nicht oder nur mit großem Aufwand mittels GC/MS detektiert werden können. In den letzten Jahren hat sich das sogenannte „Atmospheric Pressure Ionization (API)-Interface" in der Routineanalytik durchgesetzt.

Am Beispiel der Analyse der Mykotoxine Nivalenol (NIV) und Deoxynivalenol (DON) im Weizenvollmehl mittels LC-APcl-Massenspektrometrie soll das Potential dieser neuen Technik in der Spurenanalytik biologischer Proben demonstriert werden.
Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Methode für die Bestimmung der beiden B-Trichothecene mittels HPLC-APcl-MS entwickelt. Im Zuge der Optimierung der Methode wurde der Einfluß Verschiedener LC und MS Parameter auf die Empfindlichkeit und Fragmentierungsmuster der getesteten Mykotoxine untersucht. Allgemein wurde für beiden getesteten Substanzen eine intensive Fragmentierung beobachtet. Das Fragmentierungsmuster ist aber sehr stark von der Cone-Spannung und Vernebelungstemperatur abhängig. Zusätzlich wurde der Einfluß verschiedener Puffersysteme auf die Empfindlichkeit des APcl-Interfaces untersucht.

Die Extraktion und Probenvorbereitung erfolgte in zwei Schritten mit Mycosep-Säulchen. Wir haben eine modifizierte, isokratische und schnelle HPLC Methode auf RP Basis entwikkelt, die mit 1ml/min ohne Split und direkt mit dem APcl-Interface gekoppelt werden konnte. Im negativen Modus scheinen die beiden Substanzen eine bessere Ionisierung zu unterliegen als im positiven Modus. Die Quantifizierung erfolgte im SIM mode und mittels Verwendung von Molekülpeaks und die Hauptfragmente. Die Methode weist eine sehr gute Linearität auf. Die Wiederfindungsrate für NIV betrug 70% während dies für DON bei 86% lag. Bestimmungsgrenze für NIV in Matrix lag bei 50 µg/Kg und für DON 40 µg/Kg. Als reiner Standard injiziert wurde, lag die Bestimmungsgrenze weitaus im unteren ppb Bereich: 6 µg/Kg für NIV und 5 µg/Kg DON. Die Wiederholbarkeit im oberen Konzentrationsbereich (500 ppb) betrugt für NIV 4% und für DON 3.3%. Im unteren Konzantrationsbereich (50 ppb) lag dies für NIV bei 6.2% und für DON bei 7.7%.

Internationaler Laborvergleichstest für die Bestimmung von Deoxynivalenol und Zearalenon in Mais und Weizen

R. Josephs, R. Krska und M. Grasserbauer

Interuniversitäres Forschungsinstitut für Agrarbiotechnologie (IFA-Tulln), Abteilung Analytikzentrum, Konrad-Lorenz-Str. 20, A-3430 Tulln, Österreich

Aufgrund des großen Interesses veranstaltete die Abteilung Analytikzentrum des IFA-Tulln 1998 zum wiederholten Mal einen internationalen Laborvergleichstest für die Analytik der relevanten *Fusarium* Mykotoxine DON und ZON in Mais und Weizen unter der Ägide der ASQL-EURACHEM Österreich und mit der finanziellen Unterstützung der Firma BIOMIN GTI GmbH.

Durch diesen Laborvergleichstest sollte die Qualität und die Vergleichbarkeit der Mykotoxinanalytik von insgesamt 28 Teilnehmern aus Bulgarien, Deutschland, Frankreich, Griechenland, Italien, Niederlande, Norwegen, Schweiz, Singapur, Ungarn, USA und Österreich ermittelt werden. Außerdem sollte ein Know-how-Transfer unter den Teilnehmern angeregt werden, um die Qualität der Mykotoxinanalytik zu steigern.

Die teilnehmenden Labors erhielten jeweils 4 verschiedene Proben für DON und ZON, d.h. unkontaminierte, künstlich kontaminierte (102.4 µg/kg ZON und 475.0 µg/kg DON) und jeweils zwei natürlich kontaminierte Mais- bzw. Weizenproben. Mykotoxinstandardlösungen wurden nicht mitgeliefert.

Die Teilnehmer verwendeten überwiegend RP-HPLC-UV, GC-ECD nach MycoSep™ Clean-up und ELISA zur Bestimmung von DON, während zur Bestimmung von ZON vor allem RP-HPLC-FLD nach Immunoaffinitätssäulen Clean-up und ELISA verwendet wurden.

Nach Auswertung der Analysendaten konnte eine hohe Richtigkeit der Ergebnisse für den künstlich DON kontaminierten Weizen ermittelt werden, während indes eine statistisch signifikante Abweichung vom Sollwert für den künstlich ZON kontaminierten Mais beobachtet wurde.

Es wurden generell hohe Variationskoeffizienten der ausreißerbereinigten Labormittelwerte von 31.6 bis 38.3 % für DON sowie von 27.7 bis 41.2 % für ZON gefunden. Dies dürfte unter anderem darauf zurückzuführen sein, daß die Kalibrierungen mit den jeweils laboreigenen Mykotoxinstandards zu erstellen waren. Der Vergleich mit Variationskoeffizienten von 15.0 bis 30.0 %, die unter Verwendung eines gemeinsamen Mykotoxinstandards in einem bereits 1996 von uns durchgeführten Laborvergleichstests ermittelt wurden, bestätigen diese Annahme.

Neue Entwicklungen in der Analytik von Zearalenon

R. Krska

Interuniversitäres Forschungsinstitut für Agrarbiotechnologie (IFA-Tulln), Abteilung Analytikzentrum, Konrad-Lorenzstraße 20, A-3430 Tulln, Österreich

Das *Fusarium* Mykotoxin Zearalenon (ZON) ist sowohl in gemäßigten als auch in warmen klimatischen Regionen ein bedeutendes Mykotoxin. In Bezug auf Nahrungs- und Futtermittel gehört ZON neben Aflatoxin B1 und M1, Desoxynivalenol und Ochratoxin A zu den wichtigsten Mykotoxinen weltweit. In Österreich wird ZON vorwiegend von Pilzen der Gattung *Fusarium graminearum* gebildet. Die hormonale Wirkung von ZON führt vor allem beim Schwein zu Hyperöstrogenismus und verursacht u.a. eine Reduktion der Spermaqualität. Aufgrund der in Österreich festgesetzten Richtlinien für die maximal zulässige Konzentration von ZON in Weizen, Durumweizen und Roggen (60 µg/kg) wird dieses Mykotoxin auch in Österreich regelmäßig analysiert.

Neben der klassischen Analysenmethode für ZON unter Anwendung einer flüssig/flüssig Extraktion kamen in den letzten Jahren vor allem Immunoaffinitätssäulen zur Probenreinigung zum Einsatz. Dabei wird die spezifische Wechselwirkung der ZON-Moleküle im Probenextrakt mit den in der Säule fixierten Antikörpern ausgenützt, was zu sehr reinen Lösungen führt, in denen ZON einfach und rasch mittels HPLC-UV/FLD bestimmt werden kann. Die Leistungsfähigkeit dieser modernen ZON-Analysenmethode gegenüber einem bereits etablierten Verfahren für die Matrix Mais wurde bereits unter Beweis gestellt. Neben verschiedenen Extraktionsverfahren unterscheiden sich die beiden verglichenen Methoden vor allem im Clean-up. Im Gegensatz zur Aufreinigung mit Immunoaffinitätssäulen aus einem Acetonitril/Phosphatpuffergemisch beinhaltet das Clean-up beim arbeitsaufwendigeren klassischen Verfahren nacheinander Extraktionen mit Chloroform, verdünnter Natronlauge und erneut mit Chloroform. Die Verweilzeit des ZON in der wäßrigen Natronlauge ist ein äußerst kritischer Schritt und bedarf einiges an Erfahrung, da der Lactonring des ZON unter alkalischen Bedingungen hydrolisiert werden kann, was zu einem Verlust an ZON führt. Die chromatographische Trennung und die Detektion erfolgen in beiden Fällen mittels RP-HPLC-FLD

In Kooperation mit dem Institut für Analytische Chemie der TU-Wien gelang auch erstmals die quantitative Spurenbestimmung von ZON in Mais mittels LC-APCI-MS. Dabei konnte auf jegliches Clean-up verzichtet werden. Durch Selected Ion Monitoring war die Detektion von ZON sogar ohne Verwendung einer analytischen HPLC-Säule - nur mit Vorsäule - möglich.

Als Alternative zu herkömmlichen ELISAs für ZON wurde am Analytikzentrum des IFA-Tulln ein Immunoassay basierend auf Antikörpern, die aus Hühnereiern gewonnen wurden, entwickelt. Im Gegensatz zur Gewinnung der Antikörper aus Kaninchen-Serum ist diese Technik tierfreundlicher und einfacher.

In einem seit November 1998 laufenden EU-Projekt (SMT4-CT98-2228) wird nun auch erstmals an der Herstellung und Zertifizierung von Referenzmaterialien für die Bestimmung von Zearalenon in Mais gearbeitet.

Diese neuen Trends in der Analytik von Zearalenon werden in diesem Vortrag aufgezeigt und eingehend diskutiert.

Bestimmung von DON in Weizen mittels eines ELISA basierend auf Antikörpern aus Hühnereidottern

Liane Schneider, H. Pichler, R. Krska und M. Grasserbauer

Interuniversitäres Forschungsinstitut für Agrarbiotechnologie (IFA) Tulln
Konrad-Lorenz-Str. 20, A-3430 Tulln

Enzymimmunoassays (ELISA) haben sich in den letzten Jahren sowohl in der Lebensmittel- als auch in der Umweltanalytik als schnelle und empfindliche Nachweismethode etabliert. Die dafür benötigten polyklonalen Antikörper werden üblicherweise aus dem Serum immunisierter Säugetiere (z.B. Kaninchen, Ziegen) gewonnen. Auch monoklonale Antikörper kommen zum Einsatz. Deren Gewinnung ist allerdings mit hohem Zeit- und Kostenaufwand verbunden. Als Alternative bietet sich die Isolierung von spezifischen Antikörpern aus den Eidottern immunisierter Hühner an. Diese tierfreundliche Methode, welche in der medizinischen Forschung bereits weite Verbreitung gefunden hat, konnte sich bisher in der Spurenanalytik weniger durchsetzen. Die positiven Erfahrungen mit dem bereits am IFA entwickelten ZON-ELISA (Wiederfindungsrate von 76-135 % über einen Konzentrationsbereich von 40 - 80 µg/kg) führten zu den Bestrebungen auch für das Mykotoxin DON einen Immunoassay auf Basis von Hühnereidotter-Antikörpern zu entwickeln. Die vorliegende Studie soll deutlich machen, daß Immunoassays basierend auf Antikörpern aus Hühnereidottern durchaus auch für die Spurenanalytik von Mykotoxinen geeignet sind und damit einen Beitrag zur stärkeren Akzeptanz und weiteren Verbreitung der Hühnereidotter als Antikörperquelle leisten.

Polyklonale Antikörper gegen das Mykotoxin DON wurden durch Immunisierung von Hühnern mit einem Protein-Hapten-Konjugat (15-DON-KLH) gewonnen. Die auf diese Weise gewonnenen Antikörper wurden in einem indirekt kompetitiven ELISA zum Nachweis von DON in 10.5% (v/v) Acetonitril in Wasser, gespiktem Weizenextrakt und natürlich kontaminiertem Weizen eingesetzt. Dazu wurden 10 g gemahlener Weizen mit 40 ml 10.5% ACN-Wasser (v/v) versetzt, anschließend 90 min bei Raumtemperatur geschüttelt und über Faltenfilter filtriert.
Die Nachweisgrenze für DON lag zwischen 0.2 und 2 µg/l, sowohl für Standardlösungen als auch für gespikten Weizenextrakt. Der untersuchte Bereich für natürlich kontaminierten Weizen erstreckte sich in Hinblick auf den derzeit in Österreich gültigen Richtwert (500 µg/kg) auf den Bereich von 200 - 525 µg DON/kg Weizen. Die Wiederfindungsraten für den natürlich kontaminierten Weizen betrugen in ersten Experimenten zwischen 80.5 und 104% bezogen auf die mittels GC-ECD ermittelten Werte.

An immunoaffinity based method for simultaneous isolation of Aflatoxin and Ochratoxin from grains and their detection by HPLC

P. Chaturvedi, T. Smith, N. Zabe and Barb Kohn

Vicam, Watertown, MA, U.S.A.

Aspergillus and Penicillium fungi produce mycotoxins found in grains (aflatoxin and ochratoxin) and beverages (ochratoxin). Aflatoxin is ranked as a group one carcinogen by the World Health Organization's International Agency for research on Cancer because of the association between diets high in aflatoxin intake and liver cancer in humans.Ochratoxin is known to cause kidney damage in animals and is also a suspect carcinogen. The European community as well as The United States have regulatory levels for aflatoxin in grains and nuts. The European community is considering regulating ochratoxin also. Current methods for the determination of aflatoxin and ochratoxin require a separate cleanup for each of them, prior to HPLC analysis. The new Aflaochra HPLC TM immunoaffinity column can be used to isolate both aflatoxin and ochratoxin concurrently, for HPLC analysis. The method involves alcoholic extraction of aflatoxin and ochratoxin, which are then isolated by the Aflaochra immunoaffinity column . Antibodies on the column can recognize aflatoxins G1, G2, B1 and B2 as well as ochratoxin A and its stereoisomer. The toxins are eluted from the column with methanol and detected by HPLC. As determined in corn and wheat, the method has a wide linear range from 0-100 ppb and a limit of detection without drying of sample of 0.25 ppb for both aflatoxin and ochratoxin. Lower detection limits are of course possible if eluate is dried. As required by the European regulations, recovery is greater than 70% over the entire assay range. This method is precise with variation of less than 10% at the 20 ppb level for both aflatoxin and ochratoxin.

Die Pulsfeld-Gelelektrophorese zur Untersuchung des Karyotyps Sekundärmetabolit-produzierender filamentöser Pilze.

Paul F. Färber

Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Institut für Biotechnologie und Molekularbiologie
Haid-und-Neu-Str. 9, D-76131 Karlsruhe

Filamentöse Pilze, die zur Biosynthese von im Lebensmittel unerwünschten Sekundärmetaboliten befähigt sind, haben sowohl bei der Herstellung als auch dem Verderb von Lebensmitteln eine große Bedeutung. Bei der Untersuchung der biochemischen und molekularbiologischen Grundlagen der Biosynthese von entsprechenden, beim Auftreten im Lebensmittel bedenklichen Sekundärmetaboliten, ist die Kenntnis des Karyotyps aus verschiedenen Gründen oft dringend erforderlich. Bedeutung haben in diesem Zusammenhang etwa taxonomische Aspekte unterhalb der Speziesebene, oder auch molekularbiologische Probleme wie etwa die Zuordnung von Genen oder Genclustern für die Biosynthese eines Sekundärmetaboliten zu einem bestimmten Chromosom. Die zur Lösung derartiger Fragestellungen erforderlichen Analysen des Karyotyps eines filamentösen Pilzes scheitern in der Regel entweder an der für die konventionelle Mikroskopie zu geringen Chromosomengröße, oder aber dem bei klassischen genetischen Verfahren, wie der Koppelungsanalyse, enormen Aufwand und Schwierigkeiten. Einen Ausweg bietet hier die Pulsfeld-Gelelektrophorese. Dieses Elektrophoreseverfahren ermöglicht die Auftrennung von DNA-Fragmenten im alternierenden elektrischen Feld bis in den Bereich von 10^6 Basenpaaren, mithin dem Bereich intakter chromosomaler DNA filamentöser Pilze. Voraussetzung ist allerdings das Vorhandensein von DNA-Präparationstechniken, die die Herstellung intakter Pilzchromosomen ermöglichen. Die Auswertung der Pulsfeld-Gelelektrophoresegele zur Bestimmung des Karyotyps, d.h. die Bestimmung der Anzahl und Größe der elektrophoretischen Koppelungsgruppen, erfolgt nach Digitalisierung der Gele mit Hilfe entsprechender Algorithmen zur Berechnung der Chromosomengrößen. Durch Kombination dieses Elektrophoreseverfahrens mit weiteren molekularbiologischen Verfahren, etwa Blot- und Hybridisierungstechniken, lassen sich Gene, Gencluster oder Clustergruppen für die Biosynthese von Sekundärmetaboliten filamentöser Pilze einem oder auch verschiedenen Chromosomen zuordnen. Durch Anwendung und Kombination derartiger Verfahren war es möglich, den Strukturgencluster für die Penizillinbiosynthese in *Penicillium nalgiovense*, einem filamentösen Pilz, der als Starterkultur zur Herstellung Schimmelpilz-gereifter Lebensmittel eingesetzt wird, einem bestimmten Chromosom, dem Chromosom IV zuzuordnen. Darüberhinaus ergab die vergleichende Untersuchung von *Penicillium chrysogenum*, als dessen Albinoform *P. nalgiovense* beschrieben wurde, einen hinsichtlich der Genom- und Chromosomengröße, sowie der Zuordnung des Penicillin-Strukturgenclusters völlig abweichenden Karyotyp.

THREE DIFFERENT TEST FORMATS TO HELP ENFORCE MYCOTOXIN LEGISLATION

Simon Bevis

Rhone – diagnostics technologies limited, West of Scotland Science Park, Unit 3.06 Kelvin Campus, Maryhill Road, Glasgow G20 0SP, UK

Mycotoxin legislation in Europe is on the increase; one reason for this is the quality research into the subject that is continuing to take place. When this reaches the public domain the interests of consumer, media and government can be stimulated. Legislation can be the end result.

There are some clear trends in existing legislation and proposals for the future. 1) Levels deemed "acceptable" are becoming lower. 2) Greater precision is required of analytical methods. 3) A greater number of commodities are being included in new legislation. 4) Toxins other than Aflatoxins are being discussed with a view to setting legislation.

This legislative climate can have an impact on organisations involved with food processing and control; whether they be near to or far from the producer. Many labs do not have access to HPLC or cannot always free up their equipment because it is used for other analyses.

By altering the format of the test (i.e.) the surface on which the monoclonal antibody is bound and the detection method used, RDT can offer accurate diagnostic tests to help the analyst comply with legislation irrespective of the facilities at his disposal. For example:-

1) Ochrascan

Although no EC wide legislation yet exists for Ochratoxin A, discussions are taking place regarding future limits in a number of matrices. Cereals (5ppb), Green coffee (6-8ppb), dried vine fruits (5ppb) and spices (10ppb) are some of the commodities being considered.

Ochrascan is a test based on an immunoaffinity column where a monoclonal antibody is bound to sepharose beads. No expensive equipment is needed but which toxin levels much lower than those mentioned can be detected. After blending, the sample is filtered and passed through the immunoaffinity column, which is washed and the toxin eluted. The eluate is mixed with chloroform and PBS and the chloroform layer, containing the OTA passed through a florisil tip. OTA is retained on the tip and when viewed under a suitable UV light, fluoresces. The fluorescence is compared to that of a non toxic standard and an accurate semi quantitative measurement of OTA concentration can be made. Application notes for Ochrascan are available for all the commodities mentioned.

2) Aflaplate

Given the importance of Aflatoxin B1 in the EC legislation for food and feed, RDT have launched an Aflatoxin B1 ELISA designed to meet the legislation. In this case the monoclonal antibodies are bound to the wells of a microtitre plate. After competition between conjugate and toxin contained in the sample a substrate is added that causes a blue colour to appear inversely proportional to the concentration of toxin in the sample. This colour is read using an inexpensive strip reader. 42 samples can be tested at once and the procedure takes 45 minutes. CV values are low, meaning that no duplication of tests is necessary. Samples containing up to 50ppb B1 can be analysed without time consuming and expensive dilution and retesting.

3) Aflacard 2ppb

Is an Aflatoxin B1 test; the monoclonal antibody is bound to the surface of a membrane on a card the size of a credit. After a two minute preparation the sample is applied to the card

and sequential additions of conjugate and substrate are made. After 5 minutes incubating the results from the card can be read by eye. 2 spots indicates a negative sample (<2ppb B1), 1 spot indicates a positive sample (>2ppb B1). Aflacard 2ppb allows all labs to make a rapid qualitative screen at very low levels of B1 without expensive equipment.

In summary, the RDT kits presented allow the analyst to choose a format appropriate to the requirements of the company, the legislation and the equipment available.

Einfluß von Ochratoxin A, Fumonisin, T-2-Toxin und DON auf die Abwehr des Schweines

P. Kielstein, G. Müller, H. Rosner, Heike Köhler, Angela Berndt und M. Heller

Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
Bereich 4, Naumburger Str. 96a, 07743 Jena

Mögliche Einflüsse von Mykotoxinen auf das gehäufte Auftreten bzw. auf den Verlauf infektiöser Faktorenkrankheiten des Schweines sowie immunsuppressive Wirkungen bei Schweinen beschränken sich auf die in Mitteleuropa klimaabhängig vorkommenden Toxine, wie das Ochratoxin A und die Fusariumtoxine T-2, DON und Fumonisin. In Versuchen an Labortieren erzielte Ergebnisse wiesen auf solche immuno- und genotoxischen sowie auf Schrittmacherfunktionen für Infektionen durch diese Mykotoxine hin. Experimentelle Überprüfungen dieser Hypothese an Schweinen wurden nur in begrenzter Anzahl und sodann mit nicht praxisrelevanten Dosierungen durchgeführt.
Wir prüften deshalb den Einfluß von Ochratoxin A sowie die gleichzeitige Verabreichung von Ochratoxin A, Fumonisin, T-2-Toxin und DON auf Immunvorgänge und Infektionsverläufe des Schweines unter Verwendung von Dosierungen, die der Praxis angepaßt waren.
Das Mykotoxin Ochratoxin A als Rohtoxin verabreicht wirkte an Läuferschweinen dosisabhängig immunmodulierend. Neben einer Erhöhung der Gesamtleukozytenzahl im Blut wurden niedrigere Lymphozyten- und erhöhte Neutrophilenwerte beobachtet. Es fiel besonders die Erhöhung der relativen Zahlen an eosinophilen Zellen und die Zunahme apoptotischer Phagozyten auf. Funktionell dominierten die verstärkte Produktion von Sauerstoffradikalen im Vollblut, geringere Phagozytoseleistungen (nur bei 50 µg-OTA-Dosis) und die erniedrigte Expression eines Oberflächenmarkers auf Lymphozyten. Lungenclearance und der Schweregrad, insbesondere durch Pasteurellen experimentell induzierter Pneumonien, sowie die kutane Hypersensibilisierung konnten durch Ochratoxin A nur teilweise beeinflußt werden. Diese Veränderungen waren offensichtlich nich allein auf die OTA-Wirkung zurückzuführen.
Eine kombinierte Verabreichung von OTA mit Fumonisin, DON und T2-Toxin in täglichen Mengen, wie sie in Futtermitteln mitteleuropäischer Herkunft zu erwarten sind, erzeugte nur diejenigen Veränderungen wie ein OTA-Rohtoxin bei alleiniger Verabreichung. Teilweise wurden einige durch OTA-Rohtoxin bedingte immunmodulatorische Veränderungen durch verschiedene Mykotoxinkombinationen kompensiert oder in die entgegengesetzte Richtung ausgerichtet. Synergistische Verstärkungen der immunmodulatorischen Veränderungen waren durch die gleichzeitige Aufnahme dieser 3 Mykotoxine in niedrigen Konzentrationen nicht eingetreten.
Unter Praxisbedingungen in Mitteleuropa ist mit infektionsbegünstigenden Veränderungen bei Schweinen durch diese vier Mykotoxine nur selten zu rechnen.

Einfluss der Mikroorganismen im Pansensaft auf die Umsetzungsgeschwindigkeit von Ochratoxin A.

H. Özpinar, C. Kutay, T. Bilal, G. Yildiz, I. Abas und H. Eseceli

Universität Istanbul, Veterinärmedizinische Fakultät, Institut für Tierernährung und ernährungsbedingte Krankheiten, 34850 Avcilar-Istanbul, Türkei

Das Mykotoxin Ochratoxin A kommt vor allem in Getreide und Futtermitteln vor.
Aus in vitro-Versuchen ist bekannt, daß Ochratoxin A im Pansen von Wiederkäuern zu Ochratoxin α abgebaut wird. Dafür werden die im Pansen vorhanden Mikroorganismen verantwortlich gemacht. Untersuchungen zeigten, daß die Abbaurate von Ochratoxin A mit dem steigenden Anteil an verdaulichen Nährstoffen korreliert.
Das Ziel dieser Arbeit war es, die Aktivität der Mikroorganismen, die beim Abbau von Ochratoxin A im Pansen beteiligt sind, zu untersuchen.
Nach Zentrifugation von Pansensaft wurde die Bakterienfraktion im Überstand bzw. die Protozoenfraktion im Sediment gewonnen und mit jeweils 200 µg Ochratoxin A/l für eine Dauer von 48 Stunden inkubiert. Durch Zusatz von Stärke und Zellulose wurde deren Wirkung als energieliefernde Substrate untersucht. Die Anzahl der Protozoen sowie die Konzentrationen von Ochratoxin A und Ochratoxin α wurden im zeitlichen Abstand bestimmt, wobei der Nachweis von Ochratoxin A bzw. Ochratoxin α mittels HPLC/Fluoreszenzdetektion erfolgte.
In der Bakterienfraktion veränderten sich während des Versuchsverlaufes weder die Konzentrationen an Ochratoxin A noch die von Ochratoxin α. In der Protozoen-Fraktion dagegen nahmen sowohl bei Zusatz von Stärke als auch von Zellulose die Ochratoxin-A-Konzentration ab und die Ochratoxin-α-Konzentration zu. Ein schnellerer Umsatz und eine wesentlich höhere Protozoen-Anzahl wurden bei Zusatz von Stärke erzielt.
Aus den Ergebnissen wird geschlußfolgert, daß die Protozoen für die Umsetzung von Ochratoxin A im Pansensaft verantwortlich sind und dieser durch den Zusatz energieliefernder Substrate beeinflußt wird.

Biotransformation and lack of mutagenicity of ochratoxin A using combinations of mammalian biotransformation enzymes

H. Zepnick, A. Pähler, U. Schauer and W. Dekant

Department of Toxicology, University of Würzburg, Versbacher Str. 9, 97078 Würzburg, Germany

The genotoxicity of ochratoxin A (OTA) was studied in many *in vitro* systems, mostly negative or inconclusive results were obtained. However, in recent studies, a mutagenic response was observed in mammalian cells transfected with certain human cytochrome P450 enzymes. Moreover, an involvement of glutathione in this mutagenic response is indicated by a reduced mutagenicity after glutathione depletion. Ochratoxin A was incubated with cytochrome P450 containing protein fractions for varying times. Formation of metabolites was assessed by HPLC with UV- and fluorescence detection. Enzymatic activity of specific P450 enzymes in the fractions was determined using established marker substrates. For some incubations, subcellular fractions with glutathione S-transferase activity and glutathione were added to the incubations. Using rat liver cytochromes P450 biotransformation of OTA metabolites was observed by cytochrome P450 1A1/2 and 3A2. Cytochrome P450 3A2 likely results in hydroxylation of the coumarin ring, P450 1A1/2 forms a OTA metabolite in low yields which has not been characterized yet. Addition of subcellular fractions with glutathione S-transferase activity and glutathione did not modify the products formed based on HPLC retention and UV- or fluorescence spectra. Incubations with genetically expressed human P450 3A4 and 1A1/2 and OTA did not result in product formation despite a high activity of the prepartion with established marker substrates. OTA mutagenicity was studied in the presence of human cytochromes P450 and purified glutathione S-transferases. No mutagenic response was observed. The experimental results obtained to date indicate that OTA is a poor substrate for cytochromes P450s and glutathione dependent biotransformation reactions are unlikely to occure due to the lack of formation of electrophilic intermediates. Based on this results, formation of DNA-binding of intermediates in OTA metabolism seems unlikely.

Ochratoxin A induces proliferation of immortalized human kidney epithelial cells at low nanomolar concentrations by interference with cellular Ca^{2+}-homeostasis.

A. Benesic, St. Eder, Chr. Sauvant, G. Schwerdt and M. Gekle

Department of Physiology, University of Würzburg, Germany

Background: The ubiquitous nephrotoxic and carcinogenic fungal metabolite ochratoxin A (OTA) interacts with renal cell function and growth in the low nanomolar concentration range. At higher nanomolar concentrations OTA also reduces cell integrity. Because changes in cellular Ca^{2+}-homeostasis represent a possible mechanism of action for several toxins we assessed the role of Ca^{2+}-homeostasis in OTA toxicity.

Methods: We used immortalized human kidney epithelial cells in order to investigate the effects of OTA at nanomolar concentrations on cytosolic calcium homeostasis ($[Ca^{2+}]_i$), cell growth and cell integrity.

Results: Within seconds OTA evoked reversible and concentration-dependent $[Ca^{2+}]_i$ oscillations with a threshold concentration of 0.1 nM. The oscillations were triggered by OTA-induced Ca^{2+}-entry and completely abolished by removal of extracellular Ca^{2+} and by the Ca^{2+}-channel blocker SK&F 96365. Inhibition of phospholipase C prevented the oscillations. Activation of Ca^{2+}-influx was still present after store depletion with thapsigargin, which blunted the oscillations. The toxin increased the filling state of thapsigargin-sensitive Ca^{2+}-stores and stimulated the thapsigargin-sensitive Ca^{2+}-ATPase activity.

1 nM OTA potentiated the effects of angiotensin II, noradrenaline and EGF on $[Ca^{2+}]_i$. Furthermore, EGF- and Ang II-induced cell proliferation was potentiated by 1 nM OTA in a Ca^{2+}-dependent way.

A decrease in cell integrity (determined by LDH-realease) and cell number could be observed only after 24 h with threshold concentrations > 10 nmol/l. This effect could not be prevented by Ca^{2+}-chelators and thus, seems to be independent of changes in cellular Ca^{2+}-homeostasis.

Conclusion: We conclude that (i) OTA impairs Ca^{2+}-homeostasis in human renal epithelial cells in a reversible manner at low nanomolar concentrations, which occur during dietary exposure. (ii) OTA causes dose-dependent $[Ca^{2+}]_i$ oscillations which are (iii) dependent on OTA-induced Ca^{2+}-influx and thapsigargin-sensitive Ca^{2+}-stores. (iv) Furthermore, OTA interferes with hormonal Ca^{2+} signaling leading, for example, to altered cell proliferation. (v) By contrast, reduction of cell integrity at higher concentrations does not depend on changes of Ca^{2+}-homeostasis. (vi) OTA-induced changes in renal function at low nanomolar concentrations seem to be, at least in part, the result of disturbed signaling mechanisms and not of cell destruction. Thus, at toxicological relevant concentrations OTA does not act as a "classical" toxin but as a modulator of function.

Address of correspondence:
PD Dr. med. Michael Gekle
Physiologisches Institut der Universität Würzburg
Röntgenring 9
D-97070 Würzburg, Germany
Telephone: +49 931 312739
Telefax: +49 931 312741
E-mail: michael.gekle@mail.uni-wuerzburg.de

Belastung des Verbrauchers und der Lebensmittel mit Ochratoxin A

J. Wolff[1], H.Bresch[2], Constanze Cholmakow-Bodechtel[7] , G. Engel[3], M. Gareis[4], P. Majerus[5], H. Rosner[6] und R. Scheuer[4]

[1] Bundesanstalt für Getreide-, Kartoffel- und Fettforschung, Institut für Biochemie von Getreide und Kartoffeln, 32756 Detmold, Schützenberg 12
[2] Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Institut für Hygiene und Toxikologie; 76131 Karlsruhe; Engesserstr. 20
[3] Bundesanstalt für Milchforschung, Institut für Mikrobiologie; 24103 Kiel; Hermann-Weigmann-Str. 1
[4] Bundesanstalt für Fleischforschung, Institut für Mikrobiologie und Toxikologie; 95326 Kulmbach; E.-C.-Baumann-Straße 20
[5] Chemisches Untersuchungsamt, 54295 Trier; Maximineracht 11 a
[6] Bundesinstitut für gesundheitl. Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, FB4; 07743 Jena; Naumburgerstr. 96 a
[7] I+G Gesundheitsforschung, 80687 München; Landsberger Str. 338

Zur Klärung des Zusammenhangs zwischen dem Vorkommen von Ochratoxin A (OTA) in Lebensmitteln, der Belastung des Verbrauchers und besonderer Verbrauchergruppen in Abhängigkeit von den Verzehrsgewohnheiten, wurden die Ochratoxin-A-Gehalte in potentiell belasteten Lebensmitteln und in Blutseren ausgewählter Probanden ermittelt. Parallel zu der analytischen Erfassung der OTA-Gehalte in Lebensmitteln wurden durch repräsentative Erhebungen die Ernährungsgewohnheiten der bundesdeutschen Bevölkerung ermittelt und damit eine mögliche tägliche OTA-Aufnahme errechnet. Die Bewertung der Ochratoxin-A-Gehalte in den Blutseren in Verbindung mit den Ernährungsgewohnheiten auf der Basis einer retrospektiven Befragung über die letzten 4 Wochen vor der Blutabnahme erfolgte durch einen spezifischen Fragebogen.

Für diese Studie, an der Wissenschaftler aus 7 Einrichtungen beteiligt waren, wurden unter fachspezifischen Gesichtspunkten Instrumente entwickelt, die gleiche Kriterien für alle Teilnehmer festlegten und die ein Zusammenführen der Labordaten mit den Daten der Erhebungen ermöglichten:

- Warenkatalog der zu analysierenden und in den Verzehrsprotokollen abzufragenden Lebensmitteln
- Datenbank für alle Labor- und Begleitdaten
- Verzehrsprotokolle und Berechnungsfaktoren
- Fragebögen zur Ermittlung der Ernährungsgewohnheiten der Testpersonen
- Vergleichstest der lebensmitteluntersuchenden Labore
- Laborvergleichstest für die Blutanalyse

In den folgenden Beiträgen wird über die Ergebnisse aller Untersuchungen (n = 6476 Muster Lebensmittel) aus den Jahren 1995 – 1998 nach Produktgruppen, der damit errechneten Belastung des Verbrauchers durch Lebensmittel, die in Blutseren gefundenen OTA-Gehalte bei bekanntem Verzehr der analysierten Lebensmittel und die Auslastung der PTDI-Werte berichtet.

Die Studie wurde vom Bundesministerium für Gesundheit gefördert

Ochratoxin-A: Repräsentative Verzehrserhebung und epidemiologische Analyse

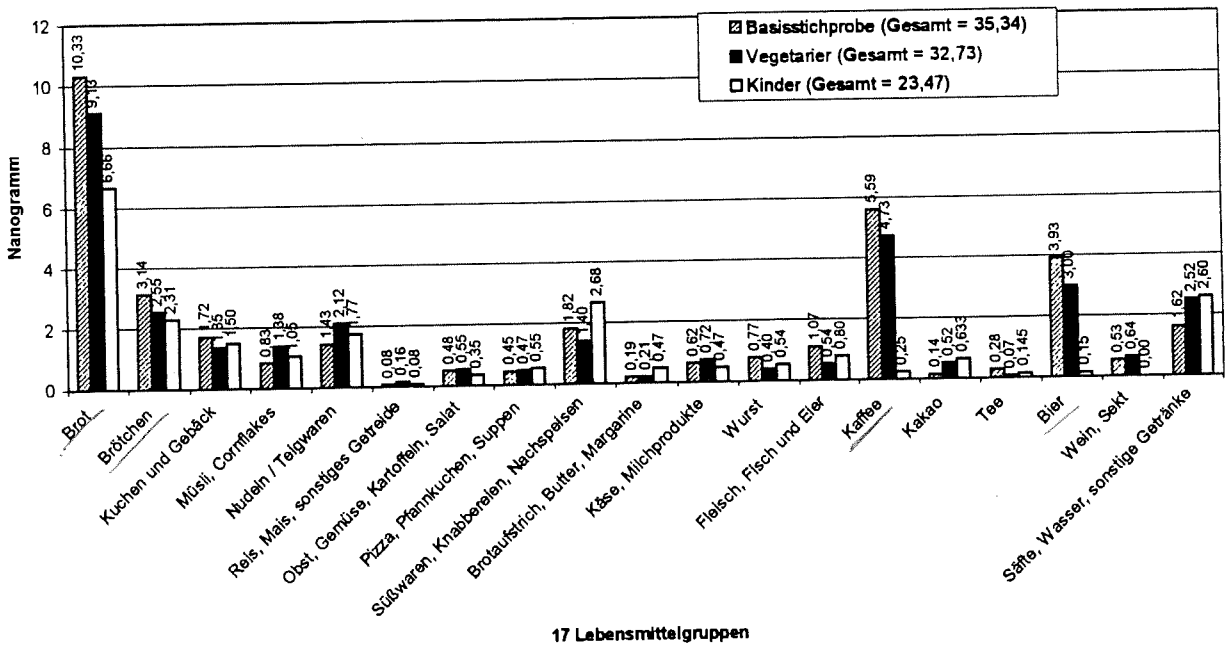
C. Bodechtel[1], J. Wolff[2], M. Gareis[3], G. Engel[4], H. Rosner[5], P. Majerus[6], H. Bresch[7]

Die vorliegende Untersuchung ist ein Teilprojekt innerhalb eines vom Bundesministerium für Gesundheit beauftragten und in Zusammenarbeit mit den unten genannten Instituten durchgeführten Forschungsvorhabens. Ziel der Verbundstudie ist die Ermittlung der Belastung der Lebensmittel und der Verbraucher mit Ochratoxin A.

Um die Belastung der Bevölkerung mit Ochratoxin-A abzuschätzen, befragte I+G Gesundheitsforschung in einer bevölkerungsrepräsentativen Erhebung in 6 Erhebungswellen 2005 Erwachsene (und 574 Kinder zu ihren Ernährungsgewohnheiten. Hierzu wurde der Verzehr potentiell OTA-haltiger Lebensmittel prospektiv über drei Tage erhoben (**3 TP**). Darüber hinaus wurde der retrospektive Verzehr in den vergangen vier Wochen (**4 WR**) zur Erfassung der üblichen Ernährungsgewohnheiten dokumentiert. Die Verzehrsangaben wurden über verschiedene Datenbanksysteme mit den chemischen OTA-Analysewerte aus über 6000 Einzelproben, die von den genannten Bundesforschungsanstalten erhoben wurden, verknüpft.

Für die Abschätzung der Ochratoxin-A-Aufnahme wurden die Verzehrsmengen mit den unterschiedlichen Portionsgrößenangaben (mittlere, niedrigste und höchste) der einzelnen Lebensmittel und verschiedenen Kenndaten der Verteilung der chemischen Analysewerte verknüpft. Dadurch ergaben sich verschiedene Berechnungsmodelle, die eine realistische Abschätzung der Gesamt-OTA-Aufnahme, der OTA-Aufnahme pro kg Körpergewicht, der OTA-Aufnahme bei verschiedenen Zielgruppen und der OTA-Aufnahme aus Lebensmittelgruppen ermöglichen. Die Abbildung zeigt die OTA-Aufnahme für verschiedene Zielgruppen und die Lebensmittelquellen. Das *mean-case* Modell (mittlere Portionsgröße * 50. Percentile) dürfte der tatsächlichen durchschnittlichen Belastungssituation am ehesten gerecht werden.

3TP: OTA-Aufnahme in ng je Tag, MPP, 50. Perzentile (Mean Case)



1. I+G Gesundheitsforschung, Landsberger Straße 338, 80687 München
3. Bundesanstalt für Fleischforschung Kulmbach
4. Bundesanstalt für Milchforschung Kiel
5. Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin Jena
6. Chemisches Untersuchungsamt Trier
7. Bundesforschungsanstalt für Ernährung Karlsruhe

Ochratoxin A in Getreide und Getreideprodukten

J. Wolff

Bundesanstalt für Getreide-, Kartoffel- und Fettforschung, Institut für Biochemie von Getreide und Kartoffeln, 32756 Detmold, Schützenberg 12

Im Rahmen des Forschungsvorhabens "Belastung des Verbrauchers und der Lebensmittel mit Ochratoxin A"1 wurden Getreide, Mehle, Brote und Brötchen, Teigwaren, Reis, Hülsenfrüchte und andere Nährmittel auf OTA untersucht. Dazu wurden viermal im Jahr in den Regionen Kiel, Karlsruhe, Kulmbach, Trier, Jena, Berlin und Detmold die Produkte im örtlichen Einzelhandel gekauft.
Bei Getreide handelte es sich immer um Speisegetreide, das einer sogenannten Weißreinigung unterzogen wurde. Hierbei kamen keine OTA-Gehalte über 0,8 µg/kg vor, beim Mais aber bis zu 3,3 µg/kg. Im Speisegetreide – Ganzkorn – war Ochratoxin A in 59,7 % der Muster (n = 196) mit Medianen von 0,01 – 0,1 µg/kg nachweisbar. Bei diesen sehr geringen Konzentrationen konnten die ermittelten Gehalte nur in wenigen Fällen durch einen Identitätsnachweis bestätigt werden.

In Getreide- und Buchweizenmehlen war OTA in 85,6 % von n = 374 Mustern mit Medianen von 0,09 – 0,11 µg/kg nachweisbar. In den gegenüber den Weizenmehlen generell höheren Aschegehalten der Roggenmehle, in die durch den Kornaufbau bedingt höhere Anteile der Kornrandschichten gelangen, sind in der Regel auch höhere OTA-Gehalte nachzuweisen. Weizenmehle der Typen > 550 und Roggenmehle der Typen > 997 wiesen höhere OTA-Gehalte auf als die jeweils ascheärmeren Mehle. Die OTA-Gehalte in den Buchweizenmehlen lagen deutlich über den Werten der anderen Mehle.

In Broten und Brötchen war insgesamt OTA in 90,4 % von n = 986 Mustern mit Medianen von 0,04 – 0,14 µg/kg nachweisbar. Roggenprodukte wiesen eine höhere Anzahl an Proben über der Nachweisgrenze auf als Weizenprodukte, die relativ hohen Maximalgehalte bei einem Roggenvollkornbrot-Muster und bei einem Mehrkorn/Müslibrötchen-Muster sind auf Grund der niedrigen Median- und Mittelwerte, sowie der 90. Perzentiele als Ausreißer anzusehen.

In Teigwaren ohne Ei war OTA häufiger und in etwas höheren Konzentrationen nachweisbar als in Teigwaren mit Ei. In Vollkornteigwaren wurde OTA in 37% der Muster bei einem relativ niedrigen Median mit 0,1 µg/kg aber einem hohen 90. Perzentilwert von 2,32 µg/kg bestimmt.

In verschiedenen Nährmitteln, einschließlich Kindernährmitteln, war OTA in 36 % der Muster (n = 476) mit Medianen von 0,02 – 0,10 µg/kg nachweisbar. Besonders auffällig sind hier die nachweisbaren Gehalte bei Kindernährmitteln (max. 2,13 µg/kg) und die Häufigkeit, mit der OTA nachweisbar war und zwar in 68 % von 97 Mustern. Die höchsten Gehalte wurden in milchfreier Flaschennahrung – einem Sojaprodukt – ermittelt.

In Reis wurden bei einer Nachweisgrenze von 0,1 µg/kg lediglich im Naturreis (2101) in 18,2 % bei n = 22 Mustern nachweisbare OTA-Gehalte gefunden, nicht dagegen in Parboiled-, Lang- und Rundkornreis.

Bei einer Nachweisgrenze von 0,01 µg/kg OTA im Produkt wurde insgesamt in 68,6 % aller Muster (n = 2.347) OTA nachgewiesen. OTA-Gehalte über 3 µg/kg Lebensmittel wurden bei diesen Produktgruppen in 1,4 % (n = 33), über 5 µg/kg in ~~XX~~ 0,8 % (n=~~XX~~ 15) der Muster festgestellt. Eine generelle jahreszeitliche Abhängigkeit der OTA-Gehalte in Speisegetreide, Mehlen und Broten konnte über den Zeitraum von fast drei Jahren nicht ermittelt werden. Ebenso waren keine signifikanten regionalen Unterschiede erkennbar.

0,8% (15 Muster)

Vorkommen von OTA in Milchprodukten, Süßwaren und Ölsaaten

G. Engel[1] und J. Wolff[2]

[1] Institut f. Mikrobiologie der Bundesanstalt für Milchforschung, Hermann-Weigmann Str.1, 24103 Kiel,
[2] Bundesanstalt für Getreide-,Kartoffel- und Fettforschung, Schützenberg 12, 32756 Detmold

Die Extraktion von Ochratoxin A erfolgte in modifizierter Form nach der in § 35 LMBG beschriebenen Methode „Nachweis und Bestimmung von OTA in Getreide und Getreideprodukten", wobei je nach Konsistenz der Probe 20 – 100 g eingesetzt wurde. Bei pulvrigen Proben wurden 20 g mit 100 g dest. Wasser versetzt, feste Lebensmittel entweder nach dem Einfrieren mit einer Moulinette oder wie z.B. Trockenfrüchte in dest. Wasser suspendiert, mit einem Ultraturrax zerkleinert und anschließend mit Wasser so aufgefüllt, daß in 100 g Suspension 20 g Probe enthalten waren. Die insgesamt aufgearbeitete Probemenge entsprach einer käuflich zu erwerbenden Portion. Ausnahmen waren Rosinen, Korinthen und Weinbeeren, weil hier eine inhomogene Verteilung von OTA beobachtet wurde, so daß teilweise 3 kg einer Charge homogenisiert und davon eine 20 g entsprechenden Probemenge weiter behandelt wurde. Bei Milch- und Milchprodukten wurde zusätzlich nach dem Ansäuern auf pH 2 0,4 g Pepsin aus Schweinemagen (60 U/g) zugegeben und 4 - 16 h bei 37 °C inkubiert, was insbesondere bei Käse die Wiederfindungsraten günstig beeinflußte. Bei fettreichen Lebensmittel wirkte sich ein Entfetten mit n-Hexan positiv auf den OTA Nachweis aus. Die Nachweisgrenzen lagen für Milch und fertige Kakaoprodukte bei 0,005 ng/g, für die übrigen Lebensmittel bei 0,01 bzw. 0,1 ng/g.
Es wurde festgestellt, daß 90 % aller untersuchten Proben wie Lebensmittel mit Kakaobestandteilen einschließlich Schokolade, Snacks (Riegel, Müsli, Cornflakes und andere Frühstückscerealien), Knabbergebäck, Nüsse, Trockenfrüchte außer Sultaninen und Korinthen, Brotaufstriche, Puddings, Cremes, Öle und Ölsaaten sowie Milchprodukte mit Zusätzen (Gewürze) weniger als 0,5 µg/kg OTA enthielten, wobei in vielen Lebensmittel einschl. Milch und Milchprodukten ohne Zusätze kein OTA gefunden werden konnte. Sämtliche untersuchten Kakaoproben enthielten OTA, wobei der Medianwert bei 0,59 und die 90. Percentile bei 0,93 µg/kg lagen. Lediglich Rosinen und Korinthen wiesen insgesamt höhere Konzentrationen auf. 101 dieser 106 analysierten Proben enthielten nachweisbare Mengen an OTA, wobei die maximale Konzentration bei 21,4, die 90. Percentile bei 3,33 und der Medianwert bei 0,33 µg/kg lagen. Einzelne hohe OTA-Konzentrationen wurden in Müsli mit 31,8, in Keksen, Riegel mit Nuß sowie Trockenfeigen mit ca. 4 µg/kg gefunden. Unter Berücksichtigung der Eßgewohnheiten kann jedoch gefolgert werden, daß von den untersuchten Lebensmitteln für den Menschen kein Gefährdungspotential durch OTA ausgehen dürfte.

(Bestandteil der vom Bundesministerium für Gesundheit geförderten Studie „Belastung des Verbrauchers und der Lebensmittel mit Ochratoxin A".)

Ochratoxin A in Getränken:
Status in der Bundesrepublik Deutschland 1996 – 1998

Horst Bresch

Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Institut für Hygiene und Toxikologie
Haid-und-Neu-Straße 9, 76131 Karlsruhe

Im Rahmen des vom Bundesministerium für Gesundheit geförderten Forschungsprogrammes "Belastung des Verbrauchers und der Lebensmittel mit Ochratoxin A" wurde der Gehalt des Toxins in Kaffee-, Bier-, Saft-, Tee- und Essigproben untersucht. Die Proben stammten sowohl aus lokalen als auch aus Lebensmittelgeschäften im Umfeld der weiteren sich am Forschungsvorhaben beteiligenden Kollegen. Somit wurde die gesamte Bundesrepublik in den Jahren 1996 – 1998 beprobt. Bezüglich des Kaffees wurden vakuumverpackte Röstkaffeesorten, koffeinhaltig und koffeinfrei in Pulverform und lösliche Instantkaffeeproben analysiert. Unter den Röstkaffees erwies sich etwa die Hälfte als toxinhaltig (Nachweisgrenze 0,3 µg Toxin/kg Ware), bei den löslichen Kaffeesorten enthielten ca 90% der Proben das Toxin, wobei hier auch der Toxingehalt im Mittel höher lag als bei den Röstkaffees. Insgesamt ergab die Untersuchung ein ähnliches Belastungsmuster wie es innerhalb der letzten 5 Jahre mehrfach publiziert wurde. – Über 70% der Bierproben der am meisten konsumierten Sorten Pils und Export enthielten Ochratoxin A (Nachweisgrenze 0,01 µg/l), die alkoholfreien Biere waren in geringerem Maße kontaminiert. – Apfel-, Orangen- und Gemüsesäfte waren frei von Ochratoxin (Nachweisgrenze 0,01 µg/l), unter 30 Tomatensaftproben erwiesen sich 2 als leicht kontaminiert. Unter den Proben des roten Traubensaftes enthielten über 80% das Toxin, mitunter in nicht kleinen Mengen. – In den Schwarz- und Früchteteeproben ließ sich kein Toxin nachweisen, unter den untersuchten 30 Kräuterteeproben enthielten 3 Ochratoxin A. – Während sich die Obstessige als toxinfrei erwiesen, war es in einigen Weinessigproben, insbesondere der Sorte Balsamiko, vorhanden.

(Bestandteil der vom Bundesministerium für Gesundheit geförderten Studie „Belastung des Verbrauchers und der Lebensmittel mit Ochratoxin A".)

Ochratoxin A in Wein, Saft und Würzmitteln

P. Majerus

Chemisches Untersuchungsamt Trier, Maximineracht 11a, 54295 Trier

Innerhalb des Projekts wurden 281 Weine und Sekte aus 22 verschiedenen Anbauländern, wobei Weine aus der EU mit 105 Proben den Hauptanteil bildeten, bei Erzeugern, Kellereien, Importeuren (Auslandswein) und Sektkellereien (ausländische Grundweine) entnommen. Bei 40 % der untersuchten Proben wurden Ochratoxin A - Gehalte über der Nachweisgrenze von 0,01 µg/l festgestellt, wobei das 90 % Percentil mit 0,4 µg/l im Vergleich zu anderen kontaminierten Lebensmitteln niedrig lag. Innerhalb des untersuchten Probenkontingents traten bei Rosé- und Rotweinen Kontaminationsraten von 35 und 46 % auf, die deutlich über denen der Weißweine mit nur 24 % lagen. Außerdem zeigten Weine aus südlichen Anbauregionen höhere Kontaminationsraten. Die Ursache dürfte in der unterschiedlichen Herstellung der Weinarten liegen. Während Weißwein nach der Ernte sofort gepreßt wird, bleibt der Saft der Trauben zur Rotweingewinnung vor dem Pressen längere Zeit zur Farbgebung unter erhöhten Temperaturen in Kontakt mit den Beerenschalen.

Bei 91 untersuchten Traubensäften waren die Kontaminationsrate mit 85 % und das 90 % Percentil mit 2,3 µg/l gegenüber Wein deutlich höher. Rote Säfte enthielten mehr Ochratoxin A. Auch hier dürfte der zur Farbbildung erforderliche Verarbeitungsschritt, bei dem Saft und Schalen unter Enzymbehandlung und erhöhter Temperatur längere Zeit in Kontakt sind, als Ursache anzusehen sein. Neben Traubensaft, der im Pro-Kopf-Verbrauch eine eher untergeordnete Rolle spielt, wurden die in der Konsumstatistik führenden Apfelsaft und Orangensaft untersucht, sowie der Vollständigkeit halber noch Gemüsesäfte und schwarzer Johannisbeersaft. Während Apfel- und Orangensaft keine Ochratoxin A - Gehalte aufwiesen, war die Kontaminationsrate bei schwarzem Johannisbeernektar mit 16 % den übrigen Säften gegenüber deutlich. Genauso wie bei Tomaten- und Karottensaft lagen die festgestellten Gehalte jedoch nur kaum über der Nachweisgrenze.

Unter Würzmitteln versteht man u.a. Würzsaucen, Speisewürzen, Säuerungsmittel und Speisesenf. Mit 32 % war eine verhältnismäßig hohe Belastungsquote bei Ketchup bzw. Ketchup mit Gewürzen zu verzeichnen. Aufgrund der festgestellten Ochratoxin A - Gehalte in Wein und Traubensaft waren auch erhöhte Werte im Wein- und Balsamessig zu erwarten. Mit einer Kontaminationsrate von 83 % bei einem 90 % Percentil von 3,1 µg/l hebt sich die Belastung des Balsamessigs deutlich gegenüber allen anderen Lebensmitteln ab.

(Bestandteil der vom Bundesministerium für Gesundheit geförderten Studie „Belastung des Verbrauchers und der Lebensmittel mit Ochratoxin A".)

Ochratoxin A in Fleisch und Fleischerzeugnissen

M. Gareis und R.Scheuer

Institut für Mikrobiologie und Toxikologie, Bundesanstalt für Fleischforschung
E.-C. Baumannstraße 20, 95326 Kulmbach

Die Untersuchungen zum Vorkommen von Ochratoxin A in Fleisch und Fleischerzeugnissen sind Teil des Forschungsprojektes „Belastung der Verbraucher und der Lebensmittel mit Ochratoxin A", das vom Bundesministerium für Gesundheit gefördert und mittlerweile abgeschlossen wurde.*

Insgesamt wurden 620 Proben Fleisch und Fleischerzeugnisse aus verschiedenen Regionen der Bundesrepublik Deutschland untersucht. Für die analytische Bestimmung von OTA wurden die Probenextrakte über Immunoaffinitätssäulen gereinigt und die Eluate über HPLC aufgetrennt.

In Geflügelfleisch (n=41) wurde OTA nicht detektiert. In 58 untersuchten Rindfleischproben konnte Ochratoxin A lediglich in einer Probe nachgewiesen werden. Die höchste Prävalenz trat erwartungsgemäß bei Schweinefleisch (10 positive Proben von 58 untersuchten) und Innereien vom Schwein (Nieren: 27/61; Leber: 10/59) auf. Die Gehalte in den positiven Schweinefleischproben waren durchweg sehr niedrig und lagen im spurenanalytischen Grenzbereich (Mittelwert: 0,02 µg/kg, Maximalwert 0,14 µg/kg). Deutlich höher waren die Werte in Schweinenieren (0,43 µg/kg; 9,33 µg/kg) und -lebern (0,07 µg/kg; 2,72 µg/kg).

Bei den Fleischerzeugnissen lag die Anzahl positiver Proben wesentlich höher.
Innerhalb dieser Warengruppe waren die Blut- und Leberwürste am häufigsten belastet (77% bzw. 68% positive Proben). Für Leberwurst konnte ein Maximalwert von immerhin 4,56 µg/kg (Mittelwert: 0,15 µg/kg) und für Blutwurst ein Wert von 3,16 µg/kg (Mittelwert: 0,16 µg/kg) gemessen werden.
Der Anteil positiver Proben betrug bei Rohwürsten und Brühwürsten ca. 50%, bei roher Pökelstückware ca. 35% und bei gegarter Stückware, Rindfleischwurst und Geflügelwurst < 20%. Die Mittelwerte lagen bei diesen Produkten unter 0,05 µg/kg.

Die auffällig höhere Belastung der Blut- und Leberwürste ist auf die rezepturbedingte Verwendung von Blut und Innereien von Schweinen zurückzuführen. Eine weitere Quelle für den Eintrag von OTA in Fleischerzeugnisse stellt darüber hinaus der Zusatz von kontaminierten Gewürzen zum Brät dar.

(Bestandteil der vom Bundesministerium für Gesundheit geförderten Studie „Belastung des Verbrauchers und der Lebensmittel mit Ochratoxin A".)

Ochratoxin A in Serum

H. Rosner[1], Barbara Rohrmann[1] und Gertrud Peiker[2]

[1] Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, Fachbereich 4, Jena,
Naumburger Str. 96 A, 07743 Jena
2 Friedrich-Schiller-Universität Jena, Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Jena

Entsprechend der Zielstellung der Studie „Belastung des Verbrauchers und der Lebensmittel mit Ochratoxin A" sollte die Relevanz der Ergebnisse nicht nur durch die epidemiologische Erhebung der Verzehrsgewohnheiten der Verbraucher und durch die Analyse der belasteten bzw. potentiell belasteten Lebensmittel dargestellt werden. Vielmehr war in die Untersuchungen die tatsächlich meßbare Ochratoxin-A-Konzentration im Blutserum einer für Deutschland repräsentativen Gruppe gesunder Probanden einzubeziehen.
Zu diesem Zweck wurden 927 Blutseren aus Kiel, Detmold, Berlin, Trier, Jena, Kulmbach, Karlsruhe und München sowie von einer zufällig über Deutschland verteilte Probandengruppe auf Ochratoxin A untersucht.
Es ergab sich ein Gesamtanteil an positiven Proben von 98,1 %, d.h., 1,9 % der Proben lagen bei ≤ 0,06 ng/ml (Nachweisgrenze). Der größte Teil der Proben konzentrierte sich in den Bereichen 0,11 - 0,30 ng/ml und 0,31 - 0,50 ng/ml (Maximum: 2,03 ng/ml; Mittelwert: 0,27 ng/ml; Merdian: 0,23 ng/ml; 90. Perzentil: 0,45 ng/ml). Zur Abschätzung des möglichen Risikos wurde aus den Serumwerten die tägliche Ochratoxin-A-Aufnahme berechnet und mit PTDI (Provisional Tolerable Daily Intake)-Werten aus der Literatur verglichen. Obgleich in Einzelfällen eine erhöhte Exposition nicht ausgeschlossen werden kann, ist für den Großteil der Bevölkerung bezüglich Ochratoxin A keine Gefährdung ableitbar.

Zur Untersuchung einer möglichen Exposition von Neugeborenen durch Ochratoxin A wurden 202 Seren nichtschwangerer und schwangerer Frauen, Müttern unter der Geburt, Wöchnerinnen bzw. aus Nabelschnurblut Neugeborener untersucht.
Es zeigte sich, daß im Serum aus der Nabelschnur neugeborener Kinder etwa die gleiche Konzentration Ochratoxin A gefunden wurde wie im Serum der Mütter bzw. der Bevölkerung insgesamt. Damit sind Neugeborene auf Grund der Plazentagängigkeit von Ochratoxin A der gleichen Exposition ausgesetzt wie Erwachsene.

(Bestandteil der vom Bundesministerium für Gesundheit geförderten Studie „Belastung des Verbrauchers und der Lebensmittel mit Ochratoxin A".)

Ochratoxin A - Gehalte im Blutserum und Ernährungsgewohnheiten auf der Basis einer retrospektiven Befragung über die letzten vier Wochen vor Blutabnahme

M. Gareis[1], H. Rosner[2] und S. Ehrhardt[3]

[1]Institut für Mikrobiologie und Toxikologie und [3]EDV-Abteilung, Bundesanstalt für Fleischforschung
E.-C. Baumannstraße 20, 95326 Kulmbach
[2]Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin, Fachbereich 4
Naumburger Str. 96 A, 07743 Jena

Als Teil des vom Bundesministerium für Gesundheit geförderten und mittlerweile abgeschlossenen Forschungsprojektes „Belastung der Verbraucher und der Lebensmittel mit Ochratoxin A"* wurde eine Befragung von 785 Probanden, deren Blut auf Ochratoxin A analysiert wurde, zum Ernährungsverhalten durchgeführt und statistisch ausgewertet.

Der Fragebogen zur Erhebung der Verzehrsgewohnheiten umfaßte retrospektiv die letzten vier Wochen vor Blutabnahme. Teil I der Befragung enthielt allgemeine Fragen, Teil II befaßte sich mit den einzelnen Lebensmitteln.

Die Auswertung erfolgte in Form von Boxplots und Streudiagrammen mit dem Statistikprogramm SPPS. Aufgrund von Mehrfachantworten und Wahlmöglichkeiten beim Verzehr (Angabe der Tages,-Wochen- und Monatsmengen) umfaßte jeder Datensatz 190 Merkmale, so daß insgesamt 39.735 Datenwerte ausgewertet wurden. Mittels Regressionsanalyse wurde eine Berechnung der funktionalen Beziehung durchgeführt, die es gestattet, aus den vorgegebenen Werten der unabhängigen Einflußgrößen die jeweils abhängige Zielgröße (OTA-Gehalt im Blut) zu schätzen.

Bei keinem der abgefragten allgemeinen Merkmale (z.B. Alter, Geschlecht) sowie Ernährungsmerkmale ließ sich eine nennenswerte Korrelation ableiten, da die Absolutwerte aller Korrelationskoeffizienten < 0,2 waren. Die Regressionsanalyse ergab für insgesamt 27 Lebensmittel/Lebensmittelgruppen Regressionsgeraden mit schwach positiven Regressionskoeffizienten (0,004 bis 0,0874), negative Regressionskoeffizienten wurden für 21 Merkmale ermittelt (-0,0195 bis -0,0007). Die Ergebnisse der Regressionsanalysen zeigen, daß für die OTA-Belastung des Menschen einzelne Lebensmittel nicht alleine verantwortlich sind.

Aufgrund der analytischen Unschärfe bei der Ermittlung der OTA-Gehalte im Blutserum sowie der Glaubhaftigkeit der Angaben zu den Ernährungsgewohnheiten wurden Probanden-Pools mit den jeweils niedrigsten und höchsten OTA-Blutwerten verglichen. Auf dieser Basis läßt sich ein statistisch positiver Zusammenhang zwischen hohen OTA-Blutwerten und dem erhöhten Verzehr von Brot, Roggenmischbrot, Müsli, Blutwurst, Salami, Schokolade mit Nüssen und koffeinhaltigem Kaffee ableiten.

(Bestandteil der vom Bundesministerium für Gesundheit geförderten Studie „Belastung des Verbrauchers und der Lebensmittel mit Ochratoxin A".)

Festsetzung von Höchstmengen für Mykotoxine in der EU

R. Weber

Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
Fachbereich 2, Thielallee 88 - 92, 14195 Berlin

Seit dem 1.1.1999 gelten in der Europäischen Union weitgehend einheitliche Höchstmengen für Aflatoxine in Lebensmitteln. Regelungen für Ochratoxin A in Lebensmitteln sind in Kürze zu erwarten. Im folgenden wird über Verhandlungsergebnisse und -probleme berichtet:

Bezüglich der Aflatoxine hat sich für Deutschland einerseits wenig - nach wie vor gilt für Aflatoxin B_1 eine Höchstmenge von 2 µg/kg und für die Summe der Aflatoxine eine Höchstmenge von 4 µg/kg - andererseits aber auch ganz Entscheidendes getan, denn mit der Änderung der EU-Kontaminanten-Verordnung wurde eine Probenahme-Richtlinie erlassen, die am Beispiel Pistazien diskutiert wird.

Geht man von einer Höchstmenge von 2 µg/kg, einer Kontaminationshäufigkeit von 1 : 5000 und einer Verteilungsfunktion analog Erdnüssen aus, dann müßte ein Importeur aufgrund von statistischen Überlegungen beim Import von Pistazien eine Probenmenge von mindestens 110 kg untersuchen, und könnte nur Pistazienpartien akzeptieren, die weniger als 0,3 µg/kg in diesen 110 kg Proben enthalten.
In der Praxis ließ sich dieser statistisch abgesicherte Präventionsprobenahmeplan nur schwer durchsetzen. Auch die analog statistisch begründete Kontrollmaßnahme - eine 20 kg-Probe kann erst beanstandet werden, wenn ein Höchstwert von 9,1 µg/kg überschritten wird - ließ sich gesundheitspolitisch nicht durchsetzen.
Mit der in der EU-Richtlinie getroffenen Regelung - drei 10 kg-Proben werden gezogen, keine Probe darf 2 µg/kg überschreiten - wurde offenbar ein pragmatischer Kompromiß im statistischen Niemandsland gefunden.

Basis für die Festsetzung von Höchstmengen für Ochratoxin A ist eine Meinungsäußerung des SCF, wonach die Exposition gegenüber Ochratoxin A so weit wie möglich zu senken ist, um sicherzustellen, daß die Exposition im unteren Bereich der von anderen Gremien abgeleiteten tolerablen täglichen Aufnahmemenge von 1,2 bis 14 ng/kg Körpergewicht und Tag liegt, z. B. unterhalb von 5 ng/kg.
Da der Verbraucher etwa 50 % der täglichen OTA-Menge mit Cerealien aufnimmt, ist geplant, zunächst Getreide und Getreideerzeugnisse zu regeln. Die international z. B. beim Codex Alimentarius diskutierte Höchstmenge von 5 µg/kg wird von Deutschland als zu hoch abgelehnt, da sie mit den Überlegungen zur bestmöglichen Abschätzung der täglichen Aufnahmemenge eines vier- bis sechsjährigen Mädchens mit einem Körpergewicht von 13,5 kg (unterer Grenzwert), dessen relative Nahrungsaufnahme bezogen auf das Körpergewicht größer ist als die von Erwachsenen, nicht in Einklang zu bringen ist.

Vergleichende Untersuchungen zur Zytotoxizität und Genotoxizität der Mykotoxine Ochratoxin A und Citrinin *in vitro*

W. Föllmann, Angelika Dörrenhaus, Brigitte Kullik, Martina Koch und H. M. Bolt

Institut für Arbeitsphysiologie an der Universität Dortmund, Ardeystr. 67, 44139 Dortmund

Die Mykotoxine Ochratoxin A (OTA) und Citrinin werden von einer Reihe von Penicilliun und Aspergillus-Stämmen produziert. Sie treten oft gemeinsam als Kontamination in Lebensmittel und Tierfutter auf und stellen daher einen Risikofaktor für die Gesundheit des Menschen dar.
Da Kanzerogenitätsstudien belegen, daß durch diese Mykotoxine Nierentumore in Ratten (OTA und Citrinin) und Mäusen (OTA) induziert werden, wird allgemein davon ausgegangen, daß auch ein Effekt auf den Menschen zu erwarten ist. Für OTA wird zusätzlich noch diskutiert, daß es an der Entstehung von Tumoren des Urogenitaltraktes bei Patienten, die an der endemischen Balkan Nephropathie leiden, verantwortlich sein könnte.
In bakteriellen Testsystemen sind OTA und Citrinin nicht mutagen. Das genotoxische Potential von OTA konnte in verschiedenen Studien *in vivo* und *in vitro* gezeigt weden. Für Citrinin liegen aber widersprüchliche Ergebnisse vor: in bakteriellen Testsystemen ist es genotoxisch, während in Testsystemen mit Säugerzellen kontroverse Ergebnisse vorliegen.
In der vorliegenden Studie wurden OTA und Citrinin in verschiedenen *in vitro*-Testsystemen als Einzelsubstanzen und als Kombination getestet. Ziel der Studie war es, eventuell auftretende additive oder synergistische Effekte zu detektieren, die aufgrund des häufigen simultanen Vorkommens der beiden Mykotoxine in der Praxis von Bedeutung sein können.
Im HPRT-Mutagenitätsassay mit V79-Zellen mit und ohne metabolischer Aktivierung (S9) zeigen beide Mykotoxine einzeln und auch in Kombination keinen mutagenen Effekt.
Die weiteren Test wurden mit einem bereits eingehend charakterisierten Serum-freien Zellkultursystem von Schweineharnblasen-Epithelzellen (PUBEC) durchgeführt.
Die Zytotoxizität der Mykotoxine wurde mit dem Neutralrot-Aufnahme-Assay bestimmt. Die Ergebnisse zeigen, daß OTA ab einer Konzentration von >50 nM zytotoxisch wirkt, während Citrinin bis 2000 nM keine zytotoxische Wirkung zeigt. Bei einer kombinierten Exposition lassen sich die eintretenden zytotoxischen Effekte eindeutig auf die alleinige Wirkung von OTA zurückführen. Ein additiver oder synergistischer Effekt durch eine kombinierte Exposition tritt nicht auf.
Die Induktion genotoxischer Effekte wurde im UDS (Induktion von DNA-Reparatur)- und im SCE (Induktion von Schwesterchromatid-Austauschen)-Assay untersucht.
Bei der Detektion von DNA-Reparatur im UDS-Assay zeigt sich sowohl für OTA als auch für Citrinin eine konzentrationsabhängige Induktion der DNA-Reparatur. Bei einer kombinierten Anwendung zeigt sich zwar ebenfalls eine Induktion, allerdings ist der Effekt weitaus geringer als bei einer Exposition gegen die jeweilige Einzelsubstanz.
Im SCE-Assay wird durch beide Mykotoxine eine Erhöhung der SCE-Frequenz induziert. Dabei treten die durch OTA induzierten Effekte im Vergleich zu Citrinin bei niedrigeren Konzentrationen auf. Werden die Mykotoxine kombiniert angewendet kommt es ebenfalls zu einem Anstieg der SCE-Frequenz, wobei eine additive Wirkung jedoch nicht auftritt.
Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, daß *in vitro* keine additiven oder synergistischen Wirkungen bei einer simultanen Exposition gegen OTA und Citrinin in den hier verwendeten Testsystemen auftreten. Die Ergebnisse aus dem Zytotoxizitätstest lassen die Vermutung zu, daß die beiden Mykotoxine über verschiedene Mechanismen wirksam sind.
Die erhaltenen Daten können für die Abschätzung eines Risikopotentials der beiden Mykotoxine hilfreich sein, insbesondere für ein multiples Expositionsszenario.

Chromatographisches Verhalten von Citrinin

H. Reinhard und B. Zimmerli

Bundesamt für Gesundheit, Sektion Lebensmittelchemie und –analytik, CH-3003 Bern

Citrinin ist, wie Ochratoxin A, ein nephrotoxisches Mykotoxin. Beide werden durch verschiedene Schimmelpilz-Spezies der weitverbreiteten Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* gebildet. Die antibiotische (Gram-positive Bakterien), bakteriostatische und fungizide Wirkung von Citrinin sind ebenfalls bekannt. Daten zum Vorkommen von Citrinin in Lebensmitteln sind im Gegensatz zu solchen über Ochratoxin A nur spärlich verfügbar. Dies lässt entweder auf das Nichtvorhandensein, analytische Schwierigkeiten in Extraktion, Nachweis und / oder auf eine mögliche Instabilität von Citrinin in Lebensmitteln schliessen.
Neben Papier- und Dünnschicht- sind in neuerer Zeit vor allem Flüssigchromatografie (HPLC) und immunchemische Verfahren eingesetzt worden, um Citrinin nachzuweisen. HPLC an gepuffertem Silicagel [1] und vor allem reversed phase (RP-) Materialien [1,2] in Kombination mit UV- oder Fluoreszenzdetektion wurden eingesetzt um Citrinin mit variierenden Empfindlichkeiten zu erfassen. Als neutrales Molekül weist Citrinin eine natürliche Fluoreszenz auf. Was die Chromatografie an RP-Materialien betrifft, wurden üblicherweise saure Eluenten (meist mit Orthophosphorsäure angesäuert) [2] oder Ionenpaarchromatografie [3] angewendet. Das letztere Verfahren führt allerdings zu einem Verlust der Fluoreszenz von Citrinin.

Anknüpfend an vorhergehende Arbeiten, in denen Schwierigkeiten in der Chromatografie von Citrinin bei der Übernahme entsprechender Methoden aufgetreten waren [1] sollte eine empfindliche Analysemethode zum gleichzeitigen Nachweis von Citrinin und Ochratoxin A erarbeitet werden.
Vorerst wurde nach Faktoren gesucht, die die Chromatografie von Citrinin an C18 RP-Materialien beeinflussen könnten. Unter anderem wurde der Einfluss des Materials der stationären Phase, des pH, der Zusammensetzung der mobilen organischen Phase und der Temperatur untersucht.
Die gewählten chromatografischen Bedingungen entsprachen dabei jenen einer Ionenunterdrückungs-Chromatografie. Der Einfluss der dazu verwendeten Säure (mineralisch oder organisch) auf die Elution von Citrinin wurde ebenfalls untersucht.

Die Ergebnisse, die diskutiert werden sollen, zeigen, dass die Eigenschaften des C18 RP-Materials, der pH-Wert und die Säurestärke des Eluenten eine entscheidende Rolle für eine einwandfreie Chromatografie von Citrinin spielen.

[1] B.Zimmerli, R.Dick, U.Baumann, J.Chrom. 462 (1989) 406-410
[2] L.R.Marti, D.M.Wilson, B.D.Evans, J.A.O.A.C. 61 (1978) 1353-1358
[3] C.M.Franco, C.A.Fente, B.Vazquez, A.Cepeda, L.Lallaoui, P.Prognon, G.Mahuzier, J.Chrom.A 723 (1996) 69-75

Nachweis von Citrinin in Lebensmitteln

R. Dietrich, E. Usleber und E. Märtlbauer

Lehrstuhl für Hygiene und Technologie der Milch, LMU München, Veterinärstr. 13, 80539 München

Eine Vielzahl von Schimmelpilzen der Gattungen *Aspergillus* und *Penicillium* sind als potentielle Citrinin-Produzenten bekannt. Weitaus weniger bekannt ist, daß auch Stämme der Gattung *Monascus* in der Lage sind Citrinin zu produzieren. Im asiatischen Raum wird mit *Monascus spp.* fermentierter Reis (Angkak) traditionell als natürlicher, roter Lebensmittelfarbstoff bei der Herstellung von Produkten wie Hoi-Sin Sauce, Miso-Pasten, rotem Tofu und Sake-Wein verwendet, die über Asia-Shops auch in Deutschland vertrieben werden. Unabhängig davon werden seit einigen Jahren in Reformhäusern sogenannte "vegetarische Würste" angeboten, die aus optischen Gründen (Rotfärbung) teilweise unter Verwendung von mit *Monascus* spp. fermentiertem Reis hergestellt werden.

Unter Verwendung von hochaffinen monoklonalen Antikörpern wurde ein Verfahren zum Nachweis von Citrinin in diesen Lebensmitteln entwickelt. Die Proben wurden nach Ansäuern mit Dichlormethan extrahiert, die Extrakte mit einer Natriumhydrogencarbonat-Lösung ausgeschüttelt und dann mittels Enzymimmuntest analysiert. Positive Ergebnisse dieses Screening-Verfahrens wurden nach immunaffinitätschromatographischer Aufreinigung der Extrakte mittels HPLC und Fluoreszenzdetektion bestätigt. Die Nachweisgrenze für Citrinin in Lebensmitteln lag bei 2 µg/kg.

Mit dieser Methode wurden 41 asiatische Spezialitäten und 12 verschiedene Produkte von "vegetarischen Würsten" aus Einzelhandelsgeschäften untersucht. In neun asiatischen Spezialitäten, darunter vier Hoi-Sin Saucen, konnte mittels Enzymimmuntest Citrinin in Konzentrationen von 15 - 115 µg/kg nachgewiesen werden, wobei in der HPLC deutlich niedrigere Werte ermittelt wurden.

In acht vegetarischen Wurstprodukten, bei denen der Zusatz von fermentiertem Reismehl deklariert war, konnte mittels Enzymimmuntest Citrinin detektiert werden. In der HPLC-Analyse ergaben sich Citrinin-Gehalte von 9 - 79 µg/kg, wobei für diese Proben eine gute Korrelation zwischen den beiden Nachweisverfahren zu beobachten war.

Licht- und Schattenseite von Rotschimmelreis: Farbstoffe und Citrinin

D. Wild und M. Gareis

Institut für Mikrobiologie und Toxikologie der Bundesanstalt für Fleischforschung
E.-C.-Baumann-Straße 20, 95326 Kulmbach

Kulturen verschiedener Monascus-Arten, z.B. *M. purpureus, M. ruber* auf Reis werden in ostasiatischen Ländern traditionell zum Färben und Konservieren von Lebensmitteln benutzt, da sie hitzebeständige und ansprechende gelbe, orange und rote Farbstoffe mit Polyketid-Strukturen enthalten, sowie Substanzen mit keimhemmender Wirkung. Die letztere Wirkung ist jedoch zumindest teilweise dem nephrotoxischen Mykotoxin Citrinin zuzuschreiben, das von Monascus-Spezies gebildet werden kann. Angesichts von Bestrebungen, Rotschimmelreis auch in Deutschland und der EU in Lebensmitteln einzusetzen, wurde eine rationelle Probenextraktions- und Analysen-Methode entwickelt, die es ermöglicht, Rotschimmelreis-Proben innerhalb einer Stunde gleichzeitig auf Citrinin, die 6 wichtigsten Farbstoffe (Monascin, Ankaflavin, Rubropunctatin, Monascorubrin, Rubropunctamin, Monascorubramin) sowie weitere Inhaltsstoffe zu untersuchen. Die Analyse erfolgte mit einer HPLC-Methode mit einem Gradienten aus Acetonitril/Phosphorsäure und Dioden-array-Detektion.

Rotschimmelreis wurde im Labormaßstab mit *M. purpureus* DSM1379 gewonnen, außerdem wurden kommerzielle Rotschimmelreis-Proben aus Ostasien untersucht. Die HPLC-Methode trennt Extrakte von Rotschimmelreis in mindestens 30 Einzelkomponenten. Alle Labor-Proben von Rotschimmelreis enthielten Citrinin in hohen Konzentrationen (>100 mg/kg). Die asiatischen Proben ergaben komplexe und heterogene Chromatogramme. Die Citriningehalte waren gering oder nicht nachweisbar (<0,2 mg/kg). Jedoch enthielten einige dieser Proben Substanzen, deren Retentionszeiten und Absorptionsspektren Ähnlichkeit mit denen von Citrinin aufwiesen. Auch bei den Farbstoffen sowie den nicht identifizierten Inhaltsstoffen waren Unterschiede zwischen verschiedenen Produkten erkennbar. Vermutlich werden in Japan und anderen Hersteller-Ländern für die kommerzielle Gewinnung von Rotschimmelreis genetisch modifizierte Monascus-Stämme eingesetzt, bei denen die Citrininbiosynthese blockiert ist.

Offenbar ist der Citriningehalt heutiger ostasiatischer Rotschimmelreisproben sehr viel niedriger als der eines konventionell erzeugten Produktes. Dennoch erscheint eine fundierte Bewertung von Rotschimmelreis angesichts seiner variablen Zusammensetzung und der großen Zahl nicht identifizierter Inhaltsstoffe derzeit nicht möglich; chemisch-analytische und toxikologische Untersuchungen der Inhaltsstoffe erscheinen als wichtige Voraussetzung für eine eventuelle Anwendung von Rotschimmelreis im Lebensmittelbereich.

Unbekannte Substanz

Ochratoxin A -Gehalt in amtlich erhobenen Malz- und Bierproben aus Hessen

H. Taschan

Staatl. Medizinal-, Lebensmittel- und Veterinäruntersuchungsamt Mittelhessen

Marburger Str. 54; 35396 Gießen

Die Bildung von Ochratoxin A wird vor allem durch Temperatur und Feuchtigkeit stark beeinflußt, so daß Cerealien bei den pflanzlichen Lebensmitteln als eine der wesentlichen Ochratoxin A -Quellen gelten.
Werden die für die Herstellung von Bier verwendeten Rohstoffe während der Ernte, des Transports oder der Lagerung von Mikroorganismen befallen, so kann eine Kontamination der Rohstoffe mit Mykotoxinen nicht ausgeschlossen werden.
In der BRD erfolgt die Herstellung der Biere nach dem deutschen Reinheitsgebot. Danach muß das Getreide gemälzt werden. Bei der Herstellung der Biere im Ausland wird außer Malz auch unvermälztes Getreide wie Mais und Reis eingesetzt.
In Anbetracht der Tatsache, daß der Wassergehalt des Malzes in der Mälzerei 44-48% beträgt und die Temperaturen (17-22°C) bei der Keimung optimal sind, bietet die Malzbereitung den Mikroorganismen hervorragende Entwicklungsmöglichkeiten. Daher ist das Auftreten von Mykotoxinen in Bier wahrscheinlicher als in anderen alkoholischen Getränken.
Im Rahmen des HACCP-Konzeptes nach der Lebensmittelhygiene-VO müssen im Prozeßablauf gesundheitliche Gefahren mikrobiologischer, physikalischer und chemischer Natur erfaßt, analysiert, überwacht und beherrscht werden. Hier stellt sich die Frage:

1. **Stellt OTA bei der Herstellung von Bier im Sinne des HACCP-Konzeptes ein Risko (CCP) dar?**
2. **Wenn ja, welche Prüf- und Überwachungsmaßnahmen kommen hier in Frage?**
3. **In welchen Abständen sollen Prüf- und Überwachungsmaßnahmen erfolgen?**

Im Rahmen dieser Arbeit wurden bisher 36 Malzproben und 52 Biere aus hessichen Brauereien auf ihren OTA-Gehalt untersucht.
Werden für die Beurteilung die hier ermittelten Untersuchungsergebnisse bzw. die vorhandenen Grenzwerte in Zusammenhang mit der Definition des § 8 LMBG zugrunde gelegt, so stellt OTA im Sinne des HACCP-Konzeptes zwar keine akute Gesundheitsgefahr dar. Da jedoch OTA im Tierversuch eine ausgeprägte Nephrotoxizität zeigt, ihm teratogene und immunsuppressive Eigenschaften zugeschrieben werden und darüberhinaus es zusätzlich eine kanzerogene Potenz aufweist, ist dringend zu empfehlen, im Sinne des Verbraucherschutzes aber auch wegen der Sorgfaltspflicht und der Produkthaftung alle notwendigen Handlungen durchzuführen, um einwandfreie, gesundheitlich unbedenkliche Lebensmittel herzustellen.

Aktuelles und Zukunftsperspektiven der Biodegradation von Mykotoxinen

[1]J. Böhm, [1]E. Razzazi, [2]J. Grajewski

[1] Institut für Ernährung, Veterinärmedizinische Universität Wien
Veterinärplatz 1, A-1210 Wien

[2] Pädagogische Universität in Bydgoszcz
Institut für Biologie und Umweltschutz
Chodkiewicza 30, 85-064 Bydgoszcz, Polen

Die Belastung der Futtermittel mit Fusarientoxinen führte in den letzten Jahren immer häufiger zu Problemen in der Tierhaltung und -zucht. Deshalb ist es wünschenswert, einerseits den Gehalt der Mykotoxine zu bestimmen und toxikologisch zu beurteilen, andererseits nach Alternativen zu suchen um den Gehalt der Toxine im Futter- und Lebensmittel zu reduzieren.
Eine Unterdrückung oder Minderung des Pilzwachstums und damit der Mykotoxinbildung nach der Ernte kann durch Anwendung von Konservierungsverfahren erreicht werden. Hierzu gehören in erster Linie die Trocknung, Kühlung, chemische Konservierung (mit organische Säuren, Harnstoff, Ammoniak) Silierung und Lagerung unter Schutzgas. Dagegen gibt es derzeit noch kaum Möglichkeiten, Pilzbefall und Mykotoxinkontamination vor der Ernte zu vermindern, ohne größere Mengen an Fungiziden zu verwenden. Somit stellen Mykotoxine unter anderem in der biologischen Landwirtschaft ein großes Problem dar. Aus diesem Grund wurde versucht, Mykotoxine direkt in Futter- und Lebensmitteln zu inaktivieren. Auch der Einsatz von sogenannten Mykotoxinadsorbern (Chemisorption) wurde geprüft, welche seit einigen Jahren auf dem Markt erhältlich sind. Es gibt Hinweise, daß einige Mikroorganismen die Fähigkeit besitzen, die Mykotoxine in weniger toxische Substanzen umzuwandeln.
Eine Reihe der Autoren haben von Biotransformation und Detoxifikation einiger Mykotoxine berichtet. Aus dem Pansensaft des Rindes konnten Mikroorganismen isoliert werden, die Ochratoxin A und Vomitoxin abbauen konnten. Dies geht auf die frühere Beobachtungen zurück, daß die Wiederkäuer, verglichen mit Monogastriern, auf Mykotoxinkontaminationen weitaus unempfindlicher reagieren.
Auch aus Boden- bzw. Wasserproben angereicherte Mikroorganismen können Mykotoxine abbauen, wie dies bei T-2 Toxin und Zearalenon abbauenden Mikroorganismen beobachtet wurde. Von Candida tropicalis wird berichtet Zearalenon in der Silage zu degradieren.
Die genannten Veränderungen und Abbau des Toxins sind vor allem auf die enzymatische Aktivität der Mikroorganismen zurückzuführen. Somit könnten die Mikroorganismen dazu verwendet werden, die Mykotoxine in Lebensmittel und Futtermittel abzubauen. Auch die probiotischen Mikroorganismen in den Futtermittelzusatzstoffen könnten eine Biodegradation der Mykotoxine herbeiführen.
Die tatsächliche Wirkung solcher Detoxifikationen kann aber viel besser in situ-Versuchen untersucht werden. Die Bedingungen im Magendarmtrakt könnten eine immense Wirkung auf die Detoxifikationsprozesse solcher Mikroorganismen haben. Einige Versuche wurden mit Ochratoxin A im Darmchymus der Küken durchgeführt. Eine beachtliche Biodegradation konnte in diesen Untersuchungen beobachtet werden. Über die weiteren Möglichkeiten, vorlaeufige Ergebnisse und Zukunftsperspektiven sollte im Rahmen dieses Vortrags diskutiert und berichtet werden.

Mykotoxingehalte in Getreideproben von 1998

H. Buschhaus

Hoechst Schering AgrEvo GmbH, FRD-Fungizide, K 607, 65926 Frankfurt/M.

In AgrEvo-Versuchen wurden in 1998 Parzellen mit einem Körnerinokulum, bestehend aus Fusarium culmorum und Fusarium graminearum, zum Schossen des Weizens mit 5 g/m² appliziert. Damit wurde eine Befallssituation nachgestellt aus der bodenbürtiges Inokulum unter natürlichen Bedingungen das Getreide befällt. Mit Hilfe der PCR-Technik war es möglich den Fusarium Befallskomplex zu differenzieren und zwar separat für Spelzen und Getreidekörner. Der Befall mit F. avenaceum, F. culmorum und F. poae lag unter 1 %. Der Hauptpathogen in den Versuchen war Fusarium graminearum. Der Befall von Spelzen lag zwischen 8 und 45 %, wohingegen der Befall bei Getreidekörnern zwischen 0,9 und 29 % lag. Der Gehalt an Mycotoxinen in den Körnern wurde mit HPLC bestimmt. Der Mykotoxingehalt der Proben schwankte bei Deoxinivalenol zwischen 10 und 22 mg/kg Körner, bei Zearalenon zwischen 0,64 und 3,2 mg/kg Körnern. 3-Ac DON-, Beta-Zearalenon- und Alpha-Zearalenon-Gehalte lagen unter 0,6 ppm. Die Nivalenolgehalte lagen unter der Nachweisgrenze.

Xanthomegnin, Viomellein und Verrucosidin: Vergessene Mykotoxine?

U. Lauber und H.-M. Müller

Institut für Tierernährung (450) der Universität Hohenheim, Emil-Wolff-Strasse 10, 70599 Stuttgart

Die *Penicillium*-Toxine Xanthomegnin (Xan), Viomellein (Vio) und Verrucosidin (Verru) werden ausschließlich von Spezies der sogenannten *Penicillium-aurantiogriseum*-Gruppe gebildet. Vertreter dieser Gruppe kommen in unseren Breiten ubiquitär vor und werden hauptsächlich für den durch Schimmelpilze verursachten Verderb von unzureichend gelagertem Getreide verantwortlich gemacht. Da eine Entwicklung von Schimmelpilzen immer auch mit dem Risiko der Mykotoxinbildung verbunden ist, erscheint es umso verwunderlicher das die genannten Toxine bisher in der Literatur vergleichsweise wenig Beachtung fanden.
Bei den Naphthoquinonen Xan und Vio handelt es sich um Dihydroisocoumarin-Derivate, die bedingt durch ihre Chinon-Struktur als Elektronenakzeptoren in Redoxsysteme eingreifen können. Hierdurch wird die oxidative Phosphorilierung in den Mitochondrien beeinträchtigt, wodurch diese Verbindungen toxisch auf Leber und Niere wirken.

Verrucosidin wurde in Zusammenhang mit einer Neurotoxikose in einer Rinderherde fälschlicherweise den tremorgenen Mykotoxinen zugeordnet. Gleichwohl wird Verrucosidin heute als ein stark paralytisches Toxin mit einer Toxizität vergleichbar der des Citreoviridins eingestuft (LD_{50} in Mäusen 4 mg/kg; im Vergleich hierzu Ochratoxin A, LD_{50} in Mäusen 20 mg/kg). Es handelt sich um eine neurotoxische Verbindung, die jedoch keine tremorgene Wirkung besitzt.
In den letzten 10 Jahren wurde u.W. keine einzige Studie hinsichtlich eines natürlichen Vorkommens dieser Toxine publiziert. Zu berücksichtigen ist hierbei, daß keine der drei Substanzen komerziell erhältlich ist und empfindliche, einfach durchzuführende Analysemethoden bisher nicht beschrieben wurden.
Es stellt sich daher die Frage, ob diese Toxine selbst unter schlechten Lagerbedingungen nicht gebildet werden, bisher nicht aktiv nach ihnen gesucht wurde oder sie schlichtweg übersehen wurden?

Die Ergebnisse aus Untersuchungen von Praxisproben sollen unter diesen Gesichtspunkten vorgestellt und diskutiert werden.

Enzymimmuntests zum Nachweis der Penicillientoxine Mycophenolsäure und Roquefortin

E. Usleber[1], Elisabeth Schneider[1], Christine Bürk[1], Karen Brösigke[1], R. Dietrich[1], E. Märtlbauer[1] und J. Bauer[2]

[1] Lehrstuhl für Hygiene und Technologie der Milch, LMU München, Veterinärstrasse 13, D-80539 München

[2] Lehrstuhl für Tierhygiene, TU München, Hohenbachernstrasse 15, D-85354 Freising

Mycophenolsäure (Erstbeschreibung 1913) und Roquefortin (Erstbeschreibung 1975) sind seit langem bekannte Mykotoxine, zählten jedoch nie zu den "top ten" der Mykotoxinforschung. Gründe hierfür sind möglicherweise die geringe akute Toxizität (LD_{50} Maus i.p. >100 mg/kg KGW) und Unklarheiten, was die sonstige Toxizität dieser Substanzen und damit die Relevanz ihres Vorkommens in Lebens- und Futtermitteln betrifft. Beide Substanzen besitzen antibakterielle Wirkungen. Roquefortin soll in einigen Spezies neurotoxische (strychninartige) Wirkungen haben. Mycophenolsäure hat aufgrund ihrer immunsuppressiven Eigenschaften in jüngster Zeit Bedeutung in der Transplantationsmedizin erlangt (Mycophenolate, Motefil, MMF; Tagesdosis ca. 1 g p.o.). Gebildet von einigen weit verbreiteten Penicillium-Spezies wie z.B. *P. roqueforti* wurden Mycophenolsäure und Roquefortin bisher in Blauschimmelkäsen, Käsedressings, Silagen und Gerstenschrot nachgewiesen (Maximalwerte > 10 mg/kg). Zum Nachweis beider Substanzen stehen bisher ausschließlich physikalisch-chemische Verfahren zur Verfügung.

Zur Vereinfachung der Analytik wurden Enzymimmuntests für Mycophenolsäure und Roquefortin entwickelt. Während sich die Herstellung von Antikörpern gegen Roquefortin vergleichsweise zeitaufwendig gestaltete, erwies sich Mycophenolsäure immunologisch als sehr einfaches Molekül. Die Nachweisgrenzen der erstellten Enzymimmuntests liegen bei ca. 2-3 ng/ml (Roquefortin) und bei 0,05-0,1 ng/ml (Mycophenolsäure). Beide Testsysteme erwiesen sich als recht spezifisch und zeigten keine (Mycophenolsäure) bzw. nur geringe (Roquefortin) Kreuzreaktionen mit bekannten strukturähnlichen Substanzen. Eine erste orientierende Anwendungsstudie zum Nachweis von Roquefortin in Blauschimmelkäsen zeigte, daß alle untersuchten Proben im µg/g-Bereich positiv waren, wobei eine Kontamination mit Roquefortin praktisch ausschließlich auf die mit Schimmel durchsetzten Käseanteile beschränkt war. Die Ermittlung der Nachweisgrenze und der Wiederfindungsrate des Testsystems gestaltete sich daher als schwierig. Da das Vorhandensein eines bisher noch nicht bekannten Roquefortin-ähnlichen Metaboliten in Blauschimmelkäse nicht ausgeschlossen werden konnte, bedarf dieses Analysenverfahren weiterer Bestätigung durch Vergleichsuntersuchungen. Orientierende Untersuchungen zum Nachweis von Mycophenolsäure in Milch zeigten, daß ohne aufwendige Probenvorbereitung eine Nachweisgrenze von ca. 0,1 ng/ml erzielbar war.

Poster

P 1:

Untersuchungen zum Einfluß von Deoxynivalenol(DON)-belastetem Weizen in Kombination mit einem Nicht-Stärke-Polysaccharid(NSP)-spaltendem Enzym in der Broilermast

S. Dänicke[1], Hana Valenta[1], Ingrid Halle[1], S. Matthes[2], G. Flachowsky[1], M. Gareis[3]

[1] Institut für Tierernährung, FAL, Bundesallee 50, 38116 Braunschweig
[2] Institut für Tierzucht und Tierverhalten, Institutsteil Celle, FAL, Dörnbergstraße 25/27, 29223 Celle
[3] Institut für Mikrobiologie und Toxikologie, BAFF, E.C.-Baumann-Str. 20, 95326 Kulmbach

Zum Einfluß NSP-spaltender Enzyme bei Verfütterung weizenbetonter Rationen an Broiler liegen in der Literatur zahlreiche Befunde vor, die eine positive Wirkung bei Weizensorten mit hoher Extraktviskosität (hoher Anteil wasserlöslicher NSP) auf die Leistung der Tiere belegen. Der viskositätssenkende Einfluß von NSP-spaltenden Enzymen ist verbunden mit einer Erhöhung der Nährstoffverdaulichkeit sowie mit morphologischen und physiologischen Veränderungen im Intestinaltrakt. Darüber hinaus werden die pflanzlichen Zellwände durch partielle Hydrolyse der NSP aufgebrochen und zellwandassoziierte Substanzen freigesetzt und damit deren Bioverfügbarkeit erhöht. Für einige Mykotoxine ist eine solche Zellwandbindung experimentell nachgewiesen worden. Ziel vorliegender Untersuchungen war es daher, den Einfluß eines NSP-spaltenden Enzyms bei unterschiedlichem Mykotoxingehalt im Broilerfutter zu untersuchen. Die Futtermischungen enthielten Weizen als alleinige Getreidekomponente mit einem Anteil von 66 %. Eine Staffelung des Mykotoxingehaltes wurde durch Verschnitt des unbelasteten Weizenanteils mit natürlich kontaminiertem Weizen erreicht. Der Anteil des kontaminierten Weizens am Gesamtweizenanteil betrug 0 %, 25 %, 50 %, 75 % und 100 %. Das Belastungsmuster des kontaminierten Weizens ist wie folgt zu charakterisieren (µg/kg)*: DON (21200), Nivalenol (1400), 15-Acetyl-DON (ca. 500), 3-Acetyl-DON (ca. 300), HT-2 (<50), T-2 (<20), Zearalenon (406), Ochratoxin A (<0.2), Gesamtalkaloide (219). Die Analyse der Trichothecene erfolgte mittels GC-MS, von Zearalenon, Ochratoxin A und Gesamtalkaloiden mit HPLC.
Jede Futtermischung (Belastungsstufe) wurde ohne bzw. mit Zusatz eines NSP-spaltenden Enzympräparates (Avizyme 1300, Finnfeeds, Marlborough, UK) getestet (männliche Broiler, 64 Tiere je Variante). Der Versuch erstreckte sich vom 1. bis 35. Lebenstag. Es wurden Mastleistung (bis 35. Tag) sowie Differentialblutbild, Leberenzyme und Immunglobuline (34. Tag) bestimmt. Die Ergebnisse der am 35. Tag festgestellten Lebendmassen sind in der Tabelle dargestellt. Die Blutparameter liegen noch nicht vor und werden zur Zeit analysiert.

Anteil des belasteten Weizens am Gesamtweizen (%)	Enzymzulage†	Lebendmasse (g)
0	-	1703[c]
0	+	1916[ab]
25	-	1914[ab]
25	+	1941[ab]
50	-	1922[ab]
50	+	1899[ab]
75	-	1969[a]
75	+	1892[ab]
100	-	1889[ab]
100	+	1834[b]
Pooled SEM		25

† 3000 IU Xylanase/kg Futter; a, b - Werte mit unterschiedlichen Hochbuchstaben sind signifikant verschieden

Es wurde ein signifikanter Einfluß der Belastungsstufe festgestellt. Die Verfütterung von unbelastetem Weizen bewirkte signifikant niedrigere Lebendmassen. Anteile von 25 % bis 75 % belastetem Weizen am Gesamtweizenanteil erhöhten die Lebendmasse. Erst bei vollständiger Substitution des unbelasteten Weizens durch den kontaminierten Weizen wurden verminderte Lebendmassen festgestellt. Die signifikanten Wechselwirkungen zwischen Belastungsstufe und Enzymzulage sind mit dem positiven Einfluß des Enzyms bei unbelastetem Weizen und mit der negativen Wirkung bei hoher Mykotoxinbelastung zu erklären. Die Aufklärung der zugrundeliegenden Ursachen bedarf weiterer Untersuchungen.

* An dieser Stelle möchten sich die Autoren bei Frau Dr. Schollenberger, Universität Hohenheim, für die Analyse der Trichothecene und bei Dr. Wolff, Bundesanstalt für Getreide-, Kartoffel- und Fettforschung, Detmold, für die Analyse der Gesamtalkaloide bedanken.

P2:

Analytik von Mykotoxinmetaboliten aus dem mikrobiellen Abbau mittels LC-MS und NMR

Elisabeth Fuchs[1], E.M.Binder[1], D.Heidler[1], R.Krska[2]

[1] Biomin GTI, Industriestrasse 21, A-3130 Herzogenburg
[2] Interuniversitäres Forschungsinstitut fuer Agrarbiotechnologie (IFA-Tulln), Konrad Lorenzstrasse 20,
A-3430 Tulln

Kontaminationen mit Trichothecenen, insbesondere von Deoxynivalenol, in Futtermitteln führen aufgrund ihrer immunsuppressiven Wirkung in der Tierzucht zu großen Leistungseinbrüchen in der Futterverwertung und Fertilität.

Die Entgiftung von kontaminiertem Futter ist daher schon lange ein Thema der Forschung. Sie erfolgte bisher auf physikalisch-chemischem Weg, z.B. durch die Adsorption an diverse Bindemittel.

Ein anderer Weg der Entgiftung ist der mikrobielle Abbau. Er ist das Thema unserer Forschungsgruppe am IFA-Tulln. So wurde bereits ein Bakterium gefunden, das fähig ist, Mykotoxine abzubauen. Es wandelt zum Beispiel Deoxynivalenol (DON) in seinen Metaboliten DOM-1, das Deepoxid von DON, um und führt so zu einer Entgiftung.

In Analogie zum mikrobiellen Abbau von DON wurde auch die mikrobielle Transformation anderer Trichothecene untersucht.
Die dabei entstehenden Mykotoxinmetaboliten wurden mittels HPLC-PB-MS Kopplung und ^{1}H-NMR charakterisiert. Dabei konnte gezeigt werden, daß 3-Acetyldeoxynivalenol über DON zu DOM-1 metabolisiert wird, während Fusarenon-X zu Nivalenol und dessen Metaboliten abgebaut wird.

Die vorliegende Forschungsarbeit beweist, daß das Bakterium nicht nur DON sondern auch andere Trichothecene entgiften kann. Mit den nun erarbeiteten Methoden werden in weiterer Folge auch noch die besonders toxischen A-Trichothecene und deren Metaboliten untersucht.

P3:

Degradation von Ochratoxin A mittels biologischer Substanzen

J. Grajewski[1], J. Böhm[2], Katarzyna Szczepaniak[1], Magdalena Twaruzek[1], Beata Skladanowska[1] und Renata Starczewska[1]

[1]Institut für Biologie und Umweltschutz, Pädagogische Hochschule, Chodkiewicza Str. 30, PL 85-064, Bydgoszcz

[2]Institut für Ernährung, Veterinärmedizinische Universität, Veterinärplatz 1, A-1210 Wien

Die Kontamination von Getreide mit Ochratoxin A (OA) stellt in Nordeuropa ein Problem für die Futtermittelindustrie dar. Wir haben im letzten Herbst festgestellt, daß in Pommern Lupinenkörner über 150 ppb OA beinhalten. Dieser Metabolit der Schimmelpilze Aspergillus und Penicillium ist für Schweine und Geflügel sowie unmittelbar für den Menschen besonders gefährlich. Es wurde beobachtet, daß Enzyme der Pansenflora OA zum Teil biotransformieren oder biodegradieren können. Es wurde letztlich angedeutet, daß zum Teil die Inaktivierung von OA im sauren Milieu des Schweinemagens erfolgt. Das Ziel des vorliegenden Projekts ist die "in vitro" Degradation von OA im Verdauungskanal von Broilern mittels in Polen registrierter und zugelassener enzymatischer Präparate (Futtermittelzusätze) und des Adsorber - und Enzympräparats (Mycofix Plus). Es wurde auch der Grad der Biotransformation aus dem Inhalt und den Verdauungssäften des Magens und des Darms von Geflügel ermittelt. Vier Wochen alte Broiler wurden nach der Fütterung der Kraftfuttermittelmischung DKA - Grower geschlachtet. Es wurden sofort Mageninhalts-, Dünndarm- und Blinddarmproben gezogen, und auf 4° C gekühlt . Einem Teil der Proben mit dem Inhalt und dem Rückstand des zentrifugierten Saftes wurden 1 ppm OA (Sigma) und OA mit 1%-igem Zusatz der Multienzym-Präparate AVIZYME (Noack) und FEEDZYME II BG (Agil Ltd) - mit aktiven Proteasen und BIOFEED PLUS (Novo Nordisk) - Komplex ohne Proteasen, sowie mit 2%-igem Zusatz MYCOFIX PLUS (Biomin) mit inaktivierten Hefen zugegeben. Alle wurden bei +42° C für die Dauer von 100 min bei Magenproben, 60 min bei Dünndarmproben und 35 min bei Blinddarmproben inkubiert. Jede Variante wurde zweimal wiederholt. Nach der Inkubation wurden die Proben nach dem modernisierten Verfahren von Frohlich[1] et al. analysiert. Dieses Verfahren ermöglicht die gleichzeitige Bestimmung von Ochratoxin A und B und seiner Derivate (Oα, Oß). Ochratoxin wurde mit Ethylacetat aus der wäßrigen Lösung extrahiert, die Lösung abgedampft und anschließend in Methanol aufgelöst. Die HPLC-Analyse: Säule Merck Lichrospher RP-18 (250x4), Gradient -H_2O pH 2,8 (H_3PO_4) plus Methanol (MeOH/2-Propanol; 90:10), Durchfluß 1,3 ml/min, Temp. 40° C, Fluoreszenzdetektion: Ex 333 nm; Em 450 nm. Standard OA wurde als Methanollösung zugegeben. Die Wiederfindungsrate der analytischen Methode betrug 80%. Während der Untersuchungen wurde festgestellt, daß in der Kontrollprobe des Mageninhalts (pH 3) nach 100 min Inkubation eine Degradation von OA zu 40% erfolgte. Der Zusatz von AVIZYME, FEEDZYME II BG und MYCOFIX hat den Grad der Degradation nicht beeinflußt und bei der Mitwirkung von BIOFEED PLUS ist der Gehalt um 10% gesunken. In allen oben angeführten Varianten wurde keine Biotransformation von OA und OB zu Derivaten α und ß bemerkt. In dem Inhalt des Dünndarms (pH 6,9) und des Blinddarms (pH 7,2) und in den zentrifugierten Darmsäften wurde keine Degradation von OA festgestellt. Ebenso wurde eine Degradation in der Kontrollvariante und mit Enzymen des Magensaftes nicht bemerkt. Nur bei Anwesenheit von MYCOFIX PLUS erreichte die Degradation 10%.

[1]Frohlich A.A., Marquardt R.R., Clarke J.R.,(1997): Enzymatic and Immunological Approaches for the Quantitation and Confirmation of Ochratoxin A in Swine Kidneys. J. Food Prot.,**60**: 172-176.

Danksagung: Firma DROBEX für die Zustellung von Hühnern für die Untersuchungszwecke

P 4:

Ochratoxin A in Röstkaffee

M. Hennel

Staatliches Lebensmitteluntersuchungsamt Braunschweig, Dresdenstraße 2, 38124 Braunschweig

Ochratoxin A (OTA) ist ein Mykotoxin, das von verschiedenen Pilzarten der Gattungen Aspergillum und Penicillium gebildet wird. Neben der ausgeprägten Nephrotoxizität zeigt Ochratoxin A hepatoxische , teratogene, kanzerogene und immunsuppressive Eigenschaften. Die Mykotoxinbildung nach dem Schimmel-pilzbefall wird besonders durch ungünstige Temperatur- und Feuchtigkeitsbe-dingungen während der Trocknung, der Lagerung und des Transports von Rohkaffee begünstigt. Unter den üblichen Röstbedingungen bleibt OTA im wesent- lichen unzerstört und gelangt beim Aufbrühprozess praktisch vollständig ins Getränk.

Im Jahr 1998 wurden 40 Proben Röstkaffee auf OTA untersucht. Dazu wurden die Proben nach der Extraktion mit methanolischer Natriumhydrogencarbonat-Lösung zunächst an Baker-Phenyl-Festphasensäulen aufgereinigt. Anschließend erfolgte die Anreicherung an Immunoaffinitätssäulen (Rida Ochratoxin A column) und Messung durch HPLC mit Fluoreszensdetektion.

Die OTA-Konzentration der positven Proben lagen in Bereich zwischen 0,1 und

2,2 µg/kg. Der Mittelwert betrug 0,86 µg/kg und die Kontaminationsrate der Proben

50 % angesichts einer Nachweisgrenze von 0,1 µg/kg.

Weitere Untersuchungen werden in den nächsten Wochen folgen und in der endgültigen Auswertung berücksichtigt.

P 5:

Untersuchungen zum Schimmelpilzbesatz und Mykotoxingehalt in Getreide aus Thüringen und Sachsen-Anhalt von 1996

Iris Kuhlmann[1)], Hana Valenta[2)], M. Goll[2)], Elisabeth Oldenburg[3)] und G. Flachowsky[2)]

1) Friedrich-Schiller-Universität, Lehrbereich Ernährungsphysiologie, Dornburger Str. 24, 0774Jena
2) Institut für Tierernährung, Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL), Bundesallee 50, 38116 Braunschweig
3) Institut für Grünland- und Futterpflanzenforschung, Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL), Bundesallee 50, 38116 Braunschweig

In Thüringen und Sachsen-Anhalt mußte aufgrund der regenreichen Ernteperiode 1996 die Getreideernte bis in den September bzw. Oktober verschoben werden. Für die Untersuchung des Einflusses der hohen Niederschläge und des späten Erntetermins auf den Schimmelpilzbesatz und die Mykotoxinbildung wurden 42 Getreideproben (Weizen, Gerste, Triticale, Roggen, Mais und Hafer) von 9 Standorten in Thüringen und Sachsen-Anhalt gezogen. Zu den Proben wurden Informationen über den Erntezeitpunkt, den Trockensubstanzgehalt zum Zeitpunkt der Ernte, Lagerungsbedingungen, Konservierung usw. eingeholt.

In mykologischen Untersuchungen wurden die Infektionsrate und die Pilzgattungen bestimmt. Die Proben wurden weiterhin auf die Mykotoxine Zearalenon, Deoxynivalenol und Ochratoxin A analysiert. Die Bestimmung von Zearalenon und Ochratoxin A erfolgte mit HPLC mit Fluoreszenzdetektion. Positive Befunde wurden mit GC/MS (Zearalenon) bzw. mit ELISA (Ochratoxin A) abgesichert. Die Nachweisgrenzen lagen bei 2 µg/kg (Zearalenon) bzw. 0,2 µg/kg (Ochratoxin A). Deoxynivalenol wurde mit einem kompetitiven ELISA mit einer Nachweisgrenze von 111 µg/kg bestimmt.

Die Infektionsrate mit Feldpilzen betrug 95 % mit durchschnittlich 80 Kolonien. Die Lagerpilze waren mit 69 % und durchschnittlich 14 Kolonien vertreten. Zearalenon war in 57 % der Proben nachweisbar; der Mittelwert der positiven Proben lag bei 38 µg/kg. In 3 bzw. 5 der Zearalenon-positiven Proben wurden mit GC/MS zusätzlich die Metaboliten α-Zearalenol bzw. ß-Zearalenol nachgewiesen; die Konzentrationen lagen jedoch unter 10 µg/kg. Deoxynivalenol war in 71 % der Proben mit im Mittel 807 µg/kg enthalten. Ochratoxin A wurde in 33 % der Proben nachgewiesen.

Der Erntezeitpunkt und der Trockensubstanzgehalt bei der Ernte beeinflußten die Besiedlung von Getreide mit Feld- und Lagerpilzen statistisch signifikant ($p < 0{,}05$). Die Infektionsrate mit Feldpilzen war am höchsten im Getreide, das im August geerntet wurde, die mit Lagerpilzen dagegen im Getreide, das im Oktober geerntet wurde. Getreide, das bei der Ernte einen Trockensubstanzgehalt von < 85 % aufwies, war stärker mit *Fusarien* und den Lagerpilzen *Aspergillus* und *Penicillium* belastet als Getreide, das mit einem Trockensubstanzgehalt von > 85 % geerntet wurde. Trocknung und Belüftung des Getreidelagers hatten keinen signifikanten Einfluß auf die Pilzbesiedlung. Auch der Mykotoxingehalt wurde signifikant vom Erntezeitpunkt und dem Trockensubstanzgehalt beeinflußt. Je später die Ernte erfolgte, desto höher lag die Zearalenonkonzentration im Getreide. Bei allen drei analysierten Mykotoxinen waren die Gehalte signifikant höher, wenn das Getreide mit einem Trockensubstanzgehalt von < 85 % eingelagert wurde, als mit einem Trockensubstanzgehalt von > 85 %. Die Ergebnisse werden im Poster diskutiert.

P 6:

72-stündige Exposition von Zellen des proximalen Tubulus der Niere mit Ochratoxin A führt zur Abnahme der mRNA-Menge des Antiporters von organischen Anionen und Dikarboxylaten OAT1.

Chr. Sauvant, St. Silbernagl und M. Gekle

Physiologisches Institut, Universität Würzburg, Röntgenring 9, 97070 Würzburg

Ochratoxin A (OTA) ist ein weitverbreitetes Mykotoxin mit kanzerogenen und nephrotoxischen Eigenschaften. Hauptangriffsort der toxischen Wirkung von OTA ist die Niere. Chronische Exposition mit OTA führt bei Mensch und Tier zur Ausprägung von interstitiellen Nephropathien und zu einer erhöhten Tumorinzidenz im Urogenitaltrakt.
OTA hat eine hohe Eliminationshalbwertszeit (Affe und Mensch über 800 Stunden), was teilweise mit der unter physiologischen Bedingungen 99%igen Bindung an Plasmaproteine erklärbar ist. Verantwortlich für die Ausscheidung von OTA in den Urin ist das im proximalen Tubulus der Niere lokalisierte Transportsystem für organische Anionen. Dieses tertiär aktive Transportsystem ist darüber hinaus verantwortlich für die Exkretion einer Vielzahl von endogenen Metaboliten, Konjugaten des Entgiftungsstoffwechsels und von Xenobiotika.
In früheren Arbeiten konnte von uns gezeigt werden, daß längere Exposition mit nanomolaren Konzentrationen von freiem OTA zu einer Abnahme des Transports von organischen Anionen in Modellzellen des proximalen Tubulus führt. Diese Hemmung kommt durch die spezifische Wirkung auf den, basolateral lokalisierten, Antiporter von Dikarboxylaten und organischen Anionen (OAT1) zustande. Mittels RT-PCR untersuchten wir die Auswirkung einer 72-stündigen Exposition mit 10 nM freiem OTA auf die mRNA-Menge von OAT1. Als Modellsystem wurde eine etablierte Zellinie des proximalen Tubulus verwendet (OK-Zellen). Durch Anwendung der Multiplex-PCR-Technik konnte die Transkription der OAT1-mRNA auf eine konstant exprimierte "housekeeping"-mRNA (Glyzerinaldehyd-phosphatdehydrogenase; GAPDH) semiquantitativ standardisiert werden.
Es zeigte sich das nach der 72-stündigen Inkubation mit 10 nM freiem OTA die OAT1-mRNA auf ca. 2/3 der Kontrollwerte abgesunken war. Es ist somit höchstwahrscheinlich, daß auch die Menge von expremiertem OAT1-Protein kleiner wird.
Längere Exposition von Zellen des proximalen Tubulus mit nanomolaren Konzentrationen von OTA, führt also (i) zu einer Abnahme der Expression des Transportproteins für organische Anionen OAT1. (ii) Dieses ist ebenfalls durch eine Abnahme des Transportes organischer Anionen meßbar. (iii) Dadurch kann sich die ohnehin lange Eliminationszeit von OTA verlängern und die toxische Wirkung von OTA verstärken. (iv) Die Elimination von anderen organischen Anionen (Metabolite, Konjugate, Xenobiotika) kann ebenfalls verzögert werden, was zu einer Vielzahl indirekter, potentiell toxischer, Wirkungen von OTA führen kann.

(Gefördert durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft: DFG Ge 905/3-3)

P 7:

Ochratoxin A-induzierte Expressionsänderungen des Tumorsuppressorproteins p53 in Zellen des humanen proximalen Tubulus

G. Schwerdt, Ruth Freudinger, St. Silbernagl und M. Gekle

Physiologisches Institut, Universität Würzburg, Röntgenring 9, D - 97070 Würzburg

Ochratoxin A (OTA) steht im Verdacht, beim Menschen schwere Schädigungen in der Niere auszulösen, wie etwa die Balkan-Nephropathie. Der wahre Grund seiner Nephrotoxizität ist letzlich noch immer nicht geklärt. Bisherige Untersuchungen zeigten einen inhibitorischen Effekt auf die Proteinsynthese (wegen des Phenylalaninrestes, der fälschlicherweise von der Phenylalanin-tRNA-Synthetase erkannt wird), Störungen im der pH Homöostase, Einwirkungen auf intrazelluläre Signalwege sowie die Bildung von DNA-Addukten. Vor allem die erst- und letztgenennten Untersuchungen wurden oftmals mit recht hohen Ochratoxin A Konzentrationen (im millimolaren Bereichen) durchgeführt, die im Organismus praktisch nicht gefunden werden.
Wir versuchten, eine Methode zu finden, die mögliche Schädigungen von niedrig-dosiertem Ochratoxin A (im nano- bis micromolaren Bereich) auf die DNA von humanen proximalen Tubuluszellen (IHKE-Zellen) nachweisen kann. Ein Reparatursystem, das bei Schädigungen der DNA etwa durch UV-Strahlen oder durch Chemikalien wie Cisplatin zu Hilfe gezogen wird, ist eine p53-Tumorsuppressorprotein-abhängige Folge von Enzymaktivierungen, die letztlich (im Idealfall) zur Beseitigung der DNA-Schäden führt. In beiden obengenannten Fällen kommt es zur Aktivierung und vermehrten Expression dieses Proteins. Eine verstäkte Synthese und erhöhte Menge dieses Proteins läßt also den Schluß zu, daß die DNA Schädigungen erlitten hat.
Mit Hilfe von Antikörpern gegen das p53 Protein und sequenzspezifischer DNA-Primer untersuchten wir das Expresionsverhalten des p53 Proteins nach Inkubation der Zellen mit Ochratoxin A mittels Western Blot Analyse und RT-PCR (*reverse transcriptase polymerase chain reaction*).
Wir fanden eine Inkubationszeit- und konzentrationsabhängige Zunahme des p53 Proteins nach Exposition zu Ochratoxin A. Bereits nach zwei-stündiger Inkubation mit nur 100 nmol/l Ochratoxin A war eine Zunahme des p53 Proteins im Western Blot nachweisbar. Auch hatte eine Inkubation mit nur 10 nmol/l Ochratoxin A über fünf Tage hinweg einen deutlichen Anstieg des p53 Proteins zur Folge. Ebenfalls führte Inkubation mit Cisplatin, von dem bekannt ist, daß es DNA Schäden induziert, zur Zunahme des p53 Proteins. Die mRNA-Menge eines Proteins (p21), das direkt unter der transkiptionellen Kontrolle des p53 steht, war ebenfalls nach Inkubation mit Ochratoxin A oder Cisplatin erhöht.
Wir schließen, daß bereits geringe Konzentrationen von Ochratoxin A zu Schädigungen der DNA führen können, die in IHKE-Zellen zur Rekrutierung des p53-abhängigen Reparatursystems führen. Sollte dieses System allerdings überlastet werden, so ist es denkbar, daß gravierende Schädigungen der Zelle entstehen, die zu den Funktionsverlusten der Niere nach Ochratoxin A Exposition beitragen können.

(Gefördert durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG Ge 905/3-3). Wir danken Herrn Professor Brüne, Erlangen, für dessen freundliche Gabe des p53-Antikörpers)

P 8:

Abbau von Ochratoxin A bei der Produktion von Röstkaffee

J. Wilkens[1] und U. Jörissen[2]

[1] Tchibo Frisch-Röst-Kaffee GmbH, Süderstraße 293, 20537 Hamburg
[2] Dr. Wiertz - Dipl.-Chem. Eggert - Dr. Jörissen GmbH, Stenzelring 14 b, 21107 Hamburg

Das Mykotoxin Ochratoxin A (OTA) kann bei nicht sachgerechter Verarbeitung und Lagerung als Folge des Wachstums von Schimmelpilzen der Gattungen Aspergillus und Penicillum in verschiedenen pflanzlichen Produkten wie Getreide, Trockenfrüchten, Rohkaffee, Trauben etc. vorkommen.

Rohkaffee wird vor dem Genuß durch den Menschen gereinigt und zur Röstung einer intensiven thermischen Behandlung mit Heißluft unterzogen. Ziel der vorliegenden Untersuchung war, die Auswirkung dieser Prozeßschritte auf den OTA-Gehalt zu ermitteln. Frühere Arbeiten zu diesem Thema zeigen zum Teil stark streuende Werte, die zu widersprüchlichen Interpretationen Anlaß geben.

Da bekannt ist, daß das Mykotoxin OTA in dem belasteten Substrat Rohkaffee sehr inhomogen verteilt ist, wurde die Probenahme und Probenaufbereitung ähnlich wie bei der Aflatoxinanalytik bei Erdnüssen durchgeführt.

1. Rohkaffeereinigung

   Bei der industriellen Reinigung durch Windsichtung wurde in dem Zyklonprodukt (Oberflächenstaub und Fragmente des Silberhäutchens) OTA Gehalte gefunden, die dem 5- bis 20-fachen des Gehaltes des gereinigten Kaffees entsprechen. Zur OTA-Reduktion trägt die Reinigung jedoch nur bedingt bei, da die abgeschiedenen Staubmengen nur ca. 0,5 bis 1 % der Gesamtmenge betragen.

2. Röstung

   Rohkaffees aus kontaminierten Chargen wurden in einer Pilotanlage (RFB 6, Hersteller: Neuhaus Neotec) geröstet und der OTA-Gehalt vor und nach der Röstung gemessen. Folgende Abbauraten wurden gefunden:

OTA-Gehalt i. Tr. (µg/kg)		
Rohkaffee	Röstkaffee	Abbaurate [%]
0,90	0,63	30
9,91	2,11	79
18,4	1,90	89

   Die ebenfalls ermittelten OTA-Gehalte der beim Rösten abgeschiedenen Häutchen bewegten sich im Bereich des 1,1- bis 5-fachen des OTA-Gehaltes des Ausgangsrohkaffees.

P 9:

Untersuchung von Roh- und Röstkaffee auf Ochratoxin A

Katrin Woese

Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt Halle, Freiimfelder Str. 66-67, 06112 Halle

Im Rahmen von Schwerpunktuntersuchungen des Landes Sachsen-Anhalt wurden in den Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsämtern Stendal - Bereich Magdeburg - und Halle in den Jahren 1995 bis 1998 15 Roh- und 131 Röstkaffeeproben auf ihre Gehalte an Ochratoxin A geprüft. Zur Untersuchung gelangten dabei sowohl Handelsproben als auch Kaffees eines einheimischen Herstellers.

Für die quantitative Bestimmung des Mykotoxins kam eine HPLC-Methode mit Fluoreszenzdetektion nach vorhergehender Coffeinabtrennung und Aufreinigung der Probenextrakte an Immunaffinitätssäulen zur Anwendung.

In 47 % der Roh- und 23 % der Röstkaffeeproben war Ochratoxin A bestimmbar; bei 27 % bzw. 7 % lag der Gehalt oberhalb der vom BgVV als Höchstmenge empfohlenen Konzentration von 3 µg/kg. Auffallend war die Korrelation der Ochratoxin-A-Kontamination mit der Rohkaffee-Qualität. Hohe Anteile an fehlerhaften Bohnen (Bruch- und Fraßbohnen) gingen einher mit erhöhten Gehalten an Ochratoxin A. Weiterhin zeigte sich eine deutlich höhere und umfangreichere Belastung von Kaffees der unteren Preisgruppen im Vergleich zu Erzeugnissen des oberen Preissegments.

Die Untersuchungen werden 1999 fortgeführt.

P 10:

Ochratoxin A and Citrinin in Cereals from Bulgarian Villages with a History of Balkan Endemic Nephropathy

Terry Vrabcheva[1], E. Usleber[2], R. Dietrich[2] und E. Märtlbauer[2]

[1] Mycotoxicological Laboratory, National Center for Hygiene, Sofia, Bulgaria

[2] Lehrstuhl für Hygiene und Technologie der Milch, LMU München, Veterinärstrasse 13, D-80539 München

Cereal samples were collected in 1998 from Bulgarian villages without (Control village (C), n=20) or with (Endemic villages (E); E1: n=21, E2: n=30, E3: n=23) a history of Balkan Endemic Nephropathy. Samples included wheat and maize for human consumption, and barley, oats, and wheat bran intended for use as animal feedingstuff. These samples were analysed for ochratoxin A and citrinin by enzyme immunoassays. Detection limits were at 0.5 ng/g (ochratoxin A) and 5 ng/g (citrinin), mean recoveries ranged from approx. 30% to 80% (ochratoxin A) and from approx. 30% to 60% (citrinin). Ochratoxin A-positive EIA results were confirmed by IAC/HPLC.

Highest ochratoxin A and citrinin levels were found in wheat, wheat bran, and oats, while all maize samples were negative for both toxins. For ochratoxin A, the percentage of positives was 35% (C), 29% (E1), 30% (E2), and 47% (E3). The mean/median values (in ng/g) for ochratoxin A-positive samples were 1.5/1.3 (C), 11/1.6 (E1), 18/1.6 (E2), and 3.5/1.5 (E3). For citrinin, the percentage of positives was 5.0% (C), 14% (E1), 3.3% (E2), and 13% (E3). The mean/median values (in ng/g) for citrinin-positive samples were 6.1/6.1 (C), 180/83 (E1), 10/10 (E2), and 84/20 (E3). The highest levels for ochratoxin (>10 - 140 ng/g) and citrinin (>10 - 420 ng/g) were found exclusively in samples from endemic villages. However, because of high variances within each group and and heteroscedasticity between villages, no significant difference between samples from endemic and non-endemic villages could be established for ochratoxin A or citrinin contamination. Nevertheless the data show that citrinin is also a major contaminant in Bulgarian cereals and should be included in future surveys. Additionally, some very high toxin levels found in food and feed samples from endemic villages indicate the necessity to conduct a further study including sample analysis of foods of animal origin (and possibly human serum samples) to clarify a relationship between both toxins and balkan endemic nephropathy in Bulgaria.

Verzeichnis der angemeldeten Teilnehmer

Backes, Margit
Bundesanstalt für Landwirtschaft und
Ernährung (BLE)
Projektträger Agrarforschung
Adickesallee 40
60322 Frankfurt/Main
☎ (069)1564-675 FAX (069)1564-787

Bassen, Britta
Chem. Landesuntersuchungsanstalt
Sigmaringen
Fidelis-Graf-Str. 1
72488 Sigmaringen
☎ (07571)732-686

Batke, Horst
SGS Controll Co.m.b.H.
AGRI-Labor Bremen
Emder Str. 10 / Fabrikenufer
28217 Bremen
☎ (0421)38798-41
FAX (0421)38798-51; -50

Dr. Berndt, Angela
Bundesinstitut für gesundheitlichen
Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
Fachbereich 4
Naumburger Str. 96 a
07743 Jena
☎ (03641)804-248 FAX (03641)804-228
a.berndt@bgvv.de

Bevis, Simon
Coring System Diagnostix GmbH
Robert-Bunsen-Str. 4
64579 Gernsheim
☎ (06258)9317-0 FAX (06258-3050

Binder, Johann
BIOMIN GTI
Industriestr. 21
A - 3130 HERZOGENBURG
☎ (+43)2272-66280-505
FAX (+43)2272-66280-503

Dr. Binder, Eva Maria
BIOMIN GTI
Industriestr. 21
A - 3130 HERZOGENBURG
☎ (+43)2782-803-0
FAX (+43)2782-803-30
horvath@ifal.boku.ac.at

Birzele, Barbara
Universität Bonn
Institut für Pflanzenkrankheiten
Nußallee 9
53115 Bonn
☎ (0228)73-3376 FAX (0228)73-9592

Dr. Bischoff, Manfred
Landwirschaftl. Untersuchungs-
und Forschungsanstalt
Jägerstr. 23-27
26121 Oldenburg
☎ (0441)801-835 FAX (0441)801-899

Dr. Bocklisch, Herbert
TMLVUA, Standort Bad Langensalza
Tennstedter Str. 9
99947 Bad Langensalza
☎ (03603)8170

Dr. Bögl, K. W.
Bundesinstitut für gesundheitlichen
Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
Thielallee 88-92
14195 Berlin
☎ (030)8412-3463

Dr. Böhm, Josef
Veterinärmedizinische Universität Wien
Institut für Ernährung
Veterinärplatz 1
A - 1210 WIEN
☎ (+43)1-25077-3215
FAX (+43)1-25077-3290

Dr. Bollmann, Joachim
Bundesministerium für Ernährung,
Landwirtschaft und Forsten
Rochusstr. 1
53123 Bonn
☎ (0228)529-0

Dr. Bresch, H.
Bundesforschungsanstalt für Ernährung
Engesser Str. 20
76131 Karlsruhe
☎ (0721)6625-526 FAX (0721)6625-111
horst.bresch@bfe.uni-karlsruhe.de

Bujara, Ingrid
Natec Institut
Behringstr. 154
22763 Hamburg
☎ (040)88309195 FAX (040)88309170

Burgmaier-Thielert, Elisabeth
Chem. Landesuntersuchungsanstalt
Sigmaringen
Fidelis-Graf-Str. 1
72488 Sigmaringen
☎ (07571)732-696 FAX (07571)732-614

Dr. Buschhaus, Herbert
Hoechst Schering AgrEvo GmbH
FRD-Fungizide, K 607
65926 Frankfurt/M.
☎ (069)305-12098 FAX (069)305-13223

Dr. Cholmakov-Bodechtel, Constanze
I+G Gesundheitsforschung GmbH & C
Landsberger Str.
80687 München
☎ (089)5600-480 FAX (089)5600-563
constanze.bodechtel@hgde.infrabrk.com

Dr. Christall, Birgit
Central Laboratories Friedrichsdorf
c/o MILUPA gmbH & Co KG
Bahnstr. 14-30
61381 Friedrichsdorf
☎ (06172)99-1897 FAX (06172)99-1967
christall@milupa.de

Dr. Clauß, Bernd
Milupa GmbH & Co KG
Schleyerstr. 4
36041 Fulda
☎ (0661)92920 FAX (0661)92975

Dr. Dänicke, Sven
Institut für Tierernährung der FAL
Bundesallee 50
38116 Braunschweig
☎ (0531)596-436 FAX (0531)596-376

Prof. Dr. Dekant, W.
Institut für Toxikologie und Pharmakologie
Versbacher Str. 9
97078 Würzburg
☎ (0931)201-3449 FAX (0931)201-3865

Diehl, Yvonne
Transia GmbH
Dieselstr. 9 a
61239 Ober-Mörlen
☎ (06002)1801 FAX (06002)1806

Dr. Dietrich, Richard
LMU München
Tierärztliche Fakultät
Lehrstuhl für Hygiene und Technologie der
Milch
Veterinärstr. 13
80539 München
☎ (089)2180-2973 FAX (089)2180-3793
r.dietrich@mh.vetmed.uni-muenchen.de

Dittmar, Frank
Staatl. Medizinal-, Lebensmittel-
und Veterinäruntersuchungsamt
Nordhessen
Druseltalstr. 67
34131 Kassel
☎ (0561)3101-261 FAX (0561)3101-242

Döll, Susanne
Knebelstr. 15
07743 Jena
☎ u. FAX (03641)823816

Dr. Eggert-Bury, Kornelia
Zentrales Institut des Sanitätsdienstes der Bundeswehr
Kiel-Kronshagen; Bw 121
Kopperpahler Allee 120
24119 Kronshagen
☎ (0431)5409-1732; -1601
FAX (0431)547 195

Dr. Ellner, Frank
BBA
Institut für ökolog. Chemie
Königin-Luise-Str. 19
14195 Berlin
☎ (030)8304-2390 FAX (030)8304-2303
f.ellner@bba.de

Dr. Engel, Günter
Bundesanstalt für Milchforschung
Institut für Mikrobiologie
Hermann-Weigmann-Str. 1
24103 Kiel
☎ (0431)609-2333 FAX (0431)609-2306
engel@bafm.de

Dr. Engelhardt, Gabriele
Bayerische Landesanstalt für Ernährung
Abt. Qualitätssicherung der Nahrungsmittel
Menzinger Str. 54
80638 München
☎ (089)17800-214 FAX (089)174041
gabriele.engelhardt@lfe.bayern.de

Ewert, Marin
TMLVUA
Abt. 2
Tennstedter Str. 9
99947 Bad Langensalza
☎ (03603)8170

Dr. Färber, Paul
Bundesforschungsanstalt für Ernährung
Haid-und-Neu-Str. 9
76131 Karlsruhe
☎ (0721)6625-517 FAX (0721)6625-453
faerber.dp@t-online.de

Dr. Föllmann, Wolfram
Universität Dortmund
Institut für Arbeitsphysiologie
Ardeystr. 67
44139 Dortmund
☎ (0231)1084-384 FAX (0231)1084-403
foellmann@arb-phys.uni-dortmund.de

Fuchs, Elisabeth
BIOMIN GTI GmbH
Industriestr. 21
A - 3130 HERZOGENBURG
☎ (+43)2782-803
FAX (+43)2782-803-30

Dr. Dr. Gareis, Manfred
Bundesanstalt für Fleischforschung
Institut für Mikrobiologie und Toxikologie
E.-C.-Baumann-Str. 20
95326 Kulmbach
☎ (09221)803-220 FAX (09221)803-331
gareis.baff@t-online.de

Prof. Dr. Gedek, Brigitte
Bergstr. 8
85737 Ismaning
☎ (089)969182 FAX (089)96201133

Dr. Geier-Dömling, D.
LABOKLIN
Labor für klinische Diagnostik GmbH
Prinzregentenstr. 3
97688 Bad Kissingen
☎ (0971)72020 FAX (0971)88548

PD Dr. Gekle, Michael
Universität Würzburg
Physiologisches Institut
Röntgenring 9
97070 Würzburg
☎ (0931)31-2739 FAX (0931)31-2741
michael.gekle@mail.uni-wuerzburg.de

Gerstmann, Thomas
Staatl. Veterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt
Pappelallee 20
14469 Potsdam
☎ (0331)5688-319 FAX (0331)5688-291

Dr. Göbel, Roswitha
Institut für Veterinär-Pharmakologie
und Toxikologie GmbH
Weißenseer Straße 36
16321 Bernau
☎ (03338)3965-0

Dr. Göpfert, Peter
Zentrales Institut des Sanitätsdienstes
der Bundeswehr - München
Schleißheimer Str. 416 Schleißheimer
Str. 416
80935 München
☎ (089)35482-262 FAX (089)3545765

Dr. Grajewski, Jan
Katedra Bidogu i Ochrony
Srodowiska WSP
ul. Chodkiewicza 30
PL - 85-064 BYDGOSZCZ
☎ (+48)52-3400734
jangra@wsp.bydgoszcz.pl

Dr. Haas-Lauterbach, Sigrid
R-Biopharm GmbH
Dolivostr. 10
64293 Darmstadt
☎ (06151)8102-25 FAX (06151)8102-40
rbioks@aol.com

Haller, Marianne E.
Hipp Werk
Georg Hipp GmbH & Co KG
Georg-Hipp-Str. 7
85265 Pfaffenhofen
☎ (08441)757-425 FAX (08441)757-676

Hanschmann, Gudrun
Sächs. Landesanstalt für Landwirtschaft
FB-LU
Gustav-Kühn-Str. 8
04159 Leipzig
☎ (0341)9174-228 Fax (0341)9174-211

Dr. Hecht, Hermann
Bundesanstalt für Fleischforschung
Institut für Chemie und Physik
Isotopenlaboratorium
E.-C.-Baumann-Str. 20
95326 Kulmbach
☎ (09221)803-291 FAX (09221)803-303

Dipl.-Ing Heidler, Dian
BIOMIN GTI GmbH
Industriestr. 21
A - 3130 HERZOGENBURG
☎ (+43)2782-803
FAX (+43)2782-80330

Dr. Heller, Martin
Bundesinstitut für gesundheitlichen
Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
FB 4
Naumburger Str. 96 a
07743 Jena
☎ (03641)804-281 FAX (03641)804-228
m.heller@bgvv.de

Hennel, Matthias
Staatl. Lebenmitteluntersuchungsamt
Braunschweig
Dresdenstr. 2
38124 Braunschweig
☎ (0531)484-1031 FAX (0531)484-1001

Dr. Hindorf, Holger
Institut für Pflanzenkrankheit
Nußallee 9
53115 Bonn
☎ (0228)732450 FAX (0228)732442

Dr. zu Höne, Theodor
Deutsches Institut für
Lebensmitteltechnik e. V.
Prof.-v.-Klitzing-Str. 7
49610 Quakenbrück
☎ (05431)183225

Hübner, Marc
R-Biopharm GmbH
Dolivostr. 10
64293 Darmstadt
☎ (06151)8102-0 FAX (06151)8102-40

Dr. Humpf, Hans-Ulrich
Universität Würzburg
Lehrstuhl für Lebensmittelchemie
Am Hubland
97074 Würzburg
☎ (0931)885483 FAX (0931)885484
humpf@pzlc.uni-wuerzburg.de

Dr. Idler, Christine
Institut für Agrartechnik Bornim e. V.
Max-Eyth-Allee 100
14469 Potsdam
☎ (0331)5699-124 FAX (0331)5699-849

Jenner, Katrin
Staatl. Veterinär- und Lebensmittel-
Untersuchungsamt
Ringstr. 1030
15236 Frankfurt (Oder)
☎ (0335)5217201 FAX (0335)5217120

Dr. Jörissen, Urban
Dr. Wiertz-Eggert-Dr. Jörissen GmbH
Handels- und Umweltschutzlaboratorium
Stenzelring 14 b
21107 Hamburg
☎ (040)752709-28 FAX (040)752709-35

Dr. John, Angelika
Hochschule Anhalt
FB Landwirtschaft/Ökotrophologie/
Landespflege
Strenzfelder Allee 28
0604 Bernburg
☎ (03471)355-471 FAX (03471)355-305

Josephs, Ralf
IFA Tulln
Analytikzentrum
Konrad-Lorenz-Str. 20
A - 3430 TULLN
☎ (+43)2272-6620-409
FAX (+43)2272-66280-403

Dr. Kandler, Helmut
Wissenschaftliche Dienste Migros
Postfach
CH - 8031 ZÜRICH
☎ (+41)1-277-3158 FAX (+41)1-277-3170
helmut.kandler@mgb.ch

Kasel, Udo
LEFO-Institut
Waldemar-Bensels-Weg 170
22926 Ahrensburg
☎ (04102)55471) FAX (04102)50806

Prof. Dr. Kielstein, Peter
Bundesinstitut für gesundheitlichen
Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
FB 4
Naumburger Str. 96 a
07743 Jena
☎ (03641)804-240 FAX (03641)804-228
p.kielstein@bgvv.de

Klaffke, Horst Stefan
Bundesinstitut für gesundheitlichen
Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
Thielallee 88-92
14195 Berlin
☎ (030)8412-0

Dr. Kletschkus, Helmut
CR3-Kaffeeveredelung
M. Hermsen GmbH
Waterbergstr. 14
28237 Bremen
☎ (0421)64905-48 FAX (0421)64905-90

Dr. Köhler, Heike
Bundesinstitut für gesundheitlichen
Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
FB 4, Jena
Naumburger Str. 96 a
07743 Jena
☎ (03641)804-262 FAX (03641)804-228
h.koehler@bgvv.de

PhD Kohn, Barb Ariel
VICAM L. P.
313 Pleasant Street
USA - WATERTOWN MA 02472
☎ u. FAX (+01)617-923-8055

Dr. Krska, Rudolf
IFA Tulln
Analytikzentrum
Konrad-Lorenz-Str. 20
A - 3430 TULLN
☎ (+43)2272-66280-401
FAX (+43)2272-66280-403
krsk@ifa-tulln.ac.at

Dr. Kruse, Sabine
Bundesministerium für Ernährung,
Landwirtschaft und Forsten
Rochusstr. 1
53123 Bonn
☎ (0228)529-4186 FAX (0228)529-4401

Kuhlmann, Iris
c/o Thorsten Heinkel
An der Trebe 5
07749 Jena
☎ (03641)828969

Kuss, Carola
Mälzerei Meussdoerffer GmbH & Co KG
Wilh.-Meussdoerffer-Str. 19
95326 Kulmbach
☎ (09221)9049-68 FAX (09221)9049-43

Kutay, Can
Universität Instanbul
Veterinärmedizinische Fakultät
Institut für Tierernährung und
ernährungsbedingte Krankheiten
Avcilar
TR - ISTANBUL 34850
☎ u. FAX (+90)212-591-6996

Dr. Lassek, Eva
Landesuntersuchungsamt für das
Gesundheitswesen Südbayern
Veterinärstr. 2
85762 Oberschleißheim
☎ (089)31560-545 FAX (089)31560-457

Lauber, Uwe
Universität Hohenheim
Institut für Tierernährung (450)
Emil-Wolff-Str. 10
70599 Stuttgart
☎ (0711)459-2413 FAX (0711)459-2421
lauber@uni-hohenheim.de

Dr. Lehmann, Traugott
Bundesministerium für Ernährung,
Landwirtschaft und Forsten
PF 14 02 70
53107 Bonn
☎ (0228)529-3516 FAX (0228)529-3429

Dr. Lepschy, Johann
Bayer. Landesanstalt für
Bodenkultur und Pflanzenbau
Vöttinger Str. 38
85354 Freising
☎ (08161)713978 FAX (08161)714407

Dr. Leyk, Wolfgang
Landwirtschaftskammer Westfalen-Lippe
Untersuchungszentrum Münster
Nevinghoff 40
48147 Münster
☎ (0251)2376-685 FAX (0251)2376-846
biblio.lk-wl@t-online.de

Lichtel, Ingrid
Coring System Diagnostix GmbH
Robert-Bunsen-Str. 4
64579 Gernsheim
☎ (06258)9317-0 FAX (06258-3050

Lobeck, Klaus
Coring System Diagnostix GmbH
Robert-Bunsen-Str. 4
64579 Gernsheim
☎ (06258)9317-0 FAX (06258-3050
gs.coring@t-online.de

Majerus, Paul
Chem. Untersuchungsamt Trier
Maximineracht 11 a
54295 Trier
☎ (0651)1446-242 FAX (0651)-21028

Prof. Dr. Märtlbauer, Erwin
Universität München
Tierärztliche Fakultät
Lehrstuhl für Hygiene und
Technologie der Milch
Veterinärstr. 13
80539 München
☎ (089)2180-3672 FAX (089)2180-2106
e.maertlbauer@mh.vetmed.uni-
muenchen.de

Prof. Dr. Matissek, R.
Lebensmittelchemisches Institut
des Bundesverbandes der Dt.
Süßwarenindustrie e. V.
Adamsstr. 62-64
51063 Köln
☎ (0221)623061 FAX (0221)610477

Dr. Matthies, Annette
Agrarzentrum der BASF AG
AP/RF - Li 470
Postfach 1 20
67114 Limburgerhof
☎ (0621)60-28151 FAX (0621)60-27176

Meier, Anja
Universität Bonn
Institut für Pflanzenkrankheiten
Nußallee 9
53115 Bonn
☎ (0228)73-5280 FAX (0228)73-2442

Meister, Ute
Institut für Getreideverarbeitung
Arthur-Scheunert-Allee 40/41
14558 Bergholz-Rehbrücke
☎ (033200)89136 FAX (033200)89220

Meyer, Andreas
Universität Kiel
Institut für Phytopathologie
Hermann-Rodewald-Str. 9
24118 Kiel
☎ (0431)880-4559 FAX (0431)880-1583

Meyer, Karsten
Technische Universität München
Lehrstuhl für Tierhygiene
Hohenbachernstr. 15
85354 85354 Freising
☎ (08161)71-4196 FAX (08161)71-4516

Dr. Meyer, Rolf
LUA Dresden
PF 200 274
01192 Dresden
☎ (0351)8144-464 FAX (0351)8144-497

Dr. Mietke, Henriette
Sächs. Landesanstalt für Landwirtschaft
FB-LU
Gustav-Kühn-Str. 8
04159 Leipzig
☎ (0341)9174-248 FAX (0341)9174-211

Dipl.-Ing. Moser, Maximilian
Meistermarken GmbH
Hausener Str. 22
89233 Neu-Ulm
☎ (07307)944-365 FAX (07307)367

Dr. Müller, Claudia
Versuchs- und Lehranstalt für
Brauerei in Berlin (VLB)
Seestr. 13
13353 Berlin
☎ (030)45 080 234 FAX (030)45 313 90

Prof. Dr. Müller, Hans-Martin
Universität Hohenheim
Institut für Tierernährung (450)
Emil-Wolff-Str. 10
70599 Stuttgart
☎ (0711)459-2416 FAX (0711)459-2421

Neier, Susanne
Lebensmittelchemisches Institut des
Bundesverbandes
der Dt. Süßwarenindustrie e. V.
Adamsstr. 52-54
51063 Köln
☎ (0221)623061 FAX (0221)610477

Nolte, Andreas
SGS Controll-Co.m.b.H.
AGRI-LABOR Bremen
Emder Str. 10 / Fabrikenufer
28217 Bremen
☎ (0421)38798-30
FAX (0421)38798-51; -50

Dr. Oldenburg, Elisabeth
Bundesforschungsanstalt für
Landwirtschaft (FAL)
Bundesallee 50
32116 Braunschweig
☎ (0531)596-420 FAX (0531)596-320
oldenburg@gff.fal.de

Prof. Dr. Özpinar, Haydar
Universität Instanbul
Veterinärmedizinische Fakultät
Institut für Tierernährung u.
ernährungsbedingte Krankheiten
Avcilar
TR - ISTANBUL 34850
☎ u. FAX (+90)212-591-6996
hozpinar@istanbul.edu.tr

Dr. Petracco, Marino
ILLYCAFFE
Via Flavia 110
I - TRIESTE
☎ (+39)40-3890-397
FAX (+39)40-3890-490

Prof. Dr. Petzinger, Ernst
Justus-Liebig-Universität
Institut für Pharamkologie und Toxikologie
Frankfurter Str. 107
35392 Gießen
☎ (0641)99-38400 FAX (0641)99-38389
ernst.petzinger@vetmed.uni-giessen.de

Prof. Dr. Podlesak, Wolfgang
Erzeugergemeinschaft Qualitätsgetreide
Thüringen
Escherodaer Straße
99518 Niedertrebra
☎ (036461)248-0

Dr. Preining, Franz
Garant Tiernahrung GmbH
Raiffeisenstr. 3
A - 3380 PÖCHLARN
☎ (+43)27572281-302
FAX (+43)27572281-350

Dr. Razzazi, Ebrahim
Veterinärmedizinische Universität Wien
Institut für Ernährung
Veterinärplatz 1 ev'
A - 1210 WIEN
☎ (+43)1-25077-3216
FAX (+43)1-25077-3290

Rehde, Giovanna
Institut für Agrartechnik Bornim e. V.
Max-Eyth-Allee 100
14469 Bornim
☎ (0331)5699-114

Dr. Reutter, Matthias
LUFA Kiel
Gutenbergstr. 75-77
24116 Kiel
☎ (0431)1228-0 FAX (0431)1228-498

Dr. Richter, Wolfgang
Bayer. Landesanstalt für Tierzucht, Grub
Postfach 1180
85580 Poing
☎ (089)99141-0 FAX (089)99141-105
richte@blt.bayern.de

Dr. Rosner, Heino
Bundesinstitut für gesundheitlichen
Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
FB 4, Jena
Naumburger Str. 96 a
07743 Jena
☎ (03641)804-265 FAX (03641)804-228
h.rosner@bgvv.de

Rössler, Tanja
Universität Hohenheim
Institut für Tierernährung (450)
Emil-Wolff-Str. 10
70599 Stuttgart
☎ (0711)459-2413 FAX (0711)459-2421

Ruttmann, Klaus
KLAUS RUTTMANN GmbH
Sales and Marketing
Distributor and European Sales
Manager of VICAM
Rupertistr. 54
22609 Hamburg
☎ (040)825831 FAX (040)820713
klaus-ruttmann@t-online.de

Sauvant, Christoph
Universität Würzburg
Physiologisches Institut
Röntgenring 9
97070 Würzburg
☎ (0931)31-2724 FAX (0931)31-2741

Schartner, Ernst
NOACK GmbH
Auhofstr. 190
A - 1130 WIEN
☎ (+43)-1-8775455 FAX (+43)-1-8765443
eschartner@noackwien.co.at

Prof. Dr. Schenkel, Hans
Universität Hohenheim
Landesanstalt für Landwirtschaftliche Chemie (710)
Emil-Wolff-Str. 14
70599 Stuttgart
☎ (0711)459-2671 FAX (0711)459-3495
schenkel@710lachemie.lach.uni-hohenheim.de

Dr. Schmidt, Rainer
Mycotoxin Research
Verlag & Werbeagentur
Saarstr. 52
55122 Mainz
☎ (06131)3745612 FAX (06131)381314

Schneider, Jörg
Eidg. Forschungsanstalt für Nutztiere
CH - 1725 POSIEUX
☎ (+41)-26-4077-111
FAX (+41)-26-4077-300
joerg.schneider@rap.admin.ch

Schneider, Liane
IFA Tulln
Analytikzentrum
Konrad-Lorenz-Str. 20
A - 3430 TULLN
☎ (+43)2272-66280-414, -458
FAX (+43)2272-66280-403

Dr. Schöber-Butin, Bärbel
Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland
Messeweg 11/12
38104 Braunschweig
☎ (0531)299-4530 FAX (0531)299-3008

Dr. Schollenberger, Margit
Universität Hohenheim
Institut für Tierernährung (450)
Emil-Wolff-Str. 10
70599 Stuttgart
☎ (0711)459-2407 FAX (0711)459-2421

Dr. Schuster, Manfred
Bayerische Landesanstalt für Tierzucht
Prof. Dürrwaechter Platz 1
85586 Poing
☎ (089)99141-460 FAX (089)99141-105
schust@blt.bayern.de

Dr. Schwerdt, Gerald
Universität Würzburg
Physiologisches Institut
Röntgenring 9
97070 Würzburg
☎ (0931)31-2724 FAX (0931)31-2741

Dr. Semar, Martin
BASF AG
Agrarzentrum Limburgerhof
Carl-Bosch-Str. 64
67114 Limburgerhof
☎ (0621)6027662 FAX (0621)6028135

Simmler-Hübenthal, Hubert
Süd-Chemie AG
Ostenriederstr. 15
85368 Moosburg
☎ (08761)82-388 FAX (08761)82-339

Dr. Speakman, John-Brian
Agrarzentrum der BASF AG
AP/RF - Li 470
Postfach 1 20
67114 Limburgerhof
☎ (0621)60-27641 FAX (0621)60-27176
john-bryan.speakman@ap.x400.basf-ag.de

Dr. Stocker, Stefan
Landesagentur für Umweltschutz
Amt für Lebensmittelanalysen
A.-Alagi-Str. 5
I - 39100 BOZEN
FAX (+39)471-283-264

Dr. Taschan, Hasan
Staatl. Medizinal-, Lebensmittel- und Veterinäruntersuchungsamt Mittelhessen
Marburger Str. 54
35396 Gießen
☎ (0641)3006-0 FAX (0641)3006-18

Dr. Thalmann, Alfred
LUFA Augustenberg
PF 43 02 30
76217 Karlsruhe
☎ (0721)9468-160 FAX (0721)9468-112

Dr. Thielert, Gerhard
Chem. Landesuntersuchungsanstalt Sigmaringen
Fidelis-Graf-Str. 1
72488 Sigmaringen
☎ (07571)732-696 FAX (07571)732-614

Dipl.-Ing. Tiebach, Reinhard
Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
Thielallee 88-92
14195 Berlin
☎ (030)8412-3363
r.tiebach@bgvv.de

Dr. Usleber, Ewald
LMU München
Tierärztliche Fakultät
Lehrstuhl für Hygiene und Technologie der Milch
Veterinärstr. 13
80539 München
☎ (089)2180-2256 FAX (089)2180-3793
e.usleber@mh.vetmed.uni-muenchen.de

Dr. Valenta, Hana
Institut für Tierernährung, FAL
Bundesallee 50
38116 Braunschweig
☎ (0531)596-445; -433
FAX (0531)596-376
valenta@te.fal.de

Dr. Weber, Rudolf
Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin
Thielallee88-92
14195 Berlin
☎ (030)8412-3298 FAX (030)8412-3685
r.weber@bgvv.de

Dr. Weissgerber, Christoph
RdH Laborchemikalien GmbH & Co KG
Wunstorfer Str. 40
30926 Seelze
☎ (05137)8238-557 FAX (05137)8238-843

Dr. Werner, Gebhard
Hess. Landw. Versuchsanstalt
Am Versuchsfeld 13
34128 Kassel
☎ (0561)9888-256; -251
FAX (0561)9888-300

PD Dr. Wild, Dieter
Bundesanstalt für Fleischforschung
Institut für Mikrobiologie und Toxikologie
E.-C.-Baumann-Str. 20
95326 Kulmbach
☎ (09221)803-229 FAX (09221)803-331

Dr. Wilkens, Jochen
Tchibo
Frisch-Röst-Kaffee GmbH
Abt. Marketing Food Forschung & Entwicklung
Süderstr. 293
20537 Hamburg
☎ (040)6387-3208 FAX (040)6387-3245

Wölfel, Georg
IFA Tulln
Analytikzentrum
Konrad-Lorenz-Str. 20
A - 3430 TULLN
☎ (+43)2272-66280-552
FAX (+43)2272-66280-403

Woese, Katrin
LVUA Halle
Freiimfelder Str. 66-67
06112 Halle/S.
☎ (0345)5643-434 FAX (0345)5643-439

Dr. Wolf, Hanna
Landesveterinär- und
Lebensmitteluntersuchungsamt
Demminer Str. 46-48
17034 Neubrandenburg
☎ (0395)4222011 FAX (0395)4222016

Dr. Wolff, Joachim
Bundesanstalt für Getreide-, Kartoffel- und
Fettforschung
PF 1354, Institut III
32703 Detmold
☎ (05231)741-131 FAX (05231)741-130
betsche.bagkf@t-online.de

Dr. Zimmerli, Bernhard
Bundesamt für Gesundheit
Abt. Lebensmittelwissenschaft
CH - 3003 BERN
☎ (+41)31-322-9577
FAX (+41)31-322-9574

Mehren, Gabriele
Raiffeisenstr. 3
40764 Langenfeld
☎ (02173)89050 FAX (02173)890577
mehren@abimed.de

Für die Unterstützung danken wir den Ausstellern und/oder Sponsoren:

Tchibo Frisch-Röst-Kaffee GmbH
Procter & Gamble European Service GmbH
Coring System GmbH
Klaus Ruttmann GmbH (Vicam)
R-Biopharm GmbH
RdH Laborchemikalien GmbH & Co. KG
Transia GmbH
Kurt Retsch GmbH & Co. KG
Sarstedt AG & Co.
Merck KGaA
Shimadzu Europa GmbH
Oxoid GmbH
Dionex Softron GmbH
Abimed Analysen-Technik GmbH