

Nachweis von Mykotoxinen in Nüssen

Mykotoxine sind natürliche Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen, die bei Menschen und Tieren eine toxische Wirkung zeigen. Ebenso wie antibiotikabildende Mikroorganismen sind mykotoxinbildende Schimmelpilzarten weltweit verbreitet. Die giftigsten Vertreter der Mykotoxine sind die Aflatoxine. Lebensmittel, die aufgrund von Pilzbefall ein erhöhtes Risiko der Aflatoxin-Freisetzung zeigen, sind neben Trockenfrüchten und Gewürzen auch Nüsse (z. B. Erdnüsse, Haselnüsse, Pistazien) und Getreide (z. B. Weizen, Mais).

© www.enius.de



■ Haselnüsse vor der Zerkleinerung



■ Das Ergebnis der Vorzerkleinerung

Mykotoxine werden oft nur unter bestimmten Temperatur- und Feuchtigkeitsbedingungen und bei reichlichem Nährstoffangebot gebildet, wie dies bei Lebensmitteln der Fall ist. Ursache ist meist eine falsche oder zu lange Lagerung. Oft entsteht nicht nur eine Substanz, sondern eine ganze Familie chemisch verwandter Verbindungen. Mykotoxine sind weitgehend hitzestabil und werden daher bei der Nahrungsmittelverarbeitung in der Regel nicht zerstört.

Vor- und Feinzerkleinerung

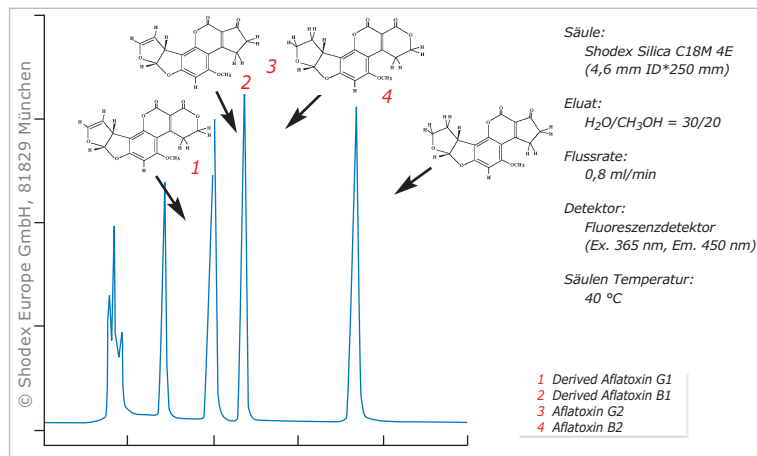
Um die Mykotoxine hinreichend aus dem Ausgangsmaterial zu extrahieren, muss die Probe zuvor zerkleinert und homogenisiert werden. Da die Grenzwerte für die Mykotoxin-Belastung zwischen 0,025 und 15 µg/kg liegen und ein Pilzbefall meist in Nestern erfolgt, muss eine Stichprobe ausreichend groß sein, um eine Kontamination nachweisen zu können. Dazu wird eine repräsentative Menge von ca. 1 bis 2 kg pro Tonne an gelieferten Nüssen zunächst mit der RETSCH **Schneidmühle SM 100** auf eine Partikelgröße von ca. 1 - 3 mm vorzerkleinert. Diese Mühle wird vor allem für die schnelle und schonende Zerkleinerung trockener Materialien bis zu einer Endfeinheit von 0,25 mm eingesetzt. Anschließend erfolgt eine repräsentative Probenteilung mit dem **Rotationsprobenteiler PT 100**, der über eine extrem hohe Teilgenauigkeit verfügt.

Die gewonnene Teilprobe wird nun der **Feinzerkleinerung** zugeführt. Hierfür bietet sich die RETSCH **Ultra-Zentrifugalmühle ZM 200** an. Diese leistungsstarke Rotormühle ist einfach und sicher in der Bedienung und kann aufgrund der umfangreichen Zubehörpalette sehr vielseitig eingesetzt werden. So sind für die Aufbereitung der Haselnüsse zum Beispiel die **Distanzsiebe** besonders geeignet, welche speziell für die Zerkleinerung temperaturempfindlicher spröder Proben entwickelt wurden. Da Mykotoxine gut fettlöslich sind, sollte die Vermahlung möglichst schonend erfolgen, um die Freisetzung von Fetten aus dem Probenmaterial zu vermeiden. Eine Feinheit von ca. 300 µm ist ausreichend für die nachfolgende Extraktion der Mykotoxine aus dem Probenmaterial.

Extraktion

Für die Extraktion werden 25 g der homogenisierten Nussprobe mit 200 ml Wasser/Acetonitril (16+84 v/v) 60 Minuten geschüttelt und filtriert. 100 ml des Filtrates werden mit 100 ml Petrolether extrahiert; die Petroletherphase wird verworfen. Ein Aliquot wird mit Aktivkohle / Al₂O₃ / Celite (7:5:3 - w/w/w) 10 Minuten gerührt, dann zentrifugiert, der Überstand eingedampft und in Wasser aufgenommen. Die Lösung wird auf eine Immunoaffinitätssäule aufgetragen, mit Wasser gewaschen und mit Methanol eluiert. Das Eluat wird dann mittels HPLC aufgetrennt.

Hochleistungs-Flüssig-Chromatographie



Die Abbildung zeigt ein **typisches Chromatogramm einer aflatoxinbelasteten Probe**. Neben der Zuordnung der Art des Mykotoxins ist auch eine exakte Aussage über die quantitative Belastung möglich.

HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ist eine Analysenmethode, die sich durch eine Reihe von Vorteilen wie **hohe Selektivität und Reproduzierbarkeit** und **sehr niedrige Nachweisgrenzen** auszeichnet.

Für die Probenvorbereitung stehen mit kommerziell erhältlichen Immunoaffinitäts (IA)-Säulen spezielle Festphasen-Extraktions (SPE)-Säulen zur Verfügung, bei denen die Aflatoxine an selektiv bindenden Antikörpern aus der Matrix isoliert und mit organischen Lösungsmitteln eluiert werden. Die erhaltenen Probenextrakte werden abschließend über eine RP18-HPLC-Phase separiert und die Mykotoxine mittels Fluoreszenz nach Nachsäulenderivatisierung, die zumeist mit einer Brom- oder einer Jodlösung erfolgt, detektiert.

Häufig hängt die Freigabe von ganzen Schiffsladungen, davon ab, dass der Aflatoxingehalt in Nüssen schnell und exakt bestimmt werden kann. Die hier beschriebene Methode liefert repräsentative Ergebnisse in kurzer Zeit und gewährleistet somit sowohl für den Lieferanten als auch für den Verbraucher optimalen Schutz.

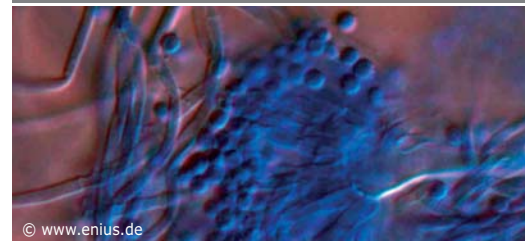
DIE WICHTIGSTEN MYKOTOXINBILDENDEN PILZE



ALTERNARIA



PENICILLIUM



ASPERGILLUS



SCHNEIDMÜHLE SM 100

- Aufgabegut: weich, mittelhart, elastisch, faserig
- Aufgabekorngröße: < 60 x 80 mm
- Endfeinheit: 0,25 - 20 mm
- definierte Endfeinheit durch Bodensiebe
- 3 Trichter-Varianten für unterschiedliche Materialien
- geringe thermische Belastung des Mahlgutes

SM 100