

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS	I
TABELLENVERZEICHNIS	V
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	VII
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	XII

1	EINLEITUNG	1
2	SCHRIFTTUM	3
2.1	Charakterisierung von TeA	3
2.1.1	<i>Allgemeines</i>	3
2.1.2	<i>Physikalisch-chemische Eigenschaften</i>	6
2.1.3	<i>Biologische Eigenschaften</i>	10
2.1.3.1	Toxizität	10
2.1.3.2	Andere Wirkungen	13
2.1.4	<i>Risikobewertung</i>	14
2.1.5	<i>Bildung, Vorkommen und Metabolismus</i>	15
2.1.5.1	TeA-bildende Schimmelpilze	15
2.1.5.2	Biosynthese und chemische Synthese von TeA	19
2.1.5.3	Vorkommen von TeA in pflanzlichen Produkten	20
2.1.5.4	Möglichkeiten der Verminderung eines <i>Alternaria</i> -Befalls in pflanzlichen Produkten	28
2.1.5.5	Übergang von TeA in Lebensmittel tierischen Ursprungs	30
2.2	Verfahren zum Nachweis von Tenuazonsäure	30
2.2.1	<i>Extraktion und Reinigung</i>	30
2.2.2	<i>Biologische Nachweisverfahren</i>	34
2.2.3	<i>Immunologische Nachweisverfahren</i>	35
2.2.4	<i>Physikalisch-chemische Nachweisverfahren</i>	38
2.2.4.1	Chromatographische Verfahren	38
2.2.4.1.1	Dünnschichtchromatographie (DC)	38

2.2.4.1.2	Gaschromatographie (GC) / Massenspektrometrie (MS)	41
2.2.4.1.3	Flüssigkeitschromatographie (LC) und Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC)	43
3	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	46
3.1	MATERIAL UND GERÄTE	46
<i>3.1.1</i>	<i>Chemikalien und Biochemika</i>	46
<i>3.1.2</i>	<i>Mykotoxine</i>	47
<i>3.1.3</i>	<i>Immunreagenzien</i>	47
<i>3.1.4</i>	<i>Puffer und Lösungen</i>	47
<i>3.1.5</i>	<i>Geräte und sonstige Materialien</i>	48
3.1.5.1	Hard- und Software	48
3.1.5.2	Photometer	48
3.1.5.3	Enzymimmuntests	48
3.1.5.4	Hochdruckflüssigkeitschromatographie	49
3.1.5.5	Mykologische Untersuchung	49
3.1.5.6.	Sonstiges	49
<i>3.1.6</i>	<i>Probenmaterialien</i>	50
3.1.6.1	Lebensmittel	50
3.1.6.1	Pilzkulturen	50
3.2	METHODIK	52
<i>3.2.1</i>	<i>Überprüfung des TeA-Standardmaterials</i>	52
<i>3.2.2</i>	<i>Herstellung der Immunreagenzien</i>	53
3.2.2.1	Kopplungsmethoden	53
3.2.2.1.1	Kopplung mittels aktiver Estermethode	54
3.2.2.1.2	Kopplung von TeA an BSA und KLH mittels Mannich-Kondensation	57
3.2.2.1.2.1	Kopplung von TeA an Keyhole Limpet Hemocyanin (TeA-KLH)	57
3.2.2.1.2.2	Herstellung eines TeA-bovines Serumalbumin-Konjugates (TeA-BSA)	57
3.2.2.1.3	Kopplung mittels reduktiver Alkylierung unter Verwendung von Natriumperjodat (PJ)	58
3.2.2.1.4	Charakterisierung der hergestellten TeA-Konjugate	59

3.2.3	Gewinnung spezifischer Anti-Tenuazonsäure-Antiseren	60
3.2.3.1	Immunisierung	60
3.2.3.2	Blutentnahme und Serumgewinnung	62
3.2.3.3	Kontrolle des Immunisierungsverlaufs	62
3.2.3.4	Auswahl geeigneter Antiseren durch parallele kompetitive Titration (Hemmtitration)	63
3.2.4	Entwicklung eines kompetitiven indirekten Enzymimmuntests	66
3.2.5	Entwicklung eines kompetitiven direkten Enzymimmuntests (Doppelantikörpertypentechnik)	66
3.2.6	Untersuchungen zur Anwendbarkeit des kompetitiven direkten Enzymimmuntests	69
3.2.6.1	Nachweis von TeA in Apfelsaft	70
3.2.6.2	Nachweis von TeA in Tomatenerzeugnissen	71
3.2.6.2.1	Tomatensaft	71
3.2.6.2.2	Tomatenketchup	72
3.2.6.2.3	Tomatenmark	72
3.2.6.3	Nachweis von TeA in schimmelbefallenen Tomaten nach verschiedener Lagerungszeit	73
3.2.6.4	Orientierende Untersuchungen zum TeA-Bildungsvermögen verschiedener Schimmelpilze	74
4	ERGEBNISSE	75
4.1	Überprüfung des TeA-Standardmaterials	75
4.2	Herstellung der Immunreagenzien	80
4.3	Gewinnung spezifischer Antiseren gegen Tenuazonsäure	85
4.3.1	Antikörper-Titerverlauf	85
4.3.2	Auswahl geeigneter Antiseren	88
4.4	Entwicklung eines kompetitiven indirekten Enzymimmuntests	89
4.5	Entwicklung eines kompetitiven direkten Enzymimmuntests (Doppelantikörpertypentechnik)	89
4.6	Anwendbarkeit des Nachweisverfahrens unter Verwendung von künstlich und natürlich kontaminierten Probenmaterialien	95

4.6.1	Nachweis von TeA in Apfelsaft	95
4.6.2	Nachweis von TeA in Tomatenerzeugnissen	96
4.6.3	Untersuchung von natürlich verschimmelten Tomaten auf TeA	101
4.6.4	Untersuchung von Schimmelpilz-Kulturmateriale auf TeA	105
5	DISKUSSION	107
5.1	Synthese von TeA-Proteinkonjugaten	108
5.2	Antikörper gegen TeA und Entwicklung des enzymimmunologischen Nachweisverfahrens	109
6	ZUSAMMENFASSUNG	115
7	SUMMARY	117
8	LITERATURVERZEICHNIS	119
DANKSAGUNG		146
EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG		147
VERÖFFENTLICHUNGEN		147