

# **Jahresversammlung 2005**

## **Assemblée annuelle**

**Mykotoxine in Lebensmitteln  
und in der Umwelt**  
**Mycotoxines dans les aliments et  
l'environnement**

**Unterlagen wissenschaftlicher Teil**  
**Documentation partie scientifique**

**Teilnehmerliste**  
**Liste des participants**

**8.-9. September / 8-9 Septembre 2005**

**Parkhotel Inseli Romanshorn**



## Programm

### Donnerstag, 8. September

- 13.15 Begrüssung und Eröffnung der Jahresversammlung  
*Renato Amadò, Präsident SGLUC, Zürich*
- 13.20 – 14.00 Mykotoxine in Lebensmitteln – Aspekte aus dem Vollzug  
*Helmut Kandler, Kantonales Laboratorium, Zürich, Schweiz*
- 14.00 – 14.40 Mykotoxine in der Umwelt  
*Thomas D. Bucheli, Marianne Erbs, Niccolo Hartmann, Susanne Vogelgsang, Felix E. Wettstein, Hans-Rudolf Forrer, Agroscope FAL Reckenholz, Zürich, Schweiz*
- 14.40 – 15.00 Toxigene Fusarien in Getreide: Bedeutung, Monitoring und Möglichkeiten zur Verringerung von Kontaminationen  
*Susanne Vogelgsang, Hans-Rudolf Forrer, Agroscope FAL Reckenholz, Zürich, Schweiz*
- 15.00 – 15.20 Freshness of Fruits and Vegetables: Consumer Perception and Relationship to Sensory and Physico-Chemical Properties  
*Sandrine Péneau<sup>1</sup>, Ernst Höhn<sup>2</sup>, Felix Escher<sup>1</sup>, Jeannette Nuessli<sup>1,1</sup>, Institut für Lebensmittel- und Ernährungswissenschaften, ETH Zürich, Zürich, Schweiz,<sup>2</sup> Agroscope FAW Wädenswil, Wädenswil, Schweiz*
- 15.20 – 15.30 Pause
- 15.30 - 16.00 Generalversammlung der SGLUC
- 16.15 Abfahrt zur Betriebsbesichtigung der Mosterei Möhl AG, 9320 Arbon
- 19.30 Apéro, anschliessend gemeinsames Nachtessen im Parkhotel Inseli

### Freitag, 9. September 2005

- 09.00 – 09.40 EU Legislation on mycotoxins in food and feed  
*Frans Verstraete, European Commission, Health and Consumer Protection Directorate-General, B-1049 Brussels, Belgium*
- 09.40 – 10.00 Polyetherionophore Kokzidiostatika in Eiern  
*Pius Kölbener, Kantonales Amt für Lebensmittelkontrolle, St. Gallen, Schweiz*
- 10.00 – 10.20 Lebensmittelbestrahlung - ein Überblick  
*Peter Schmid, Claudius Gemperle, Kantonales Laboratorium Aargau, Aarau, Schweiz*
- 10.20 – 11.00 Pause und Postersession
- 11.00 – 11.40 Méthodes modernes pour l'analyse des mycotoxines  
*Alain Pittet, Centre de Recherche Nestlé, Lausanne, Suisse*
- 11.40 – 12.00 Confirmatory Analysis of Ergot Alkaloids in Rye Flour by Liquid Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry  
*Rayane Mohamed<sup>1</sup>, Eric Gremaud<sup>1</sup>, Jean-Claude Tabet<sup>2</sup>, Philippe A. Guy<sup>1,1</sup>, Nestlé Research Center Lausanne, Switzerland,<sup>2</sup> Laboratoire de Chimie Biologique Organique et Structurale, Université Pierre & Marie Curie, Paris, France*
- 12.00 – 12.20 Pektin als Nahrungsfaser  
*Marianna Gulfi, Eva Arrigoni, Renato Amadò, Institut für Lebensmittel- und Ernährungswissenschaften, ETH Zürich, Zürich, Schweiz*
- 12.30 Mittagspause und Postersession

- 14.00 – 14.40 Mykotoxine mit der Niere als Zielorgan  
*Evelyn O'Brien, Umwelttoxikologie, Universität Konstanz, Konstanz, Deutschland*
- 14.40 – 15.00 Recent advances on the potential genotoxicity of ochratoxin A  
*Thierry Delatour, Maricel Marin-Kuan, Benoît Schilter and Christophe Cavin, Nestlé Research Center Lausanne, Switzerland*
- 15.00 – 15.20 Ochratoxin A: Identification of a new mechanism of action with significant relevance for risk assessment  
*Christophe Cavin, Maricel Marin-Kuan, Thierry Delatour and Benoît Schilter, Nestlé Research Center Lausanne, Switzerland*
- 15.20 Schlussbemerkungen, Ende der Tagung

### **Poster:**

Répartition du DON dans les fractions de mouture du blé  
*Brigitte Häller-Gärtner, Geert Kleijer, Fabio Mascher-Frutschi, Station fédérale de recherches agronomiques d'Agroscope Changins Nyon, Suisse*

Zearalenongehalte in Lebensmitteln; Unsicherheiten trotz Immunoaffinitäts-Clean up  
*Peter Rhy, Otmar Zoller, Bundesamt für Gesundheit, Abteilung Lebensmittelwissenschaft, Bern, Schweiz*

Aflatoxin M1 in Schweizermilch ein vernachlässigbares Risiko!  
*Karl Strebel, Kantonales Laboratorium Zürich, Zürich, Schweiz*

Bestimmung organischer Säuren in Lebensmitteln mittels Ionenausschlusschromatographie  
*Petra Walter Kantonales Laboratorium Thurgau, Frauenfeld, Schweiz*

## Programme

### Jeudi, 8. Septembre 2005

- 13.15 Bienvenue et ouverture de l'assemblée  
*Renato Amadò, Président de la SSCAE, Zurich*
- 13.20 – 14.00 Mykotoxine in Lebensmitteln – Aspekte aus dem Vollzug  
*Helmut Kandler, Kantonales Laboratorium, Zürich, Schweiz*
- 14.00 – 14.40 Mykotoxine in der Umwelt  
*Thomas D. Bucheli, Marianne Erbs, Niccolo Hartmann, Susanne Vogelgsang, Felix E. Wettstein, Hans-Rudolf Forrer, Agroscope FAL Reckenholz, Zürich, Schweiz*
- 14.40 – 15.00 Toxigene Fusarien in Getreide: Bedeutung, Monitoring und Möglichkeiten zur Verringerung von Kontaminationen  
*Susanne Vogelgsang, Hans-Rudolf Forrer, Agroscope FAL Reckenholz, Zürich*
- 15.00 – 15.20 Freshness of Fruits and Vegetables: Consumer Perception and Relationship to Sensory and Physico-Chemical Properties  
*Sandrine Péneau<sup>1</sup>, Ernst Höhn<sup>2</sup>, Felix Escher<sup>1</sup>, Jeannette Nuessli<sup>1,1</sup> Institut für Lebensmittel- und Ernährungswissenschaften, ETH Zürich, <sup>2</sup> Agroscope, FAW Wädenswil*
- 15.20 – 15.30 Pause
- 15.30 - 16.00 Assemblée générale de la SSCAE
- 16.15 Départ pour la visite de la cidrerie Möhl AG, 9320 Arbon
- 19.30 Apéritif suivi du repas du soir en commun au Parkhotel Inseli

### Vendredi, 9. Septembre 2005

- 09.00 – 09.40 EU Legislation on mycotoxins in food and feed  
*Frans Verstraete, European Commission, Health and Consumer Protection Directorate-General, B-1049 Brussels, Belgium*
- 09.40 – 10.00 Polyetherionophore Kokzidiostatika in Eiern  
*Pius Kölbener, Kantonales Amt für Lebensmittelkontrolle, St. Gallen, Schweiz*
- 10.00 – 10.20 Lebensmittelbestrahlung - ein Überblick  
*Peter Schmid, Claudius Gemperle, Kantonales Laboratorium Aargau, Aarau, Schweiz*
- 10.20 – 11.00 Pause et session «posters»
- 11.00 – 11.40 Méthodes modernes pour l'analyse des mycotoxines  
*Alain Pittet, Centre de Recherche Nestlé, Lausanne, Suisse*
- 11.40 – 12.00 Confirmatory Analysis of Ergot Alkaloids in Rye Flour by Liquid Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry  
*Rayane Mohamed<sup>1</sup>, Eric Gremaud<sup>1</sup>, Jean-Claude Tabet<sup>2</sup>, Philippe A. Guy<sup>1</sup>, <sup>1</sup> Nestlé Research Center Lausanne, Switzerland, <sup>2</sup> Laboratoire de Chimie Biologique Organique et Structurale, Université Pierre & Marie Curie, Paris, France*
- 12.00 – 12.20 Pektin als Nahrungsfaser  
*Marianna Gulfi, Eva Arrigoni, Renato Amadò, Institut für Lebensmittel- und Ernährungswissenschaften, ETH Zürich, Zürich, Schweiz*
- 12.30 Pause de midi et session «posters»

- 14.00 – 14.40 Mykotoxine mit der Niere als Zielorgan  
*Evelyn O'Brien, Umwelttoxikologie, Universität Konstanz, Konstanz, Deutschland*
- 14.40 – 15.00 Recent advances on the potential genotoxicity of ochratoxin A  
*Thierry Delatour, Maricel Marin-Kuan, Benoît Schilter and Christophe Cavin, Nestlé Research Center Lausanne, Switzerland*
- 15.00 – 15.20 Ochratoxin A: Identification of a new mechanism of action with significant relevance for risk assessment  
*Christophe Cavin, Maricel Marin-Kuan, Thierry Delatour and Benoît Schilter, Nestlé Research Center Lausanne, Switzerland*
- 15.20 Conclusions et remarques finales, fin de l'assemblée

### **Poster:**

Répartition du DON dans les fractions de mouture du blé

*Brigitte Häller-Gärtner, Geert Kleijer, Fabio Mascher-Frutschi, Station fédérale de recherches agronomiques d'Agroscope Changins Nyon, Suisse*

Zearalenongehalte in Lebensmitteln; Unsicherheiten trotz Immunoaffinitäts-Clean up

*Peter Rhyn, Otmar Zoller, Bundesamt für Gesundheit, Abteilung Lebensmittelwissenschaft, Bern, Schweiz*

Aflatoxin M1 in Schweizermilch ein vernachlässigbares Risiko!

*Karl Strebel, Kantonales Laboratorium Zürich, Zürich, Schweiz*

Bestimmung organischer Säuren in Lebensmitteln mittels Ionenausschlusschromatographie

*Petra Walter Kantonales Laboratorium Thurgau, Frauenfeld, Schweiz*

## Mykotoxine in Lebensmitteln – Aspekte aus dem Vollzug

### Helmut Kandler

Kantonales Labor Zürich, Fehrenstrasse 15, 8032 Zürich

E-mail: [helmut.kandler@klzh.ch](mailto:helmut.kandler@klzh.ch)

Mykotoxine sind sekundäre Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen. Diese natürlichen Gifte sind in Lebensmitteln grundsätzlich unerwünscht, aber im Gegensatz zu umweltbedingten Kontaminanten (Pestizide, PCB's, PAK's etc.) auch unvermeidbar. Aus Sicht des Verbraucherschutzes sind ca. 20 Mykotoxine, welche 6 Stoffgruppen zugeordnet werden können, als Lebensmittelkontaminanten relevant. Dabei handelt es sich um Aflatoxine (Aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> und G<sub>2</sub>; Aflatoxin M<sub>1</sub>), Ochratoxin A, Patulin, Trichothecene (Deoxynivalenol, Nivalenol, T2-Toxin, HT-Toxin), Zearalenon sowie Fumonisine (Fumonisin B<sub>1</sub> und B<sub>2</sub>).

Mehr als 100 Länder haben Bestimmungen zur Kontrolle von Mykotoxinen (1,2). In der Schweiz sind Mykotoxine in Liste 5 der Fremd- und Inhaltsstoffverordnung geregelt. Dabei wird – basierend auf einem Konzept der Mikrobiologie – zwischen Toleranz- und Grenzwerten unterschieden. Zum aktuellen Zeitpunkt sind die schweizerischen Mykotoxinhöchstwerte allerdings nur bedingt kompatibel zu den Höchstwerten der EU.

Seit Einführung der provisorischen Aflatoxin-Höchstmengenwerte Ende 1976 in der Schweiz hat sich die Situation teilweise merklich verbessert. So ist die mittlere Belastung beispielsweise bei Nussprodukten, Kaffee oder auch Trockenfeigen aufgrund konsequenter Anwendung des HACCP-Konzeptes und Verbesserung der Produktionsprozesse (Trocknung, Lagerhaltung, Sortierung etc.) gesunken. Auf der anderen Seite sind im Zusammenhang mit dem globalisierten Handel neue „Problemprodukte“ (z.B. iranische Pistazien, ägyptische Erdnüsse) aufgetaucht. Wachsende Erkenntnisse und verbesserte Analysemethoden richteten den Fokus zudem auf weitere bisher weniger beachtete Lebensmittel (z.B. Ochratoxin A in Capsicum-Gewürzen oder süssholzhaltigen Produkten, Fumonisine in Mais- und Maisprodukten).

Die Überwachung der Mykotoxinhöchstwerte erfolgt durch die Kantonalen Laboratorien. Hierzu werden gezielt Stichprobenkontrollen von „kritischen“ Waren aus dem Einzelhandel sowie den Lebensmittelbetrieben aber auch Grenzkontrollen im Auftrag des Bundesamtes für Gesundheit durchgeführt. Bis dato erfolgen amtliche Kontrollen selten auf der Basis einer repräsentativen Probenahme. Ein eindeutiger Rückschluss auf die Qualität des der Stichprobe zugrunde liegenden Warenloses ist aus den amtlichen Untersuchungen daher nur mit Einschränkungen möglich. Nichts desto trotz kann aus einer genügend grossen Anzahl von Untersuchungsergebnissen (auch zeitlich versetzt), ungeachtet der Probenahmeproblematik, eine Beurteilung der auf dem Markt befindlichen Ware vorgenommen werden (3).

Im Gegensatz zur Beurteilung der Marktsituation steht die Begutachtung eines Warenloses (einige hundert Kilogramm bis mehrere 100 Tonnen) im Rahmen einer Wareneingangskontrolle. Aufgrund der sehr inhomogenen Verteilung von Mykotoxinen bedarf es für eine aussagekräftige Beurteilung (Repräsentativität) zwingend sehr grosser Bemusterungsmengen (z.B. 30 kg zur

Beurteilung von 25 t Erdnüssen). Probenahmerapport und Analysenzertifikat bilden zusammen eine Einheit. Nur bei Kenntnis beider Informationen ist eine Warenlosbeurteilung in Bezug auf Mykotoxine überhaupt möglich.

Die in der EU in den vergangenen Jahren erlassenen Richtlinien (4) zur (repräsentativen) Probenahme von Mykotoxinen in Lebensmitteln für die amtliche Kontrolle beinhalten neben klaren Anforderungen an die Analytik (Wiederfindung, Wiederholbarkeit, Vergleichbarkeit) die Forderung, diese Richtlinien auch auf der Stufe Einzelhandel umzusetzen. Bis dato bereitet diese Forderung aber erhebliche Umsetzungsschwierigkeiten. Des Weiteren sind innerhalb der EU-Mitgliedstaaten neuerdings die Analysenergebnisse unter Berücksichtigung der Wiederfindung und der (erweiterten) Messunsicherheit zu bewerten. Es ist zu erwarten, dass diese Forderungen in Zukunft auch im "Schweizer Vollzug" Eingang finden werden.

### **Literatur**

1. VISWANATH P. (2004). Mycotoxin Regulations for Food. *J. Food Sci. Technol.*, 41, 115-123.
2. Van EGMOND HP., DEKKER WH. (1995). Worldwide regulations for mycotoxins in 1994. *Nat. Toxins* 3(4), 332-336.
3. HASEN E., WAIBEL J. (1978). Zur Probenahme für die Ermittlung des Aflatoxingehaltes bei Erdnuss- und anderen in der Aflatoxin-VO genannten Samenkernen aus Gebinden und Fertigpackungen. *alimenta* 17, 139 – 143.
4. Gesetzgebung, Höchstmengen, Probenahmerichtlinien: siehe [www.mykotoxin.de](http://www.mykotoxin.de)

## Östrogene Mykotoxine in der Umwelt

**Thomas D. Bucheli, Marianne Erbs, Niccolo Hartmann, Susanne Vogelgsang,  
Felix E. Wettstein, Hans-Rudolf Forrer**

Agroscope FAL Reckenholz, Eidgenössische Forschungsanstalt für Agrarökologie und Landbau,  
Reckenholzstrasse 191, 8046 Zürich  
E-Mail: thomas.bucheli@fal.admin.ch

Pilze der Gattung *Fusarium* befallen Getreide wie Mais oder Weizen und bilden giftige Stoffwechselprodukte. Weltweit wird zunehmend von *Fusarium* Infektionen und Mykotoxinbelastungen bei Getreide berichtet (1,2). Mögliche Ursachen sind veränderte Anbautechniken und der Klimawandel. Neben anderen Mykotoxinen produzieren einzelne *Fusarium* Arten auch das östrogen wirksame Zearalenon (ZON), dessen Gefahr für Mensch und Tier seit Jahrzehnten bekannt ist (3). Nahrungs- und Futtermittel werden deshalb immer wieder auf ZON und andere Mykotoxine untersucht. Diese Substanzen können vermutlich aber auch in die Umwelt gelangen. Auf Grund ihrer chemisch-physikalischen Eigenschaften ist bei Regen eine Abschwemmung aus pilzbefallenen Pflanzen und im Feld verbleibenden Pflanzenresten in die Gewässer wahrscheinlich. Weitere mögliche Quellen sind Abwässer der Nahrungs- und Futtermittelindustrie, der Einsatz eines ZON-Metaboliten ( $\alpha$ -Zearalanol) in der Viehzucht, sowie Rückstände in menschlichen und tierischen Ausscheidungen. Tatsächlich ergaben erste Messungen von ZON und seinen Metaboliten in Kläranlagenausflüssen und Fliessgewässern Konzentrationen im Bereich derjenigen von natürlichen Östrogenen (4-6). Damit könnte diese Substanzklasse wesentlich zur Gesamtbelastung von Oberflächengewässern mit hormonaktiven Stoffen beitragen.

Der Vortrag fasst das bisherige Wissen über ausgewählte Mykotoxine in der Umwelt zusammen und präsentiert ein gegenwärtig an der FAL interdisziplinär bearbeitetes NFP50-Projekt zu diesem Thema. Dieses hat zum Ziel, die wichtigsten Eintragspfade von hormonaktiven Mykotoxinen in die Umwelt zu erfassen, die eingetragenen Mengen zu quantifizieren und die ökotoxikologische Bedeutung dieser Prozesse zu beurteilen. Die laufenden Aktivitäten umfassen Feldstudien zur Messung des quantitativen Eintrags von ZON aus einem *Fusarium* befallenen Feld mit einer alternierenden Mais/Weizen-Rotation, sowie ein systematisches Monitoring von Fliessgewässern der Schweiz.

Das weltweite Problem der *Fusarium* Infektion von Getreide wurde bisher vor allem unter dem Aspekt der Nahrungs- und Futtermittelsicherheit wahrgenommen. Das vorliegende Projekt beschäftigt sich erstmals mit den damit einhergehenden möglichen Umweltrisiken. Es leistet einen Beitrag zur Aufschlüsselung des chemischen Cocktails in unseren Gewässern und zur korrekten Zuordnung von beobachteten hormonellen Effekten.

Ein Parallelprojekt der FAL (siehe nachfolgenden Vortrag von Dr. S. Vogelgsang) untersucht unter anderem den Einfluss verschiedener Getreideanbautechniken auf den *Fusarium* Befall und erarbeitet Empfehlungen für die landwirtschaftliche Praxis, welche künftig auch die Umweltbelastung mit solchen Giften minimieren könnten.

**Literatur**

1. WINDELS, C.E. (2000). Economic and social impacts of *Fusarium* head blight: changing farms and rural communities in the northern great plains. *Phytopathology* 90, 17-21.
2. PARRY, D.W., JENKINSON, P., MCLEOD, L. (1995). *Fusarium* ear blight (scab) in small grain cereals – a review. *Plant Pathol.* 44, 207-238.
3. STOB, M., BALDWIN, R.S., TUIITE, J., ANDREWS, F.N., GILLETTE, K.G. (1962). Isolation of an anabolic, uterotrophic compound from corn infected with *Gibberella zeae*. *Nature* 196, 1318.
4. LAGANA, A., FAGO, G., MARINO, A., SANTARELLI, D. (2001). Development of an analytical system for the simultaneous determination of anabolic macrocyclic lactones in aquatic environmental samples. *Rapid Commun. Mass Sp.* 15, 304-310.
5. SPENGLER, P. (2001). Identifizierung und Quantifizierung von Verbindungen mit östrogenen Wirkung im Abwasser. Dissertation. Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte und Abfallwirtschaft. Universität Stuttgart, Deutschland.
6. TERNES, T.A., EGGERT, T., MEISENHEIMER, M. (2001). Pflanzliche hormonell wirksame Stoffe in der aquatischen Umwelt und deren Verhalten bei der Trinkwasseraufbereitung. Abschlussbericht. ESWE-Institut für Wasserforschung und Wassertechnologie GmbH. Wiesbaden, Deutschland.

## **Toxigene Fusarien in Getreide: Bedeutung, Monitoring und Möglichkeiten zur Verringerung von Kontaminationen**

**Susanne Vogelgsang, Hans-Rudolf Forrer**

Agroscope FAL Reckenholz, Eidgenössische Forschungsanstalt für Agrarökologie und Landbau, Reckenholzstr. 191, 8046 Zürich

E-mail: susanne.vogelgsang@fal.admin.ch

Die Bedeutung, Schadwirkungen und Mykotoxine der wichtigsten Getreide-Fusarien der Schweiz werden beschrieben sowie Möglichkeiten zur Regulierung aufgezeigt. Bei Weizen tritt in der Schweiz am häufigsten *Fusarium graminearum* (FG) auf. Diese Art befällt auch Mais, welcher dem Pilz nach der Ernte durch auf dem Boden verbleibende Maisstoppeln ideale Überwinterungsmöglichkeiten bietet. Dadurch ist bei Weizen die Gefahr eines Befalls durch FG und die Kontamination mit dem Toxin Deoxynivalenol (DON) nach Maisvorfrucht und pflugloser Feldbestellung erhöht. Dies konnten wir mit einer Praxisuntersuchung von 2001-2004 zum Auftreten von Ährenfusariosen im Kanton Aargau nachweisen. In drei von vier Jahren fanden wir bei direkt gesättem Weizen nach Maisvorfrucht starken Befall durch FG und erhöhte DON-Werte – auch bei wenig anfälligen Sorten. Damit trotz bodenschonender Bewirtschaftung Fusarien-Probleme vermieden werden können, müssen wirksame Kombinationen von regulierenden Massnahmen entwickelt werden.

Deshalb erarbeiten und prüfen wir seit 2003 unter Praxisbedingungen Verfahren zur Reduktion von Infektionsquellen bei Direktsaat und reduzierter Bodenbearbeitung. Sorgfältiges Zerkleinern sowie oberflächliches Einarbeiten des Maisstrohs hat zum Ziel, die Rotte des Pflanzenmaterials zu beschleunigen und damit die Überdauerung der Fusarien zu reduzieren. Um den Einfluss verschiedener Anbaufaktoren auf einen Fusarien-Befall zu quantifizieren und zur Optimierung von Anbausystemen entwickeln und nutzen wir FusaProg, ein Prognosesystem für FG bzw. den DON-Gehalt von Weizen.

Getreide wird neben FG von anderen Fusarien-Arten befallen, welche zwar weniger häufig vorkommen, jedoch Toxine bilden, die im Vergleich zu DON deutlich giftiger sind. Darum untersuchen wir derzeit die Bedeutung von *F. poae* und *F. avenaceum* und das Auftreten derer Toxine in verschiedenen Weizensorten, wie beispielsweise Nivalenol, Diacetoxyscirpenol und Moniliformin. Erste Ergebnisse dazu werden vorgestellt und diskutiert.



## **Frische von Obst und Gemüse: Wahrnehmung durch den Konsumenten und Beziehung zu den Produkteigenschaften**

**Sandrine Péneau<sup>1</sup>, Ernst Höhn<sup>2</sup>, Felix Escher<sup>1</sup>, Jeannette Nuessli<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Institut für Lebensmittel- und Ernährungswissenschaften, ETH Zürich, Zürich

<sup>2</sup>Agroscope FAW Wädenswil, Wädenswil

E-Mail: sandrine.peneau@ilw.agrl.ethz.ch

(Vortrag in englischer Sprache)

Die Frische stellt für den Konsumenten ein massgebliches Kriterium für die Akzeptanz von Obst (in der Schweiz oft "Früchte" genannt) und Gemüse dar. In vielen Fällen entscheidet die Frische über Auswahl, Kauf und Konsum dieser Produkte. Allerdings ist nicht klar, was der Konsument unter Frische versteht, wie er sie wahrnimmt und welche Erwartungen er an die Beschaffenheit von frischem Obst und Gemüse stellt. Angesichts der grossen Bedeutung von Obst und Gemüse in der modernen Ernährung wurde der Frischeaspekt am Beispiel von Tafeläpfeln als der wichtigsten Lagerobstart, Karotten als dem wichtigsten Lagergemüse sowie Erdbeeren als einer saisonal wichtigen Frucht untersucht.

Die Konsumentenerhebungen mit Tafeläpfeln fanden in den Monaten November bis März im Rahmen der Ausstellung "Food Design" in Winterthur statt. Insgesamt 4'758 Teilnehmerinnen und Teilnehmerinnen gaben anhand von Äpfeln, die sechs Sorten umfassten und nach der Auslagerung unterschiedlich verpackt bis zu zwei Wochen aufbewahrt wurden, zu Protokoll, wie wichtig für sie verschiedene Kriterien bei der Auswahl von Äpfeln sind und welche Bedeutung einzelne sensorische Attribute für die Frische haben. Frische wurde tatsächlich zusammen mit Geschmack und Aroma am meisten als Auswahlkriterium von Äpfeln genannt, während die sensorische Qualität, beschrieben durch Geschmack, Knackigkeit und Saftigkeit, am meisten Bedeutung für die Beurteilung der Frische aufweist. Beim Verkosten der Apfelproben zeigte sich, dass die Wahrnehmung der Frische eng mit der Knackigkeit, der Saftigkeit, dem Aroma und der Beliebtheit der Frucht verknüpft ist.

Dieselben Apfelproben wurden zeitgleich von einem geschulten sensorischen Panel charakterisiert sowie mit Texturmessungen in der Festigkeit und Saftigkeit und analytisch im Gehalt an löslicher Trockensubstanz und titrierbarer Säure beurteilt. Die Resultate bestätigen, dass die Texturattribute Knackigkeit, Festigkeit, Saftigkeit und Nicht-Mehligkeit hauptsächlich zum Frischeeindruck beitragen. Die sensorisch und instrumentell ermittelten Texturdaten stimmten miteinander überein. Die Textureigenschaften sind ihrerseits massgeblich von der physiologischen Alterung der Früchte während der kommerziellen Lagerung und der Aufbewahrung im Verkaufsgeschäft resp. im Haushalt beeinflusst.

Ein methodisch ähnlicher Ansatz wurde für die Untersuchungen mit Erdbeeren und Karotten, allerdings mit einer kleineren, dafür besser begleiteten Konsumentengruppe gewählt. Erdbeeren von drei Sorten wurden am Tag der Ernte und nach einer Lagerung bis 9 Tage bei 0 °C, Karotten von zwei Sorten am Tag der Ernte und nach einer Lagerung bis 16 Tage bei 0 °C und bis 10 Tage bei 20 °C getestet. Parallel zu den sensorisch-analytischen und instrumentell-analytischen Messungen entwickelte ein kleines Panel eine Definition der Frische von Erdbeeren und Karotten und beurteilte

anschliessend die Frische der Erdbeer- und Karottenproben. Bei Erdbeeren scheint eine grössere Zahl von sensorischen Attributen wichtig für die Frische zu sein, vorab "nicht-welke Kelchblätter", Glanz, Druckstellen, Saftigkeit und "kein Gäraroma". Bei Karotten dominierten wiederum die Textureigenschaften, vor allem Nicht-Gummigkeit und Knackigkeit. Aber auch Saftigkeit, Nicht-Faserigkeit, Farbe und Karotten-Aroma sowie Abwesenheit von Fehl aroma und Bitterkeit sind wichtig für den Frischeeindruck.

Die meisten dieser Merkmale, welche für den Frischeeindruck eine Rolle spielen, sind auch für Erdbeeren und Karotten analog zu Äpfeln mit deren physiologischem Alter verknüpft. Allerdings ist die Beurteilung der Frische auf der Basis von sensorischen Attributen für beschränkt haltbare Obst- und Gemüsearten weniger eindeutig als für lange haltbare Produkte.

## EU legislation on mycotoxins in food and feed

### Frans Verstraete

European Commission  
 DG Health and Consumer protection, Brussels, Belgium  
 E-Mail: Frans.Verstraete@cec.eu.int

The EU harmonisation of legislation on contaminants, including mycotoxins, in food fulfils two essential objectives: the protection of public health as major objective but also to ensure the proper functioning of the internal EU-market.

Council Regulation (EEC) No 315/93 of 8 February 1993 laying down Community procedures for contaminants in food is the framework for the Community action on contaminants, including mycotoxins, in food. This Regulation does not apply to contaminants which are the subject of more specific Community rules such as pesticide residues, veterinary drug residues, ...

This Framework Regulation provides that:

- \* food containing a contaminant in an amount which is unacceptable from the public health viewpoint shall not be placed on the market.
- \* contaminant levels shall be kept as low as can reasonably be achieved by following good practices at all stages of the production chain (ALARA)
- \* in order to protect public health, maximum levels for specific contaminants shall be established where necessary (by comitology)
- \* provides for mandatory consultation of a scientific body (EFSA) for all provisions which may have an effect upon public health;

A scientific risk assessment comprises a hazard identification, toxicological evaluation and risk characterisation. A tolerable intake is the level of intake at which no harmful effects are expected to occur. In cases of genotoxic compounds, no safe level can be identified and therefore no tolerable intake can be set.

Through the exposure assessment the foods/food groups contributing significantly to the exposure are determined. The human exposure is assessed against the tolerable intake in order to define the measures to protect public health.

Based on the provisions and principles laid down in this framework Regulation, maximum levels for the following mycotoxins have been established at EU level: aflatoxin B1, aflatoxin total (B1, B2, G1 and G2), aflatoxin M1, ochratoxin A, patulin and the *Fusarium*-toxins deoxynivalenol, zearalenone, fumonisin B1+B2 and T-2 and HT-2 toxin.

Besides the establishment of maximum levels, also detailed rules for the sampling and methods of analysis for the official control have been established.

Besides the setting of maximum levels, codes of practice have been elaborated (patulin) or are under elaboration (*Fusarium* toxins) to ensure a high level of consumer protection

As the consequence of frequent findings of high levels of aflatoxins in some products originating from some third countries, specific safeguard measures have been taken imposing special conditions as regards the import of these products.

Directive 2002/32/EC of 7 May 2002 of the European Parliament and of the Council on undesirable substances in animal feed is the framework for the Community action on undesirable substances, including mycotoxins, in feed.

This Framework Directive provides that:

- \* products intended for animal feed may enter for use in the Community from third countries, be put into circulation and/or used in the Community only if they are sound, genuine and of merchantable quality and therefore when correctly used do not represent any danger to human health, animal health or to the environment or could adversely affect livestock production.
- \* in order to protect animal and public health and the environment, maximum levels for specific undesirable substances shall be established where necessary (by comitology)
- \* provides for mandatory consultation of a scientific body (EFSA) for all provisions which may have an effect upon public health.
- \* products intended for animal feed containing levels of an undesirable substance that exceed the established maximum level may not be mixed for dilution purposes with the same, or other, products intended for animal feed and may not be used for the production of compound feed.

Based on the provisions and principles laid down in this framework Directive, maximum levels for aflatoxin B1 and rye ergot have been established at EU level.

Guidance values are under discussion for ochratoxin A and the *Fusarium*-toxins deoxynivalenol, zearalenone and fumonisin B1+B2 in cereals and cereal products intended for animal feeding and for compound feedingstuffs (for sensitive animal species).

Furthermore discussions are ongoing to replace the current provisions on rye ergot (sclerotia) by specific maximum levels for some ergot alkaloids.

In the presentation, particular attention will be paid to the regulatory framework for mycotoxins in food and feed, the procedure for setting maximum levels (decision-making process) and the specific provisions on mycotoxins in food and feed.

## Polyetherionophore Kokzidiostatika in Eiern

### Pius Kölbener

Kant. Amt für Lebensmittelkontrolle (KAL), Blarerstr. 2, 9001 St. Gallen

E-mail: pius.koelbener@gd-kal.sg.ch

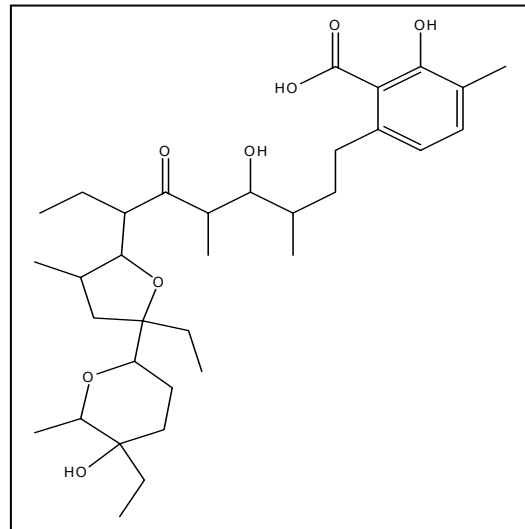
Die Kokzidiose ist eine bei Hühnern weitverbreitete Darmerkrankung, die durch einzellige Parasiten der Gattung *Eimeria* verursacht wird. Die Symptome befallener Tiere reichen je nach *Eimeria*-Art von schlechter Nahrungsaufnahme über Darmblutungen bis zum Tode. Da die Krankheit fäkal-oral übertragen werden kann, sind bei den gängigen Massentierhaltungen immer ganze Herden befallen. Als Prophylaxe hat sich die Verabreichung von Kokzidiostatika-haltigem Futter durchgesetzt. Polyetherionophore Kokzidiostatika (PIP) wie Lasalocid, Monensin, Narasin, Salinomycin und Maduramicin und Kokzidiostatika anderer chemischer Gruppen wie Nicarbazin sind gemäss Anhang 2 Liste A der Futtermittelbuchverordnung vom 10.6.1999 (Stand 25.3.04) als Zusatzstoffe in Futtermittel zugelassen. Die Zulassung beschränkt sich aber auf Masttiere. Die Abgabe von Futtermittel welches Lasalocid, Monensin oder Salinomycin enthält, ist auch für Junghennen bis 16 Wochen erlaubt. Für Legehennen ist die Anwendung verboten, da sich Kokzidiostatika in Eiern anreichern. So kann Futtermittel, das mit Kokzidiostatika verunreinigt ist, zu einer Kontamination der Eier führen (1).

Im Jahresbericht 2003 der CVUA Karlsruhe wird von einer Untersuchungsaktion berichtet in der 39 von 121 untersuchten Eiern und 34 von 84 Futtermitteln Verunreinigungen an Lasalocid nachgewiesen wurden. Ähnliches meldete das Kantonale Laboratorium Basel-Landschaft in seinem Jahresbericht 2004.

Um die Problematik in der Ostschweiz zu ermitteln wurde am KAL eine LC-MS/MS Methode zur quantitativen Bestimmung von Nicarbazin, Lasalocid, Monensin, Salinomycin, Narasin und Maduramicin eingeführt. Die Kokzidiostatika werden aus den aufgeschlagenen und homogenisierten Eiern mit Acetonitril essigsauer extrahiert. Nach dem Zentrifugieren des Eier-Acetonitril-Gemisches wird ein Aliquot des Überstandes über einer Silicagel-Festphasenkartusche aufgereinigt, das Lösungsmittel abgeblasen und für die LC-MS/MS-Analyse in wässrigem Acetonitril aufgenommen. Die Analyten werden auf einer C18-Festphase getrennt und mit einem Tandem-Massenspektrometer im MRM-Modus detektiert. Die PIP können mit positivem, Nicarbazin mit negativem ESI ionisiert werden. Die Entscheidungsgrenze,  $CC\alpha$  mit  $\alpha=1\%$  liegt je nach Analyt zwischen 0,2 (Nicarbazin) und 1,6 ng/g (Lasalocid). In leicht angepasster Form ist diese Methode auch für Futtermittel und Hühnerfleisch anwendbar.

Aus den Ostschweizer Kantonen AI, AR, GL, GR, SG, SH, TG, ZH und dem Fürstentum Lichtenstein wurden 128 Eier von regionalen Produzenten und von Importeuren untersucht. Dabei konnten in rund einem Drittel der untersuchten Eier, Kokzidiostatika nachgewiesen werden. Es zeigte sich, dass mit Kokzidiostatika verunreinigtes Futtermittel die Quelle für die Kontaminationen der Eier war.

**Strukturformel von Lasalocid als prominentestem Vertreter der polyetherionophoren Kokzidiostatika PIP;** Summenformel  $C_{34}H_{54}O_8$ , MW = 590,8. Bei der angewendeten massenspektrometrischen Detektion zeigte sich das Natriumaddukt mit einer atomaren Masse von 613,4 als stabilstes und intensivstes Ionisierungsprodukt.



### Literatur

(1) Kennedy, D.G., Blanchflower, W.J., Hughes, P.J., McCaughey, W.J. (1996). The incidence and cause of lasalocid residues in eggs in Northern Ireland. Food-Additives and Contaminants 13(7): 787-794.

## Lebensmittelbestrahlung – ein Überblick

**Peter Schmid, Claudius Gemperle**

Kantonales Labor Aargau, Obere Vorstadt 14, 5000 Aarau

E-Mail: [claudius.gemperle@ag.ch](mailto:claudius.gemperle@ag.ch)

Unter dem Begriff „Lebensmittelbestrahlung“ wird im Allgemeinen die Bestrahlung von Lebensmitteln mit ionisierender  $\gamma$ - oder  $\beta$ -Strahlung verstanden. Prinzipiell kann das Verfahren zur Keimhemmung, Reifeverzögerung, Entwesung, Keimreduktion und Sterilisation von Lebensmitteln angewendet werden. Die Produkte sind nach der Behandlung nicht radioaktiv.

In der Schweiz ist die Bestrahlung von Lebensmitteln bewilligungspflichtig. Bis heute wurde vom Bundesamt für Gesundheit noch keine Bewilligung erteilt. Die Gemeinschaftsliste der EU betreffend zugelassener Produkte enthält nur „getrocknete aromatische Kräuter und Gewürze“. In einzelnen EU-Staaten sind weitere Lebensmittel zur Bestrahlung zugelassen (z.B. Garnelen: NL; Pouletfleisch: NL, F, UK).

Für den Nachweis der Strahlenbehandlung existiert kein Universalverfahren für alle Lebensmittelklassen. In der EU sind Normen für verschiedene Verfahren festgelegt. Die Hauptverfahren basieren auf den Prinzipien: Gaschromatographie von Radiolyseprodukten, Elektronenspinresonanz (ESR) an Radikalen in trockenen Lebensmittelteilen, Thermolumineszenz (TL) an mineralischen Verunreinigungen und Photostimulierte Lumineszenz (PSL) an mineralischen Verunreinigungen. Zusätzlich sind die Screening-Verfahren Keimzahlbestimmung und DNA-Kometentest festgelegt. Wegen der Möglichkeit von falsch-positiven Resultaten wird die PSL mittlerweile eher zu den Screening-Verfahren gezählt.

Die Zusammenfassung der betreffend der Bestrahlung nicht korrekt gekennzeichneten Proben in der EU im Jahr 2003 zeigt die Relevanz der verschiedenen Untersuchungsmethoden (beanstandete Proben/untersuchte Proben/Verfahren): Kräuter und Gewürze (41/1897/PSL-TL), Krustentiere u. Ä. (7/299/PSL-TL, ESR), Nahrungsergänzungen (50/280/PSL-TL), Tee (18/209/PSL-TL), Pilze (2/163/PSL-TL), Kräuterkäse (6/149/PSL-TL), Fischprodukte (8/144/PSL-TL, ESR), Fertiggerichte (5/99/PSL-TL), Froschschenkel (9/12/ESR).

In den Kantonalen Laboratorien stehen 2 PSL-Geräte (ZH, AG), 1 TL-Gerät (AG, seit 2005) und 1 ESR-Gerät (AG) für den Bestrahlungsnachweis bereit. Am Kantonalen Labor Aargau wurden in den letzten 3 Jahren folgende Kontrollresultate erarbeitet (teilweise in Kampagnen der KL der Nordwestschweiz): Gewürze (8/152), Nudelfertiggerichte (10/101) und „Nahrungsergänzungen“ (1/17).

Im Jahr 2000 wurde die Bestrahlung von rohem Fleisch in der USA nach grösseren EHEC-Ereignissen (Enterohämorrhagische Escherichia Coli) zugelassen. Für den Nachweis der Bestrahlung von knochenfreiem Fleisch sind die Verfahren PSL-TL und ESR nicht möglich, hier kommen gaschromatographische Verfahren zum Zug.

Information zur Bestrahlung in der EU findet man unter:

[http://europa.eu.int/comm/food/food/biosafety/irradiation/index\\_en.htm](http://europa.eu.int/comm/food/food/biosafety/irradiation/index_en.htm).



## Modern methods and trends in mycotoxin analysis

### Alain Pittet

Quality and Safety Department, Nestlé Research Center, Vers-chez-les-Blanc, CH-1000 Lausanne 26, Switzerland.

E-Mail: [alain.pittet@rdls.nestle.com](mailto:alain.pittet@rdls.nestle.com)

The introduction of demanding mycotoxin regulations is increasing over the years and requires the development of ever more sensitive and reliable analytical methods that can provide the appropriate tests at an acceptable cost.

Traditional methods for the analysis of mycotoxins are mainly chromatographic techniques including thin-layer chromatography, gas chromatography, and high-performance liquid chromatography (HPLC). HPLC with immunoaffinity column cleanup and fluorescence detection has dominated this class of analytical methods and currently represents the state-of-the-art of mycotoxin analysis. Chromatographic methods generally require multiple steps prior to detection, including extraction, extensive sample cleanup, preconcentration, and sometimes derivatization of the analyte(s). Such sample treatment not only makes the analysis time-consuming and costly, but also requires highly qualified personnel. This is also true for hyphenated techniques like liquid chromatography with mass spectrometry (LC-MS) or tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), which on the other hand have shown a great potential for screening large amounts of samples for the presence of a number of mycotoxins. However, international collaborative studies should be conducted before this type of method gains a more widespread acceptance.

To overcome the limitations encountered with these reference (confirmatory) methods, rapid screening immunoassay methods have been developed that meet the requirements of a simple, reliable, fast and cost-effective analysis. The immunological basis of such techniques makes them highly specific and, therefore, less dependent on sample cleanup. So far, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) methods are the most common immunoassay technique used in mycotoxin analysis due to the capacity for parallel analysis of multiple samples. Whereas conventional ELISA methods may take up to several hours to get results, rapid immunochromatographic assays like dipsticks and lateral flow tests are becoming commercially available and could rapidly find widespread acceptance for field use.

In addition to reference methods and rapid screening methods, several factors (like the development of new technologies, the discovery of new mycotoxins, or the need to decrease analytical costs) have helped to drive the development of so-called “research” methods. These are methods with limited application, or methods that are not yet widely used due to their novelty. New technologies that will be discussed in this review include near- and mid-infrared spectroscopy (NIR, MIR), molecularly imprinted polymers (MIPs), capillary electrophoresis (CE), fluorescence polarization (FP), fluorescence labelled optical-read dipstick assays, immunological biosensors based on surface plasmon resonance or fiber optic probes, and array biosensors.

Although some of these emerging technologies are advanced enough for field use, others still face the challenge of making the transition from proof-of-concept assays using toxins in buffer solutions to analysis of real food samples. However, despite these obstacles, detection technologies continue to advance, and the prospects for further improvements in mycotoxin analysis are excellent, even if universal multi-mycotoxin analysis appears unlikely in the near future.

## Confirmatory Analysis of Ergot Alkaloids in rye flour by Liquid Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry

**R. Mohamed<sup>1</sup>, E. Gremaud<sup>1</sup>, J.C. Tabet<sup>2</sup>, P.A. Guy<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Nestlé Research Center, Vers-Chez-les-Blanc, PO Box 44, 1000 Lausanne 26, Switzerland

<sup>2</sup>Laboratoire de Chimie Biologique Organique et Structurale, Université Pierre & Marie Curie, Paris, France

Ergot is the name given to the *sclerotium* of the fungus *Claviceps* species that infect cereals. These ergots produce a range of up to forty different alkaloids. They have been shown to induce hallucinations, agitation and other symptoms in humans. All the common cereals including rye, wheat, barley, millet and maize can be infected with ergot alkaloids, although rye is the most susceptible one. Up to now, no legislation has been reported by the European Union towards these chemicals, but several countries, including Switzerland have set their own limits for the presence of ergot alkaloids at 500 mg/kg in cereal grain for flour trade and at 200 mg/kg in cereal grains for direct consumption (limit refers to the weight of ergot kernels per total commodity weight, and not to toxin concentration). To provide an unambiguous monitoring of such mycotoxins, we have developed a high performance liquid chromatography method coupled to tandem mass spectrometry detection (HPLC-MS/MS) for the quantitative determination of ergonovine, ergotamine, ergocristine,  $\alpha$ -ergokryptine, and ergocornine in rye flour samples.

Methysergide hydrogen maleinate (MHM) was spiked in rye flour samples to assess both reproducible recovery and good HPLC-MS/MS operation over time. An aliquot of rye flour (5 g) is weighed in a Teflon centrifugation tube, solubilised in 10 mL acetonitrile and 20 mL ammonium acetate (10 mM, pH 6.5). The mixture is then stirred horizontally for 20 minutes before being centrifuged at 10'000 rpm for 10 min (4°C). A 2 mL aliquot of the supernatant is loaded onto a Chromabond C18 ec solid phase extraction cartridge, previously conditioned with successively 2 ml of methanol and 2 ml of 10 mM ammonium acetate (pH 6.5). After loading, the extract is washed with 2 mL of water/acetonitrile (9:1, v/v). The elution step is performed with 2 mL of methanol/acetonitrile (1:1, v/v) and the extract evaporated at 40°C under a light stream of nitrogen. Dry residue was reconstituted in 2 mL of water containing 5 mM heptafluorobutyric acid (HFBA)/acetonitrile (9:1, v/v) and filtered onto a 0.45  $\mu$ m nylon filter directly into an HPLC vial. Separation of the analytes was performed on a Perkin Elmer pump Series 200 HPLC system. The HPLC column was a X-Terra C18 reversed phase (2.1 x 100 mm, 3.5  $\mu$ m) with mobile phases constituted with solvent A: water containing 5 mM HFBA and solvent B: acetonitrile containing 0.1% acetic acid. The gradient program was: 0-2 min 10% B; 2-12 min 65% B; 12-13 min 65% B; 13-13.1 min 90% B; 13.1-19.1 min 90% B; 19.1-20 min 10% B and 20-25 min 10% B running at a constant flow rate of 300  $\mu$ L/min. The injection volume was 10  $\mu$ L and the HPLC flow was directed into the MS between 4 and 12 min using a diverter valve. Ergot alkaloids were detected on an API 3000 mass spectrometer in positive electrospray ionisation by monitoring two selected transition reactions (SMR) per analyte. Collision energies were optimised for each transition reaction. The quantitative analysis was performed using the most intense SRM signal whereas the second one for analyte confirmation based on appropriate area ratio

calculated from standards. External calibration curve was constructed from 8-data points, ranging from 0-25 ng (5 ng of MHM) analyte injected on-column, corresponding to a contamination level of 0-15 mg/kg.

A basic sample preparation was targeted to enable a higher sample throughput. Therefore, a liquid-liquid extraction was evaluated before LC-MS/MS analysis but due to a relatively high matrix effect, linked with co-eluting chemical interferences, we decided to add a clean-up step using a C18 solid phase extraction cartridge. Recovery experiments were realised by means of three independent replicates at concentration levels of 3, 7.5 and 15 mg/kg. These recoveries are very compounds dependent, ranging from below 50% for the lysergic acid derivatives (i.e 24% for ergonovine and 45% for MHM) to above 79% for ergotamine, ergocristine,  $\alpha$ -ergokryptine, and ergocornine. The HPLC-MS/MS method was fully validated according to the recent 2002/657/EC EU Commission Decision.

## Pektin als Nahrungsfaser

**Marianna Gulfi, Eva Arrigoni, Renato Amadò**

Inst. für Lebensmittel- und Ernährungswissenschaften, ETH Zürich, ETH-Zentrum, 8092 Zürich

E-Mail: marianna.gulfi@ilw.agrl.ethz.ch

Pektin ist ein Polysaccharid der pflanzlichen Zellwand, das industriell durch saure Extraktion gewonnen werden kann. Ausgangsmaterialien sind fast ausschliesslich Zitruschalen oder Apfeltrester, die bei der Saftproduktion in grosser Menge als Nebenprodukte anfallen.

Pektin wird von den menschlichen Verdauungsenzymen im Dünndarm nicht abgebaut und gelangt in den Dickdarm, wo es von der Darmflora schnell und vollständig fermentiert wird. Pektin gehört somit zu den Nahrungsfasern. Niedrig viskose Pektine werden zT schon als Nahrungsfaserzusatz für Lebensmittel verwendet.

Dem Pektin werden verschiedene positive Eigenschaften zugeschrieben. Da es die Viskosität des Nahrungsbreis in Magen und Dünndarm erhöht, wird die Magenentleerung verlangsamt und das Sättigungsgefühl gefördert. Die Nährstoffaufnahme im Dünndarm verläuft ebenfalls langsamer, was sich auf den Insulin- und Glucosespiegel im Blut positiv auswirkt. Studien haben gezeigt, dass Cholesterol und Gallensäuren von Pektin gebunden und nicht mehr absorbiert werden können. Der Körper ist dann gezwungen, zusätzliches Cholesterol für die Bildung neuer Gallensäuren zu verwenden.

Im Dickdarm wird Pektin intensiv fermentiert. Der pH-Wert wird durch die Bildung von kurzkettigen Fettsäuren (KKFS) herabgesetzt, und die Bakterienmasse wird durch die hohe Stoffwechsel-Aktivität stark vergrössert. Ein tiefer pH-Wert wird als positiv bewertet, weil dadurch potentiell toxische Substanzen wie sekundäre Gallensäuren oder Ammoniak weniger löslich werden. Die Aktivität von schädlichen bakteriellen Enzymen (zB  $\beta$ -Glucuronidase) wird vermindert, während das Wachstum nützlicher Mikroorganismen wie *Lactobacillus*- und *Bifidus*-Arten von tieferen pH-Werten gefördert wird. Diese Faktoren sollen dazu beitragen, das Krebsrisiko herabzusetzen. Die Bildung der KKFS hat ebenfalls einen direkten Einfluss auf Darmkrebs, indem die KKFS ein differenziertes Wachstum der Darmschleimhaut stimulieren. Buttersäure ist die wichtigste Energiequelle der Mukosazellen und gilt als interessanteste KKFS. Ausserdem sind die KKFS im Zuckerstoffwechsel involviert, da Propionsäure die Gluconeogenese in der Leber fördert. Neben dem schützenden Effekt gegen Darmkrebs wurden positive Einflüsse des Pektins bezüglich anderer Krebsarten und eine gewisse Immunomodulation beschrieben.

Im Rahmen einer Dissertation in der Gruppe Lebensmittelchemie der ETH Zürich wurden verschiedene Pektine physikalisch-chemisch und physiologisch charakterisiert. Ihr Verhalten als Nahrungsfaser im menschlichen Dickdarm wurde anhand einer *in vitro* Fermentationsmethode mit Fäkalbakterien untersucht. Dabei wurde untersucht, ob strukturelle Eigenschaften der Pektine einen Einfluss auf deren Fermentierbarkeit haben.

Es wurde zunächst mit kommerziellen Pektinen unterschiedlichen Ursprungs gearbeitet, die ausserdem je nach Anwendung hinsichtlich Veresterungsgrad, Amidierungsgrad und Viskosität modifiziert waren. Es konnte gezeigt werden, dass die menschlichen Darmbakterien Pektinsäuren und amidierte Pektine weniger effizient verstoffwechseln. Allerdings werden diese Pektinarten vollständig abgebaut, auch wenn die Fermentationsrate langsamer ist, und es wird eine ähnliche Menge an KKFS wie bei den hochveresterten Pektinen gebildet. Hochveresterte Zitruspektine scheinen den pH-Wert stärker herabzusetzen. Das interessanteste KKFS-Muster, mit erhöhtem Anteil an Propionsäure, zeigte sich bei der Fermentation eines acetylierten Zuckerrübenpektins.

Physikalische Eigenschaften wie intrinsische Viskosität oder Molekulargewicht hatten keinen Einfluss auf die *in vitro* Fermentierbarkeit. Es wurden auch nicht-kommerzielle Pektine untersucht. Unter anderem erwies sich ein basisch extrahiertes Pektin, bei welchem die Neutralzuckerfraktion angereichert wurde, als interessante Nahrungsfaser, da während der bakteriellen Fermentation mehr Propionsäure als aus kommerziellen Pektinen gebildet wurde.

## Mykotoxine mit der Niere als Zielorgan

**Evelyn O'Brien**

Umwelttoxikologie, Universität Konstanz, Konstanz, Deutschland

E-Mail: Evelyn.O'Brien@uni-konstanz.de

### Einleitung

Die von verschiedenen Schimmelpilzarten, v.a. in den moderaten Klimata Europas gebildeten Mykotoxine, u.a. die sogenannten Ochratoxine, Citrinin, Aflatoxine und Fumonisine, können gelagerte Lebens- und Futtermitteln durch Verschimmelung kontaminieren. Betroffen sind hauptsächlich Getreide, Mais, Nüsse, Kaffee etc. und aus ihnen gewonnene Produkte wie z.B. Brot, Bier oder Wein. Auch Obst und Obsterzeugnisse z.B. Früchte, Fruchtsäfte und verschiedene Gemüse sind betroffen. In Abhängigkeit ihrer optimalen Klimabedingungen (z.B. bevorzugen *Aspergillus* Arten feuchtwarmes, *Penicillium* Arten gemäßigtes Klima) können Schimmelpilze bei unsachgemäßer Lagerung Nahrungsmittel verschimmeln, sie werden daher auch "Lagerpilze" genannt. Andere Schimmelpilze werden bereits vor der Ernte auf dem Feld gebildet (z.B. *Fusarium* Arten). Viele Schimmelpilze sind sogar in der Lage, verschiedene Mykotoxine simultan zu bilden. Zum Beispiel können *Aspergillus* und *Penicillium* Arten Ochratoxine (OTA, OTB, OTC), Citrinin und Aflatoxine, *Fusarien* Arten eine Reihe von Fumonisinen produzieren. Dies führt zur Kontamination von Nahrungsmitteln mit einer Mischung von Schimmelpilztoxinen in geringen, aber meßbaren Konzentrationen, die zu einer chronischen Exposition der gesamten Bevölkerung führt.

Einige Mykotoxine greifen primär oder sekundär die Nieren an, wo bereits bei relativ geringen Konzentrationen massive Zellschädigungen auftreten können. Diese Nierenschäden führen bei chronischer Applikation, z.B. bei Schweinen und Geflügel und sogar beim Menschen zu Nephropathien oder auch zur Ausbildung von Nierentumoren. Solche Mykotoxine sind Thema dieses Vortrages.

### Ochratoxin A und Citrinin:

1928 wurden in Dänemark zum ersten Mal schwere Nierenschäden bei Mastschweinen, die mit verschimmeltem Getreide gefüttert worden sind, beschrieben. OTA wurde als wahrscheinliche Ursache dieser Schäden ermittelt. Folglich wurden zahlreiche Untersuchungen in Labor- (Ratte, Maus) und auch in Nutztieren (Schwein, Geflügel) durchgeführt. OTA hat sich als äußerst potentes, geschlechtsspezifisches Nierenkarzinogen in Ratten erwiesen, wobei die männlichen Tiere bis zu einem Faktor 10 höhere Tumorraten aufweisen als die Weibchen. Weiterhin wird eine chronische OTA-Exposition über die Nahrungsaufnahme beim Menschen mit erhöhter Inzidenz von Urotheliumtumoren und Nephropathien (BEN, Endemische Balkannephropathie) in Zusammenhang gebracht. Untersuchungen von im Handel befindlichen Getreideproben haben gezeigt, dass die OTA-Konzentrationen in europäischen und nordamerikanischen Ländern im gleichen Bereich von 0,1 – 3,8 µg/kg liegen. Trotz intensiver Forschung blieb der Wirkungsmechanismus von OTA weitgehend ungeklärt, wobei Proteinbindung und bei hohen Dosen reaktive Sauerstoffspezies vermutlich eine große Rolle spielen.

Ähnliche Veränderungen wie z.B. Nekrosen mit kompensatorischer Zellteilung sind in den Nieren von Versuchstieren nach Verabreichung von Citrinin beobachtet worden. Primär Nierenschäden entstehen,. Allerdings gibt es bisher keinen Hinweis auf eine kanzerogene Wirkung von Citrinin. Citrinin weist eine geringe akute Toxizität auf, allerdings auch mit deutlichen Spezies-Unterschieden. So liegt die LD<sub>50</sub> bei Kaninchen bei 19 mg/kg KG während 35 – 89 mg/kg bzw. 67 mg/kg KG für Mäuse und Ratten beobachtet werden. Neuere Studien postulieren, dass die pathologischen Veränderungen, welche in Schweinen mit Nephropathien beobachtet wurden, wahrscheinlich auf die Anwesenheit einer Kombination von OTA und Citrinin zurückzuführen sein könnten. Aufgrund des Vorkommens von Citrinin in der menschlichen Nahrung ist eine Belastung des Menschen unvermeidbar. Obwohl einschlägige Untersuchungen zur Toxizität von Citrinin beim Menschen fehlen, lassen Ähnlichkeiten zwischen den pathologischen Veränderungen bei Schweinen und Ratten nach Verabreichung von OTA und Citrinin vermuten, dass die Toxine möglicherweise ähnliche Wirkungsweisen haben. Aufgrund der Strukturähnlichkeit zwischen Citrinin und den Ochratoxinen kann vermutet werden, dass Citrinin einer ähnlichen Toxikokinetik und Toxikodynamik im Menschen unterliegt. Entsprechend sind in der Zukunft Untersuchungen zur Wirkung von Citrinin beim Menschen von größter Bedeutung.

#### **Aflatoxin B1:**

Aflatoxin B1 (AFB1) wurde ursprünglich als Hepatotoxin eingestuft. Neuere Untersuchungen haben aber eine deutliche nephrotoxische Wirkung mit Spezies-spezifischen Unterschiede beschrieben, wobei Ratten Lebertumore und Mäuse eher Läsionen der Niere entwickeln. Diese Unterschiede sind wahrscheinlich auf Variationen in der Verteilung des Toxins bzw. seines Metabolismus zurückzuführen. Multifokale Nekrose, Proliferierung von anaplastischen Zellen und Karyomegalien sind typische Effekte in der inneren Nierenkortex von AFB1-exponierten Ratten. Verbunden hiermit sind Verminderung der glomerulären Filtrationsrate, der Glukose-Absorption und eine erhöhte Ausscheidung von Natrium and Kalium. Ähnliche Ergebnisse sind auch für alle anderen untersuchten Tierarten beschrieben worden. AFB1 wird von Cytochrom P450 Enzymen (hauptsächlich Cyp450 IA2 und IIA1) zu AFB1-8,9-Epoxide verstoffwechselt, welches mit der DNS reagiert und Strangbrüche verursacht. Hierbei korreliert die Anzahl der DNS-Addukte mit der Tumor Entstehungsrate.

#### **Fumonisin B1:**

Wie bei vielen anderen Mykotoxinen, hat die Entdeckung und Charakterisierung von Fumonisin B1 (FB1) in erster Linie wirtschaftlichen Gründe da es neurotoxisch, hepatotoxisch, nephrotoxisch und Lungen-toxisch in verschiedenen Nutztieren wirkt. Typische Auswirkungen von FB1 in der Ratte sind Zellnekrose und Apoptose und atypische Hyperplasie in den Tubuli, die später zu Adenomen und Karzinomen führen. Obwohl die nephrotoxische Wirkung erst relativ spät beschrieben wurde, scheint der Mechanismus aufgeklärt zu sein. Aufgrund starker Struktur-Ähnlichkeiten mit Sphinganin und Sphingosin wird die Aktivität der Ceramid-Synthase von FB1 gehemmt und Sphingoid-Basen akkumulieren. Dies führt zu einer Störung mehrerer Signaltransduktionskaskaden, die den Zellzyklus kontrollieren (PKC, Kalzium Retinoblastomprotein u.a.).

Eine verlässliche Risikoabschätzung für den Menschen aus der Übertragung von Daten aus Tierversuchen ist aufgrund der oben beschriebenen Datenlage im Moment äußerst schwierig, wenn nicht unmöglich. Richtlinien zur maximalen Lebensmittel-Belastung sowie aktuelle Forschungsergebnisse und potentielle zukünftige Forschungsrichtungen werden diskutiert.



## Recent advances on the potential genotoxicity of ochratoxin A

**Thierry Delatour, Maricel Marin-Kuan, Benoît Schilter and Christophe Cavin**

Department of Quality and Safety, Nestlé Research Center, Vers chez-les-Blanc, 1000 Lausanne 26, Switzerland

E-Mail: thierry.delatour@rdls.nestle.com

The mycotoxin ochratoxin A (OTA) is produced by various food-borne strains of *Aspergillus* and *Penicillium* fungi. It is a contaminant of various agricultural products resulting into continuous exposure of the human population. OTA has been described as nephrotoxic, carcinogenic, teratogenic and immunotoxic in laboratory and domestic animals. The actual effect of dietary exposure to OTA in human is not known and epidemiological data are not sufficient for risk assessment. Therefore the actual health significance of OTA in food relies on animal data and is highly dependent upon the mechanism of action involved.

Evidence based on various experimental approaches such as comet assay, micronucleus assay, abasic sites, indicates that OTA produces DNA damage. Mutagenicity studies appeared inconsistent since they led to either negative or positive responses to OTA. The potential adduction of OTA to DNA is still a matter of controversy. Using  $^{32}\text{P}$ -postlabelling, the formation of spots interpreted as OTA-derived adducts was observed in mice, rats and monkeys, and it was found that the level of DNA adducts in male rats was higher than in females, suggesting a correlation between the incidence of DNA adducts and the well known sex-dependent carcinogenicity of OTA in rats. In contrast, no correlation can be drawn between the incidence of adducts and the observed frequency of adenocarcinoma or karyomegaly in this species. This approach was also used to study the reactivity of OTA with 2'-deoxyguanosine 3'-monophosphate in the mouse; formation of spots, rationalized in terms of OTA-guanine adducts, was observed. Interestingly, it was shown that the incidence and number of spots was much higher than that previously reported with rats, contrasting with the known relative *in vivo* sensitivities of mice and rats for OTA-mediated carcinogenicity. The administration of rats with [ $^3\text{H}$ ]-OTA (1000 mCi/mmol, 210  $\mu\text{g}/\text{kg}$  b.w.) did not reveal any covalent binding with DNA when the treatment was performed over 24 h since levels were found below the detection limit of liquid scintillation counting in kidney ( $< 1.3$  adducts per  $10^{10}$  nucleotides) and liver ( $< 5.6$  adducts per  $10^{11}$  nucleotides). Similarly, the incubation of rat kidney S-9 with NADPH in the presence of OTA did not reveal any detectable DNA-binding (detection limit at 0.2 adduct per  $10^7$  nucleotides), which is in accordance with results demonstrating that either rat microsomes (liver and kidney) or human cytochromes P450 showed no or low activity with OTA. To further investigate the potential binding of OTA to DNA, the radiocarbon content of DNA isolated from liver and kidney male rats treated with a single dose of [ $^{14}\text{C}$ ]-OTA (0.25 mCi/mmol, 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  b.w.) was measured by accelerator mass spectrometry (detection limit at 3 adducts per  $10^9$  nucleotides), and no difference was observed between control and treated animals.

Recently, the photoirradiation of a mixture OTA-2'-deoxyguanosine in aqueous solution was reported to give rise to two guanine-OTA adducts. One of them, comprehensively characterised by NMR and MS, exhibited a covalent bond between the carbon C-8 of the guanine and the carbon C-5

of the coumarin moiety of OTA. This adduct was shown to co-migrate on TLC plates with a spot observed in DNA of OTA-administrated rats and pigs by  $^{32}\text{P}$ -postlabelling. Additional analytical work is still necessary to definitely demonstrate the actual formation of this adduct *in vivo* and to establish its biological significance.

## **Ochratoxin A: Identification of a new mechanism of action with significant relevance for risk assessment**

**Christophe Cavin, Maricel Marin-Kuan, Thierry Delatour and Benoît Schilter**

Department of Quality and Safety, Nestlé Research Center, Vers chez-les Blanc, 1000 Lausanne 26, Switzerland

E-mail: christophe.cavin@rdls.nestle.com

Ochratoxin A is a naturally occurring mycotoxin produced by several species of *Aspergillus* and *Penicillium* fungi. As a consequence of its widespread occurrence in a variety of food commodities such as cereals, coffee, cocoa, wine, and dried fruits products, the human population is continuously exposed to OTA. Although data suggest a possible role for dietary OTA in the development of specific kidney diseases (e.g. the Balkan endemic nephropathy (BEN) and urinary tract tumours, human epidemiological studies do not allow assessing the actual health impact of OTA in food. Therefore, risk evaluation relies mainly on the use of toxicological data obtained through animal experimentation. In animals, OTA produces various toxicological effects, the most relevant being nephrotoxicity and nephrocarcinogenicity. In an NTP-carcinogenicity bioassay, OTA administration was associated with an increased incidence of renal tumours in male rats while females appeared much less susceptible. From a risk assessment perspective, it has been assumed that the renal carcinogenicity in rats constitutes the highest health concern and was considered as the pivotal effect.

The mechanism of OTA carcinogenicity in animal models has not been fully characterized. Its elucidation would allow selecting the most appropriate risk evaluation procedure to be applied to address the safety significance associated with OTA in foods. Direct acting genotoxicity versus epigenetic effects appears to be a key mechanistic question for OTA risk assessment. The possibility of a direct OTA DNA binding is highly debated and will be addressed in the annual meeting of the Swiss Society of Food and Environmental Chemistry by Dr Th. Delatour (Nestlé Research Center). However, the observed OTA-mediated DNA damage may not necessarily require direct OTA- DNA binding, but may also be related to other indirect modes of action such as oxidative stress and cytotoxicity. Several in vivo and in vitro studies have shown that OTA induced oxidative damage such as lipid peroxidation and DNA damage.

In a recent project sponsored by the European Union, OTA was administered to male rats for 2-years (at 300 µg/kg bw up to a weight of 333g, and then 100 µg/rat), producing an increased incidence of renal tumors (Dr P. Mantle, Empire College London). Gene expression profile was studied in additional groups of animals fed OTA for 7 days to 12 months. The OTA-mediated responses in kidney and liver were totally different. In kidney, several genes known as markers of kidney injury and cell regeneration were significantly modulated by OTA suggesting that the dose regimen chosen may have been associated with some cytotoxicity. Only very limited effects were observed on the expression of genes known to be involved in DNA synthesis and repair, or genes induced as a result of DNA damage. Very little or no effects were found on genes involved in apoptosis. However, disruption of pathway regulated by the Nuclear factor erythroid 2 related factor (Nrf2) was observed in the kidney but not in the liver. This was characterized by an inhibition of Nrf2

binding to the Antioxidant Responsive Element (ARE) promotor, resulting in a reduction in the expression of downstream genes, at both mRNA and protein levels. Many Nrf2-regulated genes are involved in chemical detoxification and antioxidant defense. The depletion of Nrf2-regulated enzymes is likely to impair the defense potential of the cells resulting in a chronic low level of increased oxidative stress in the target kidney cells. Our data strongly suggest that this may be a plausible mechanism of OTA nephrocarcinogenicity. Of relevance for risk assessment, this mechanism does not involve direct binding of OTA to DNA, it is dependent upon gene expression and is therefore thresholded.

## Poster

### Répartition du DON dans les fractions de mouture du blé

**Brigitte Häller-Gärtner, Geert Kleijer, Fabio Mascher-Frutschi**

Station fédérale de recherches agronomiques d'Agroscope Changins

CP 1012, 1260 Nyon, Suisse

E-Mail : fabio.mascher@rac.admin.ch

La fusariose de l'épi de blé est une maladie qui concerne toute la filière, aussi bien les producteurs, les centres collecteurs, les moulins, les boulangers que les consommateurs. La maladie se manifeste par des épis partiellement ou complètement échaudés avant la maturation des grains. L'infection n'entraîne pas seulement une réduction du rendement mais également la contamination de grains par des mycotoxines, comme la désoxynivalénole (DON), nuisibles pour les êtres humains et les animaux. Différentes espèces de champignons appartenant au genre *Fusarium* peuvent pénétrer dans les épis au moment de la floraison et infecter le tissu.

La stratégie de lutte contre cette maladie comporte (i) la réduction de l'inoculum en évitant des assolements avec précédent maïs et blé et l'enfouissement des débris végétaux de la culture précédente et (ii) l'utilisation de variétés résistantes pour réduire le risque d'infection et pour limiter les conséquences dès que l'infection a eu lieu.

La résistance à la maladie s'exprime à différents niveaux. Certains mécanismes de résistance peuvent ralentir l'infection initiale dans la fleur ouverte, d'autres empêchent le champignon d'envahir le reste de l'épi. Les mécanismes qui protègent les grains en voie de formation de l'infection sont particulièrement intéressants en prévenant la réduction du poids des grains et l'accumulation de mycotoxines. Le but du présent travail est d'étudier la localisation des toxines à l'intérieur du grain, ceci sur différentes variétés de blés présentant différents niveaux de résistances à la fusariose.

Huit variétés suisses de blé de printemps (Greina, Carasso, Lona, Brusino, Toronit, Fiorina, Quarna et Nadro) ont été cultivées en pleine terre et infectées par des spores de *Fusarium culmorum* au moment de la floraison. Après les moissons, les grains ont été moulus sur un moulin Bühler MLU202, permettant de séparer les fractions de mouture : la farine blanche de premier passage (farine 1), la farine contenant les couches plus externes du grain (farine 2), le remoulage et le son.

La teneur en toxine DON a été mesurée sur chaque fraction de mouture au moyen du test ELISA (Transia Plate, Diffchamb SA, Lyon, France).

Les variétés sensibles ont accumulé beaucoup plus de DON dans leurs grains que les variétés résistantes. Cependant, la répartition des toxines est semblable dans toutes les variétés. Environ la moitié des toxines accumulées se trouve dans le son, le remoulage en contient un tiers et la farine blanche n'en contient que le dixième. Ceci peut s'expliquer par le fait que le champignon envahit d'abord les couches externes du grain avant de pénétrer à l'intérieur et que les toxines sont localisées avant tout à proximité du mycélium. Le *Fusarium* se développe moins sur les variétés résistantes et accumule aussi moins de mycotoxines. Toutefois, les résultats suggèrent que les grains des variétés

résistantes testés ici ne disposent pas d'un système spécifique capable d'exclure toute accumulation de mycotoxines dans les grains.

## Poster

# Zearalenongehalte in Lebensmitteln; Unsicherheiten trotz Immunoaffinitäts-Clean up

**Peter Rhyn, Otmar Zoller**

Bundesamt für Gesundheit, 3003 Bern

E-Mail: otmar.zoller@bag.admin.ch

Zearalenon ist ein Mykotoxin, das von verschiedenen Fusarienspezies produziert wird. Die wichtigste Quelle für Zearalenon in der menschlichen Ernährung sind Getreideprodukte. Am häufigsten wird Zearalenon auf Mais gefunden, es kann aber auf allen Getreidearten vorkommen. Bei unserem Warenkorb ist vor allem Weizen noch wichtig. Zearalenon kommt häufig zusammen mit Deoxynivalenol vor.

In der Mykotoxinanalytik ist die Verwendung von Immunoaffinitätskartuschen für die selektive Reinigung der Extrakte gut etabliert. Auch die Bestimmung von Zearalenon mit HPLC und Fluoreszenzdetektion bietet in der Regel nach einem Immunoaffinitäts-Clean up wenig Probleme. Man erhält meist sehr saubere Chromatogramme die fast nur noch den Analytpeak aufweisen und auch die Nachweisgrenze ist sehr gut und liegt je nach Methode meist im Bereich von 1-5 ng/g. Aber auch in der Routine mit einer gut etablierten Methode ist es wichtig, dass jedes Chromatogramm kritisch begutachtet wird, da "Überraschungen" nie ausgeschlossen werden können.

Wir konnten insbesondere in Linsen und Getreidemischungen, welche Linsen enthalten, bei sonst sauberem Chromatogramm einen Peak feststellen, der annähernd die gleiche Retentionszeit wie Zearalenon aufweist. Bei genauerer Begutachtung (Chromatographie mit etwas anderen Bedingungen; Überprüfung mit LCMSMS) konnte gezeigt werden; dass es sich sicher nicht um Zearalenon handelt. Bei gewissen Matrices sind also trotz Immunoaffinitäts-Clean up falsch positive Resultate nicht ganz auszuschliessen.

## Literatur

Rhyn P, Zoller O (2003). Zearalenone in cereals for human nutrition: relevant data for the Swiss population. Eur Food Res Technol 216:319-322.



## Poster

## Aflatoxin M1- das krebserregende Mykotoxin - ist in Schweizermilch ein vernachlässigbares Risiko

Karl Strebel, Kantonales Laboratorium Zürich  
E-Mail: karl.strebel@bluewin.ch

Aflatoxin M1 (AFM1) wird nicht von Schimmelpilzen gebildet, sondern im menschlichen oder tierischen Organismus aus Aflatoxin B1 metabolisiert, wenn dieses mit verschimmelten Nahrungs- resp. Futtermittel aufgenommen wird. Wiederkäuer scheiden zwischen 1–5% des aufgenommenen Aflatoxin B1 als Aflatoxin M1 mit der Milch aus.

### AFM1-Monitoring am Kantonalen Labor Zürich mit ELISA

Für das AFM1-Monitoring in Milch- und Milchprodukten wurde 1993 das ELISA-System gewählt. Dieses System erlaubt sehr effizient eine grosse Probenzahl mit ausreichender Empfindlichkeit auf AFM1 zu screenen.

### Seit 1993 AFM1-Monitoring mit eigenen Antikörpern – über 150 Proben pro Tag möglich

Das Testsystem wurde 1993 am Kantonalen Labor entwickelt. Für die Erzeugung der Antikörper zum Nachweis von AFM1 reichte die Immunisierung von einem Kaninchen aus. Die damals gewonnenen Antikörper, als auch das mit Peroxidase konjugierte Aflatoxin, reagieren bis heute im Test mit unverminderter Aktivität und Empfindlichkeit (Bestimmungsgrenze 10 ng/l).

Durch die Abstimmung der immunchemischen Testsysteme können pro Tag über 150 Proben neben AFM1 auf weitere sieben Analyte gescreent werden. Etwa 250 Proben von Milch und Milchprodukten werden jährlich auf AFM1 gescreent. Diese Proben werden zusätzlich auf relevante Antibiotika untersucht, die mit dem üblichen Hemmstofftest nicht oder kaum erfasst werden.

### Schwerpunkt Rohmilch: 200 Stallmilchproben vom MIBD (Milchwirtschaftlicher Inspektions- und Beratungsdienst)

Von den 250 Proben sind ca. 200 Stallmilchproben, die vom MIBD im Kanton Zürich gefasst werden. Im Unterschied zu einer Sammelmilchprobe aus einer Genossenschaft oder einem Tankwagen, handelt es sich bei einer Stallmilchprobe um die unvermischte Milch eines einzelnen Milchproduzenten.

### AFM1-Gehalt zeigt aflatoxinhaltiges Futter an

Mit dem AFM1-Monitoring kann die Fütterungspraxis beim Milchvieh bezüglich AFB1 auf einfache Weise überwacht werden.

### AFM1 in Milch und Milchprodukten

**1990 – 1997: nur 6 von 4200 Proben überschritten den Grenzwert**

Aus Daten der Kantonalen Lebensmittelkontrolle, die von den Eidgen. Forschungsanstalten FAM und RAP zusammengetragen und 1999 publiziert wurden, ist ersichtlich, dass von rund 4200 Proben 3 von 2666 Milch-, 2 von 932 Käse- und 1 von 50 Milchpulverproben den Grenzwert überschritten haben. [ Mitt. Lebensm. Hyg. 90, 575-609, 1999]

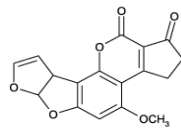
**2000 – 2005: keine von ca. 1000 Stallmilchprobe oder Sammelmilch-Proben überschritt den Grenzwert**

Sowohl die vom Kantonalen Labor untersuchten Stallmilchproben als auch die jährlich im Rahmen des nationalen Fremdstoffuntersuchungsprogramms vom Bundesamt für Veterinärwesen untersuchten Sammelmilch-Proben (ca. 50 pro Jahr) lagen mit ganz wenigen Ausnahmen unter 10 ng/kg und damit weit unter dem Grenzwert von 50 ng/kg.

### Schlussfolgerung

Die Testergebnisse aus diesen Kontrollen bestätigen:

**Aflatoxin M1 ist in Schweizer Milch und Milchprodukten ein vernachlässigbares Risiko.**



Aflatoxin B1



AFLATOXIN M1



AFM1 ist toxisch und wirkt auf Nieren und Leber karzinogen, deshalb sind **Grenzwerte festgelegt** worden:

**0.05 µg/kg für Milch u. Milchprodukte**

**0.02 µg/kg für Säuglings- u. Kindernährmittel**

**0.25 µg/kg für Käse.**

### Wie kommt Aflatoxin B1 ins Futter?

#### Verschimmelter Futter muss nicht zwangsläufig aflatoxinhaltig sein!

Die Schimmelpilze bilden Aflatoxine erst bei ausreichender Wärme u. Feuchte; natürlicherweise in tropischen oder subtropischen Klimazonen. Bei unsachgemässer Lagerung kann es aber auch in unserem Lande zur Aflatoxinbildung kommen.

#### Aflatoxine wurden importiert!

Vor über 20 Jahren wurde klar, dass Aflatoxine hauptsächlich über importierte aflatoxinhaltige Rohstoffe ins Futter gelangen. Werden Milchkühe mit Futtermischungen gefüttert, die aflatoxinhaltige Rohstoffe oder Produkte davon enthalten, so kommt es zur Ausscheidung von Aflatoxin M1 über die Milch.

Die wichtigsten Aflatoxin-Quellen in der Schweiz wurden bald erkannt: Erdnusschrot, Erdnussmehl und Import-Mais, im Ergänzungsfutter für Milchkühe. Solche Futtermischungen enthielten nicht selten über 500 µg/kg AFB1.

#### Verbot von Erdnussprodukten für Milchviehfutter

Nach dem Verbot von Erdnussprodukten für Milchviehfutter, stellte die Lebensmittelkontrolle einen massiven Rückgang von aflatoxinbelasteter Konsummilch fest.

Das Verbot wurde später durch Höchstgehalte für Aflatoxin B1 in Futtermitteln abgelöst. Für Ergänzungsfutter für Milchvieh wurde ein **Höchstgehalt von 5 µg/kg angeordnet**. Die Einhaltung dieses Höchstgehalts wird seither von Agroscoop Liebefeld-Posieux anhand von Stichproben regelmässig überprüft.



## Poster

# Bestimmung organischer Säuren in Lebensmitteln mittels Ionenausschlusschromatographie

**Petra Walter**

Kantonales Laboratorium Thurgau, Allgemeine Chemie, Spannerstrasse 20, 8510 Frauenfeld  
E-Mail: petra.walter@tg.ch

Bei der Beurteilung von Lebensmitteln kann die Zusammensetzung der organischen Säuren Rückschlüsse auf die Zusammensetzung des Lebensmittels, dessen Behandlung oder auch Verderb zulassen. Die chromatographische Bestimmung organischer Säuren erfolgt meist mittels Ionenaustausch- oder Ionenausschlusschromatographie. Da es sich bei den organischen Säuren um schwach dissoziierte Verbindungen handelt, wird in erster Linie die Ionenausschlusschromatographie mit UV-Detektion verwendet.

Mit diesen beiden Trennmechanismen konnten wir jedoch bisher keine zufriedenstellende Trennung der für Lebensmittel relevanten organischen Säuren (Essig-, Wein-, Bernstein-, Apfel-, Milch-, Ameisen- und Zitronensäure) in einem Chromatogramm erzielen. Zudem ist die UV-Detektion relativ unempfindlich. Aus diesem Grund wurde versucht die Methodenparameter Säule, Eluentzusammensetzung und Säulentemperatur derart zu optimieren, dass möglichst viele relevante organische Säuren ausreichend getrennt werden.

Bei der vorgestellten Methode handelt es sich um Ionenaustauschchromatographie mit inverser Suppression an einem Festphasensuppressor und Leitfähigkeitsdetektion. Die Leitfähigkeitsdetektion ermöglicht eine empfindlichere Bestimmung als die UV-Detektion. Möglich wird das durch die inverse Suppression, die die Dissoziation der organischen Säuren erhöht. Damit steht nun eine einfache, robuste Methode zur simultanen Bestimmung der folgenden organischen Säuren vor allem in flüssigen Lebensmitteln (z.B. Wein, Frucht- und Gemüsesaft, Tafelgetränke, Sirup und Essig) zur Verfügung:

Oxalsäure, Zitronensäure, Weinsäure, Apfelsäure, Bernsteinsäure, Ameisensäure, Essigsäure, Milchsäure.

Diese Methode weist einen grossen linearen Bereich auf, so dass z.B. in Essig auch grosse Mengen Essigsäure neben kleinen Mengen anderer organischer Säuren problemlos bestimmt werden können. Weiterhin sind mit dieser Methode auch folgende organische Säuren bestimmbar: Brenztraubensäure, Malonsäure, Chinasäure, Glykolsäure, Fumarsäure und Shikimisäure.



## Teilnehmerliste , SGLUC Jahresversammlung, Romanshorn, 2005

Stand: 30.8.2005

Name/Vorname	Institution	Ort	e-mail
Ackermann, Urs	Amt für Lebensmittelsicherheit und Tiergesundheit	7001 Chur	urs.ackermann@alt.gr.ch
Allemann, Claudine	Swissmedic	3012 Bern	claudine.allemann@swissmedic.ch
Amadò, Renato	Institut für Lebensmittel- und Ernährungswissenschaften ETH	8092 Zürich	renato.amado@ilw.agrl.ethz.ch
Amann, Ramona	Lebensmitteluntersuchungsanstalt des Landes Vorarlberg	6900 Bregenz	ramona.amann@vorarlberg.at
Armellini, Franz	Lebensmitteluntersuchungsanstalt des Landes Vorarlberg	6900 Bregenz	franz.armellini@vorarlberg.at
Arpagaus, Silvio	Amt für Lebensmittelsicherheit und Tiergesundheit	7001 Chur	silvio.arpagaus@alt.gr.ch
Bachmann, Hans Jörg	Agroscope FAL Reckenholz	8046 Zürich	hans-joerg.bachmann@fal.admin.ch
Beer, Michael	Bundesamt für Gesundheit	3003 Bern	michael.beer@bag.admin.ch
Blaser, Pia	Kantonales Labor Aargau	5000 Aarau	pia.blaser@ag.ch
Blumenthal, Marco	Zweifel Pomy-Chips AG	8957 Spreitenbach	marco.blumenthal@zweifel.ch
Breitenmoser, Alda	Kantonales Labor Zürich	8030 Zürich	alda.breitenmoser@klzh.ch
Brunner, Martin	Kantonales Labor Zürich	8032 Zürich	martin.brunner@klzh.ch
Bucheli, Thomas	Agroscope FAL Reckenholz	8046 Zürich	thomas.bucheli@fal.admin.ch
Bürgi, Christoph	Coop, Basel	4133 Pratteln	christoph.buergi@coop.ch
Bussmann, Walter	Kantonale Lebensmittelkontrolle	4509 Solothurn	walter.bussmann@ddi.so.ch
Cavin, Christophe	Nestlé Research Center	1000 Lausanne 26	christophe.cavin@rdls.nestle.com
Charrière, Roland	Bundesamt für Gesundheit	3003 Bern	roland.charriere@bag.admin.ch
Daniel, Raoul	Retraité	1295 Tannay	jetr.daniel@freesurf
Daniel, Jacqueline		1295 Tannay	jetr.daniel@freesurf.ch
Daniel, Jürg	Kantonales Labor Aargau	5000 Aarau	juerg.daniel@ag.ch
Delatour, Thierry	Nestec Ltd.	1000 Lausanne 26	thierry.delatour@rdls.nestle.com
Escher, Felix	Institut für Lebensmittel- und Ernährungswissenschaften ETH	8092 Zürich	escher@ilw.agrl.ethz.ch
Freudenschuss, Martin	Biopure Referenzsubstanzen GmbH	A-3430 Tulln,	martin.freudenschuss@biopure.at
Furrer, Patrick	Laboratoire cantonal VS	1950 Sion	patrick.furrer@admin.VS.CH
Gallusser, Anita	Bischofszell Nahrungsmittel AG	9220 Bischofszell	anita.gallusser@bina.ch
Gehri, Paul	Kantonales Labor Thurgau	8510 Frauenfeld	paul.gehri@tg.ch
Gemperle, Claudius	Kantonales Labor Aargau	5000 Aarau	claudius.gemperle@ag.ch
Gremaud, Gérard	Office Fédéral de la Santé Publique	3003 Bern	gerard.gremaud@bag.admin.ch
Gschwend, Karl W.	Präsident SGLWT	8583 Sulgen	karl.gschwend@hochdorf.com
Gude, Thomas	SQTS	8953 Dietikon	thomas.gude@sqts.ch
Guggisberg, Hans	Kantonales Labor Thurgau	8510 Frauenfeld	
Gulfi, Marianna	Institut für Lebensmittel- und Ernährungswissenschaften ETH	8092 Zürich	marianna.gulfi@ilw.agrl.ethz.ch
Häller Gärtner, Brigitte	RAC Changins	3126 Kaufdorf	gaertnerh @hispeed.ch
Hartmann, Niccolo	Agroscope FAL Reckenholz	8046 Zürich	niccolo.hartmann@fal.admin.ch
Imhof, Daniel	Amt für Lebensmittelsicherheit und Tiergesundheit	7001 Chur	daniel.imhof@alt.gr.ch
Järmann, Paul	QS Beratungen	9200 Gossau	info@qs-beratungen.ch
Jori, Elisabeth		D-70197 Stuttgart	
Jori, Heinz		D-70197 Stuttgart	

Kandler, Helmut	Kantonales Labor Zürich	8032 Zürich	helmut.kandler@klzh.ch
Känzig, André	Kantonales Labor Aargau	5000 Aarau	andre.kaenzig@ag.ch
Kichler, Gustav	Romer Labs Diagnostic GmbH	A-3130 Herzogenburg	gkichler@romerlabs.com
Kölbener, Pius	Amt für Lebensmittelkontrolle	9000 St. Gallen	pius.koelbener@gd-kal.sg.ch
Lafos, Kurt	Kantonales Labor Thurgau	8510 Frauenfeld	kurt.lafos@tg.ch
Lobeck, Klaus	Coring System Diagnostix GmbH	D-64579 Gernsheim	klaus.lobeck@coring.de
Luisier, Suzanne		1964 Conthey	luisierjl@bluewin.ch
Luisier, Jean-Luc		1964 Conthey	luisierjl@bluewin.ch
Lutz Marc	Unilever Schweiz GmbH	8240 Thayngen	marc.lutz@unilever.com
Lüönd, Markus	Labor Veritas	8027 Zürich	m.luond@laborveritas.ch
Marquardt, Anna	Labor Veritas	8027 Zürich	a.marquardt@laborveritas.ch
Meier, Pierre	Laboratoire cantonal Vaud	1066 Epalinges	pierre.meier@lc.vd.ch
Meyer, Rolf	Nestlé Product Technology Centre Orbe	1350 Orbe	rolf.meyer@rdor.nestle.com
Mohamed, Rayane	Nestec	1000 Lausanne 26	rayane.mohamed@rdls.nestle.com
Möhl, Ernst	Möhl AG Umwelttoxikologie,	9320 Arbon	moehsaft@moehl.ch
O'Brien, Evelyn	Universität Konstanz Amt für Lebensmittelkontrolle und	D-78457 Konstanz	Evelyn.OBrien@uni-konstanz.de
Oechslin Rahel	Umweltschutz Institut für Lebensmittel- und	8201 Schaffhausen	rahel.oechslin@ktsh.ch
Péneau, Sandrine	Ernährungswissenschaften ETH	8092 Zürich	sandrine.peneau@ilw.agrl.ethz.ch
Piantini, Umberto	HEVs	1950 Sion	piu@hevs.ch
Pittet, Alain	Centre de Recherche Nestlé	1000 Lausanne 26	alain.pittet@rdls.nestle.com
Realini, Pietro	Zweifel Pomy-Chips AG	8957 Spreitenbach	pietro.realini@zweifel.ch
Reymond, Dominique	11 chemin des Passiaux	1008 Prilly	
Rieker, Renée	Kantonales Labor Zürich	8032 Zürich	renee.rieker@klzh.ch
Ruf, Jürg	Kantonales Labor Thurgau	8510 Frauenfeld	juerg.ruf@tg.ch
Rutschmann, Marcel	Amt für Lebensmittelkontrolle Zug	6212 Steinhausen	marcel.rutschmann@gd.zg.ch
Schmitt, Rudolf	Hochschule Wallis	1950 Sion	scr@hevs.ch
Schüler, Martina	Fortisa AG	4528 Zuchwil	martina.sch@fortisa.ch
Schumacher, Katja		D-55545 Bad Kreuznach	Schumacher@em.uni-frankfurt.de
Siegiwart, Yvo		6430 Schwyz	
Stadler, Richard	Nestlé PTC Orbe	1350-Orbe	richard.stadler@rdor.nestle.com
Strebel, Karl	Kantonales Labor Zürich Inst. für Lebensmittel- und	8032 Zürich	karl.strebel@klzh.ch
Studer-Rohr, Irene	Ernährungswissenschaften ETH DG Sanco, Health & Consumer Protection	8092 Zürich	irene.studer@ilw.agrl.ethz.ch
Verstraete, Frans	Directorate General	B-1049 Brussels	Frans.Verstraete@cec.eu.int
Vogelgsang, Susanne	Agroscope FAL Reckenholz	8046 Zürich	susanne.vogelgsang@fal.admin.ch
Walter, Petra	Kantonales Labor Thurgau	8510 Frauenfeld	petra.walter@tg.ch
Walz, Rainer	Fluka GmbH	9470 Buchs	rwalz@sial.com
Winkenbach, Beatriz	Kantonales Labor Aargau	5000 Aarau	beatriz.winkebach@ag.ch
Wyss, Gabriela	FiBL	5070 Frick	gabriela.wyss@fibl.org
Zoller, Otmar	Bundesamt für Gesundheit	3003 Bern	otmar.zoller@bag.admin.ch