

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG.....	1
2	SCHRIFTTUM.....	3
2.1	Allgemeines zu DON und ZEA.....	3
2.2	Physikalisch-chemische Eigenschaften.....	5
2.2.1	DON.....	5
2.2.2	ZEA.....	6
2.3	Toxizität und Risikobewertung.....	8
2.3.1	DON.....	8
2.3.2	ZEA.....	16
2.4	Metabolismus von DON und ZEA nach oraler Aufnahme.....	19
2.4.1	DON.....	19
2.4.2	ZEA.....	20
2.4.3	Carry over von DON und ZEA.....	22
2.5	Bildung und Vorkommen von DON und ZEA.....	23
2.6	Nachweis von DON und ZEA	29
2.6.1	Extraktion und Reinigung.....	29
2.6.2	Biologische Nachweisverfahren.....	32
2.6.3	Physikalisch-chemische Nachweisverfahren.....	32
2.6.3.1	Dünnschichtchromatographie (DC).....	32
2.6.3.2	Flüssigkeitschromatographie.....	34
2.6.3.3	Gaschromatographie.....	37
2.6.4	Immunologische Verfahren.....	39
2.7	Gesetzliche Grundlagen für Höchstgrenzen für DON und ZEA in Deutschland, der Europäischen Union und anderen Ländern.....	42

3	MATERIAL UND METHODEN.....	44
3.1	Materialien und Geräte.....	44
3.1.1.	Chemikalien und Biochemika.....	44
3.1.2	Mykotoxine.....	45
3.1.3	Immunreagenzien.....	45
3.1.4.	Puffer und Lösungen.....	46
3.1.5	Geräte und Hilfsmittel.....	46
3.1.6	Enzymimmuntests.....	47
3.1.7	Hochdruckflüssigkeitschromatographie.....	47
3.1.8	Probenmaterial.....	48
3.2	Methoden.....	49
3.2.1	Etablierung der enzymimmunologischen Untersuchungsverfahren.....	49
3.2.1.1	Enzymimmuntest für den Nachweis von DON.....	49
3.2.1.1.1	Herstellung und Überprüfung des Toxinstandards.....	49
3.2.1.1.2	Herstellung und Überprüfung eines DON-Enzymkonjugates.....	50
3.2.1.1.3	Überprüfung zweier Testsysteme für den Nachweis von DON (auf Basis polyklonaler bzw. monoklonaler Antikörper).....	52
3.2.1.1.3.1	Überprüfung der Sensitivität und Reproduzierbarkeit der Verfahren.....	54
3.2.1.1.3.2	Überprüfung der Spezifität der Verfahren.....	54
3.2.1.2	Enzymimmuntest für den Nachweis von ZEA.....	55
3.2.1.2.1	Herstellung und Überprüfung der Toxinstandards.....	55
3.2.1.2.2	Herstellung und Überprüfung eines ZEA-Enzymkonjugates.....	56
3.2.1.2.3	Überprüfung des Testsystems für den Nachweis von ZEA.....	58
3.2.1.2.3.1	Überprüfung der Sensitivität und Reproduzierbarkeit des Verfahrens.....	58
3.2.1.2.3.2	Überprüfung der Spezifität des Verfahrens.....	58
3.2.1.3	Erarbeitung geeigneter Extraktionsverfahren.....	59
3.2.1.3.1	Extraktion von DON.....	59
3.2.1.3.2	Extraktion von ZEA.....	60
3.2.1.4	Untersuchung mittels HPLC.....	61
3.2.1.4.1	Nachweis von DON mittels HPLC.....	61
3.2.1.4.2	Nachweis von ZEA mittels HPLC.....	63

3.2.1.4.3	Vergleich der Methoden (EIA und HPLC) zum Nachweis von DON und ZEA.....	65
3.2.2	Untersuchung von getreidehaltigen Lebensmittelproben und Konsummilch auf DON und ZEA.....	66
3.2.2.1	Nachweis von DON.....	66
3.2.2.2	Nachweis von ZEA.....	67
3.2.3	Auswertungskriterien.....	67
3.2.4	Berechnung der täglichen Aufnahme von DON bzw. ZEA durch den Verbraucher.....	68
4	ERGEBNISSE.....	72
4.1	Etablierung der Untersuchungsverfahren.....	72
4.1.1	Enzymimmuntest für den Nachweis von DON.....	72
4.1.1.1	Überprüfung der Toxinstandards.....	72
4.1.1.2	Überprüfung des Toxinkonjugates.....	73
4.1.1.3	Überprüfung zweier Testsysteme für den Nachweis von DON.....	76
4.1.1.3.1	Sensitivität und Reproduzierbarkeit.....	76
4.1.1.3.2	Spezifität.....	77
4.1.2	Enzymimmuntest für den Nachweis von ZEA.....	78
4.1.2.1	Überprüfung der Toxinstandards.....	78
4.1.2.2	Überprüfung des Toxinkonjugates.....	78
4.1.2.3	Überprüfung des Testsystems für den Nachweis von ZEA.....	80
4.1.2.3.1	Sensitivität und Reproduzierbarkeit.....	80
4.1.2.3.2	Spezifität	81
4.1.3	Probenvorbereitungsverfahren.....	81
4.1.3.1	Sensitivität und Reproduzierbarkeit der Verfahren.....	81
4.1.3.1.1	DON.....	81
4.1.3.1.2	ZEA.....	84

4.1.4	Untersuchung mittels HPLC.....	86
4.1.4.1	Nachweis von DON.....	86
4.1.4.2	Nachweis von ZEA.....	89
4.1.5	Methodenvergleich EIA und HPLC zum Nachweis von DON.....	93
4.1.6	Methodenvergleich EIA und HPLC zum Nachweis von ZEA.....	95
4.2	Untersuchung von getreidehaltigen Lebensmitteln und von Konsummilch auf DON und ZEA mittels EIA und HPLC.....	95
4.2.1	DON.....	95
4.2.2	ZEA.....	107
4.2.3	Zusammenfassende Darstellung der Belastung von Lebensmitteln mit DON und ZEA.....	108
4.3	Abschätzung der täglichen Aufnahme von DON.....	110
5.	DISKUSSION.....	112
5.1	Anwendbarkeit des eingesetzten EIA-Testverfahrens für DON.....	113
5.2.	Methodenvergleich EIA und HPLC für DON.....	113
5.3	Anwendbarkeit des eingesetzten EIA-Testverfahrens für ZEA.....	114
5.4	Methodenvergleich EIA und HPLC für ZEA.....	115
5.5	Belastung der Lebensmittel mit den Mykotoxinen DON und ZEA.....	116
5.5.1	Vorkommen von DON und ZEA in verschiedenen Lebensmittelgruppen....	116
5.5.2	Vergleich der DON-Ergebnisse in ökologisch und konventionell hergestellten Lebensmitteln.....	118
5.5.3	Mykotoxinbelastung über vier Jahre betrachtet.....	119
5.6	Vorkommen von DON und ZEA in Konsummilch.....	119

5.7	Abschätzung der Gefährdung des Verbrauchers durch DON und ZEA belastete Lebensmittel.....	120
6.	ZUSAMMENFASSUNG.....	123
7.	SUMMARY.....	125
8.	LITERATURVERZEICHNIS.....	126
9.	DANKSAGUNG.....	156
10.	EIDESSTAATLICHE ERKLÄRUNG.....	157