

**Hochschule für Angewandte Wissenschaften  
Fakultät Life Sciences  
Studiengang Ökotrophologie**

*Untersuchung zum Deoxynivalenol-Gehalt von Weizen  
in Abhängigkeit der Getreidereinigungsstufen*

**Bachelorarbeit**

**Tag der Abgabe: 09.10.2013**

**Vorgelegt von**  
*Tatjana Sagunski*  
*Matrikel-Nr. 2036060*

**Betreuender Prüfer**  
*Prof. Dr. Michael Häusler*

**Zweiter Prüfer**  
*Dipl.-Ing. Hans-Heinrich Hagenah*

## ***Danksagung***

An erster Stelle bedanke ich mich ganz herzlich bei Herrn Dipl.-Ing. Hagenah für die Überlassung dieses Themas und fortlaufende Unterstützung und Diskussionsbereitschaft während der Arbeit. Vielen Dank für die Möglichkeit, bei Ihnen diese analytische Laborarbeit durchführen zu können.

Für die Korrektur der vorliegenden Arbeit und Hilfestellung bei der Bearbeitung dieses Themas danke ich außerdem Herrn Prof. Dr. Häusler.

Weiterhin bedanke ich mich bei allen Mitarbeitern der Aurora Mühle Hamburg. Durch ihre offene Art konnte ich diese Arbeit in einer hilfsbereiten und kooperativen Atmosphäre durchführen. Mein besonderer Dank gilt dabei dem Qualitätssicherungsteam für viele wunderbare, amüsante Stunden und das Gefühl, immer willkommen zu sein.

Bei allen Müllerinnen und Müllern bedanke ich mich für die herzliche Zusammenarbeit und wertvolle Hinweise. Sie erst haben die Durchführung dieser Untersuchung möglich gemacht. Besonders hervorheben möchte ich Herrn Witte, Antje, Steffen, Christian, Sören, Patrick und Chris.

An dieser Stelle möchte ich auch meiner Familie ganz besonders danken. Meinem Vater, der durch kritische Nachfragen und Verbesserungstipps zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat. Und meiner Mutter für ihre moralische Unterstützung in schwierigen Phasen. Danke für die finanzielle Unterstützung während des Studiums und die Freiheit, mich meinen Weg gehen zu lassen.

Last but not least gilt mein Dank vor allem Mario. Vielen Dank für die emotionale Unterstützung, die Zuversicht und den tiefen Glauben an mich.

## **Inhaltsverzeichnis**

<b>1. Einleitung</b> .....	5
1.1 Schimmelpilze .....	6
1.2 Mykotoxine .....	6
1.3 Fusarien .....	7
1.4 Das Fusariumtoxin Deoxynivalenol .....	8
1.4.1 Chemische Struktur und physikalische Eigenschaften .....	8
1.4.2 Vorkommen von Deoxynivalenol in Getreide .....	9
1.4.3 Aufnahme von Deoxynivalenol beim Menschen .....	10
1.4.4 Toxizität von Deoxynivalenol .....	10
1.4.5 Grenzwerte für Deoxynivalenol in Getreideprodukten .....	11
1.5 Faktoren für einen Mykotoxinbefall sowie daraus ableitbare Dekontaminationsmöglichkeiten .....	13
1.5.1 Fruchtfolge .....	13
1.5.2 Bodenbearbeitung .....	14
1.5.3 Sortenwahl .....	14
1.5.4 Einfluss des Klimas .....	14
1.5.5 Ernte .....	15
1.5.6 Getreideannahme .....	15
1.5.7 Getreidelagerung .....	16
1.5.8 Getreidereinigung .....	16
1.6 Fragestellung .....	16
<b>2. Untersuchung auf Deoxynivalenol in Weizen</b> .....	17
2.1 Vorbereitende Maßnahmen .....	17
2.1.1 Auswahl eines geeigneten Weizens .....	17
2.1.2 Erstellung eines Probenahmeplans .....	18
2.1.3 Zusammenstellung eines Probenahmeteams .....	18
2.1.4 Ort und Tag der Probenahme .....	18
2.2 Durchführung .....	18

2.2.1	<i>Kontrollpunkte</i> .....	19
2.2.2	<i>Vorbereiten der Proben für die Analyse</i> .....	22
2.3	<i>Analytische Bestimmung von Deoxynivalenol in Weizen</i> .....	23
<b>3.</b>	<b><i>Ergebnisse zu Deoxynivalenol-Gehalten in Weizen und Weizenmahlerzeugnissen</i></b> .....	<b>24</b>
<b>4.</b>	<b><i>Diskussion</i></b> .....	<b>30</b>
4.1	<i>Fehlermöglichkeiten bei der Probenahme</i> .....	31
4.2	<i>Fehlermöglichkeiten bei der analytischen Bestimmung von Deoxynivalenol</i> .....	31
4.3	<i>Verteilung von Deoxynivalenol innerhalb des Weizens während der Reinigung und in den Weizenmahlerzeugnissen nach der Reinigung</i> .....	33
4.4	<i>Deoxynivalenol-Belastung der Abgänge und Effektivität der Reinigung</i> .....	37
5.	<i>Fazit und Ausblick</i> .....	39
	<b><i>Literaturverzeichnis</i></b> .....	<b>42</b>
	<b><i>Abbildungsverzeichnis</i></b> .....	<b>47</b>
	<b><i>Tabellenverzeichnis</i></b> .....	<b>47</b>
	<b><i>Anhang</i></b> .....	<b>48</b>

## **1. Einleitung**

Getreide ist eines der Grundnahrungsmittel in Deutschland. In keinem anderen Land der Welt gibt es so viele Brotsorten wie in Deutschland – wenn sie könnten, würden die Deutschen ihr geliebtes Brot zum UNESCO-Welterbe erklären (Pressemitteilung Nr. 105 vom 22.05.11. Aigner: Deutsches Brot als Kulturerbe schützen, 2013). Trotz ihres innigen Verhältnisses zum Brot ist den meisten Deutschen nicht bekannt, welcher Aufwand erforderlich ist, um gesundheitlich unbedenkliche und hochwertige Mehle zu gewinnen und daraus Brot herzustellen.

Die größte Herausforderung beim Anbau, Transport und Vermahlung von Getreide ist die Verhinderung einer Kontamination mit Pilzen. Aktuelles Beispiel ist die Überschreitung des Grenzwertes von Aflatoxin in Futtermais aus Serbien. Infolge von Wärme und Feuchtigkeit hatten sich Sporen eines Schimmelpilzes der Gattung *Aspergillus flavus* im Mais vermehrt (Wolz, 2013). Wie kommt es zu einem Schimmelbefall in Getreide und was kann man bei der Getreideverarbeitung in einer Mühle gegen diesen Befall tun?

In dieser Arbeit wird zunächst die gesundheitliche Bedeutung von Schimmelpilzen und Schimmelpilzgiften in Lebensmitteln im Allgemeinen und dann im Besonderen am Beispiel von Fusarien und dem von ihnen gebildeten Schimmelpilzgift Deoxynivalenol erklärt. Anschließend werden Möglichkeiten zur Verringerung des Vorkommens dieser Schimmelpilze im Getreide vorgestellt. Neben Maßnahmen direkt auf dem Feld ist die Getreidereinigung ein entscheidender Faktor. Die vorliegende Arbeit befasst sich dabei erstens mit dem Einfluss der Getreidereinigung auf die Verteilung von Deoxynivalenol in Weizen und Weizenmahlerzeugnissen. Zweitens wurde die Effektivität verschiedener Getreidereinigungsmaschinen untersucht.

Im Hauptteil dieser Arbeit wird die Vorbereitung und Durchführung der Laboruntersuchung auf Deoxynivalenol in Getreideprodukten erläutert sowie die Ergebnisse dargestellt und diskutiert. Abschließend wird ein Fazit gezogen und ein Ausblick gegeben, der die Aktualität dieses Schimmelpilzgiftes unterstreicht.

## 1.1 Schimmelpilze

Alle auf einem geeigneten Substrat wie z. B. Lebensmitteln wachsenden Pilze mit einem sichtbaren Myzel werden Schimmelpilze genannt (Krämer, 2007, S. 17). Sie stellen laut Weidenbörner eine ökologische Einheit dar, die sich durch bestimmte morphologische und physiologische Merkmale auszeichnen, die in ihrer Gesamtheit ihre spezielle Lebensweise ausmachen (Weidenbörner, 1999, S. 1). Schimmelpilze besitzen die Fähigkeit, ein Netz aus Pilzfäden zu bilden, welche Hyphen genannt werden. Alle Hyphen zusammen bilden das Myzel (Weidenbörner, 1999, S. 1). Schimmelpilze treten ubiquitär auf, wobei ihre Ansprüche an ihre Umgebung für ein optimales Wachstum variieren. Sie vermehren sich sowohl sexuell als auch asexuell (Krämer, 2007, S. 17,18). Einige Schimmelpilze können außerdem giftige Substanzen bilden, die sogenannten Mykotoxine.

## 1.2 Mykotoxine

Mykotoxine sind sekundäre Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen, die toxisch für Tier und Mensch sein können (Krämer, 2007, S. 92), (Weidenbörner, 1999, S. 41). Damit Toxine gebildet werden, wird das Wachstum von potenziell toxischen Schimmelpilzarten vorausgesetzt, jedoch ist ein starkes Pilzwachstum nicht gleichzusetzen mit einer starken Toxinbildung (Spicher, 1981, S. 349-350). Die fünf Pilzgattungen *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria* und *Claviceps* gehören zu den wichtigsten Toxinbildnern, die für Menschen relevant sind (Gareis, 1999, S. 5). Die durch Mykotoxine hervorgerufenen Krankheiten nennt man Mykotoxikosen.

Erste Hinweise auf Mykotoxikosen durch befallenes Getreide stammen aus der Zeit um 600 v. Chr. Auf einer assyrischen Tontafel wurden „schädliche Gebilde in Getreide“ beschrieben. Aufgrund der Beschreibung ist anzunehmen, dass damit das sogenannte Mutterkorn bzw. die darin enthaltenen Ergotalkaloide gemeint waren, die von bestimmten Getreidearten nach einem Befall mit *Claviceps purpurea* ausgebildet werden.

Beschreibungen, dass es immer wieder zu Erkrankungen durch den Genuss von Brot kam, das aus Getreide hergestellt wurde, welches mit diesen Pilzen belastet war, liegen aus dem Mittelalter vor. Diese offenbar regelmäßig auftretenden Epidemien wurden „Heiliges Feuer“, „St. Antonius Feuer“ oder „Kriebel-(Kribbel)Krankheit“ genannt (Weidenbörner, 1999, S. 41). Diese Namen lassen sich dadurch erklären, dass die akute Mutterkornvergiftung durch eine anhaltende Verengung der Blutgefäße zum Absterben der äußeren Extremitäten führt. Wie bedeutsam diese Krankheit im Mittelalter war, zeigt sich daran, dass sie auf einem Seitenflügel des Isenheimer Altars abgebildet ist.

Auslöser einer intensiven Suche nach der Ursache von Schimmelpilzvergiftungen und der Entdeckung von Mykotoxinen war die sogenannte Truthahn-X-Krankheit 1960. In England verendeten in diesem Jahr etwa 100.000 Truthühner. Die Massenvergiftung war auf Aflatoxine von *Aspergillus flavus* in verschimmeltem Erdnussschrot zurückgeführt worden (Weidenbörner, 1999, S. 42).

Es gibt verschiedene Ursachen, die die Anwesenheit von Mykotoxinen in Nahrungsmitteln nach sich ziehen. Erstens kann eine Primärkontamination mit Mykotoxinen schon auf dem Feld durch Befall durch einen Schimmelpilz erfolgen oder beim Verderb der Lebensmittel durch Schimmelpilze entstehen. Eine zweite Möglichkeit ist die Verarbeitung toxinhaltiger Roh- und Zwischenprodukte beim Herstellungsprozess. Drittens kann ein sogenannter „Carry-Over“-Effekt eintreten, wenn toxinhaltiges Futter an Tiere verfüttert wird und die Mykotoxine in daraus hergestelltes Fleisch oder hergestellte Milch gelangen (Krämer, 2007, S. 93).

Mykotoxin-bildende Pilze werden in zwei Gruppen unterteilt. Die erste Gruppe, die sogenannten Lagerpilze, infiziert das Getreide nach der Ernte, während es gelagert wird. Der bekannteste Vertreter dieser Gruppe ist *Aspergillus flavus*. Die Gruppe der Feldpilze hingegen befällt das Getreide beim Wachstum auf dem Feld und produziert Toxine noch vor der Ernte. Zu den Feldpilzen gehört die Gattung *Fusarium* spp., die unter anderem Deoxynivalenol produziert.

### 1.3 *Fusarien*

Pilze der Gattung *Fusarium* sind ubiquitär vertreten und befallen weltweit verschiedene Pflanzen wie Weizen, Gerste und Mais. 1809 wurde der Gattungsbegriff „*Fusarium*“ durch Heinrich-Friedrich Link geprägt zur Beschreibung fusiformer (spindelförmiger) Sporen (Gruber-Schley, 1987, S. 8). Erstmals nachgewiesen wurde die Toxizität von *Fusarien* 1960. Anlass für die Untersuchung war das Auftreten einer damals unbekanntes Krankheit in den sogenannten Hungerjahren 1942 - 1947 in Orenburg in der UdSSR. Man gab ihr den Namen Alimentäre Toxische Aleukie. Sie wurde auf den Verzehr von Getreide zurückgeführt, welches den Winter lang unter einer Schneedecke gelegen hatte. Es stellte sich heraus, dass das Getreide stark mit Schimmelpilzen der Gattungen *Penicillium*, *Alternaria*, *Mucor*, *Fusarium* und *Cladosporium* belastet war, wobei die toxische Wirkung vor allem den *Fusarien* zugeschrieben wurde (Gruber-Schley, 1987, S. 3).

*Fusarium*arten wachsen meist saprophytisch auf totem Pflanzenmaterial auf dem Boden. Manche Arten dringen aber auch parasitisch in lebende Pflanzen ein und zerstören das

Gewebe (Gruber-Schley, 1987, S. 10). Fusarien überleben als Zusammenlagerung mehrerer Hyphen (Sklerotien), Sporen oder als einzellige Dauersporen (Chlamydosporen) (Weidenböner, 1999, S. 2). Insbesondere *Fusarium graminearum* ist in der Lage, Ascosporen zu bilden, diese aktiv auszuschleudern und durch den Wind verbreiten zu lassen (Schlang, 2010, S. 3). Hauptsächlich findet die Verbreitung passiv durch Aufwirbelungen beim Regen statt, wobei Regenspritzer die Sporen etappenweise über die Blattetagen oder direkt zur Ähre transportieren (Schlang, 2010, S. 3).

Fusarien können in einem Temperaturbereich von 1-39°C wachsen. Das Wachstumsoptimum liegt bei 25-30°C. Mykotoxine werden in der Regel bei 8-12°C gebildet (Krämer, 2007, S. 98). Fusarien benötigen relativ viel frei verfügbares Wasser, angegeben als sogenannte Wasseraktivität ( $a_w$ -Wert). Der minimale  $a_w$ -Wert beträgt 0,87, wobei das Wachstumsmaximum bei  $a_w$ -Werten um 0,99 liegt (Gruber-Schley, 1987, S. 12). Eine Infektion des Getreides mit Fusarien ist vom Beginn der Ausbildung der Ähre bis zur Teigreife (Korninhalt weich und trocken) möglich, das anfälligste Stadium allerdings ist die Blüte (Schlang, 2009, S. 3). Ein Fusariumbefall äußert sich in Pflanzenkrankheiten wie zum Beispiel der partiellen Taubährigkeit. Darunter versteht man das Ausbleichen infizierter und nicht infizierter Ährchen sowie die Ausbildung von Kümmerkörnern (Schlang, 2010, S. 4). Die beiden häufigsten Fusarien, die Getreide befallen, sind *Fusarium graminearum* und *Fusarium culmorum* (Krämer, 2007, S. 98).

## *1.4 Das Fusariumtoxin Deoxynivalenol*

### *1.4.1 Chemische Struktur und physikalische Eigenschaften*

Fusarien bilden eine Vielzahl von Mykotoxinen, z.B. Trichothecene, Fumonisine, Moniliformin und Zerealenon. Es wurden mittlerweile über 150 verschiedene Trichothecene entdeckt (Weidenböner, 1999, S. 68). Ihr gemeinsames Kennzeichen ist das tetrazyklische 12-Epoxytrichothec-9-en-Ringsystem.

Die Trichothecene unterteilen sich aufgrund verschiedener Substituenten in vier Untergruppen. Man spricht von Typ A, B, C und D. Die Typ A-Trichothecene tragen in Position 8 Acetylreste. Zu den wichtigsten Vertretern dieser Stoffklasse gehören das T-2-Toxin sowie sein Abbauprodukt HT-2-Toxin. Das T-2-Toxin weist die höchste Giftigkeit der Typ A-Trichothecene aus und ist auch toxischer als die Typ B-Trichothecene. Typ B-Trichothecene verfügen am C8 über eine Carbonylgruppe, Typ C hat zusätzliche Epoxidgruppen am Grundgerüst. Die Typ D-Trichothecene werden auch als

makrozyklische Trichothecene bezeichnet, da sie einen zusätzlichen Ring zwischen C4 und C15 besitzen.

Zu den wichtigsten und auch am häufigsten nachgewiesenen Typ B-Trichothecenen gehört Deoxynivalenol (DON). Der chemische Name lautet 12,13-Epoxy-3 $\alpha$ ,7 $\alpha$ ,15-trihydroxytrichothec-9-en-8-on (siehe Abbildung 1). DON bildet farblose Kristalle und besitzt einen Schmelzpunkt von 151-153°C. Es ist sowohl in Wasser als auch in polaren Lösungsmitteln wie einem Methanol-Wassergemisch und Ethylacetat löslich (EFSA, 2004).

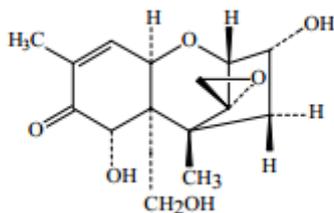


Abbildung 1: Chemische Struktur von Deoxynivalenol (EFSA, 2004)

#### 1.4.2 Vorkommen von Deoxynivalenol in Getreide

DON wird fast ausschließlich in Getreide nachgewiesen. Übliche Konzentrationen an DON können mehrere hundert Mikrogramm DON pro kg Getreide betragen. Generelle Aussagen zum üblichen Vorkommen sind aber schwierig zu machen, da die DON-Gehalte durch die Wettereinflüsse von Jahr zu Jahr stark schwanken. In Europa reichen die DON-Gehalte von wenigen Mikrogramm pro kg bis zu über 30 mg/kg Getreide (Placinta, D'Mello, & Macdonald, 1999, S. 1). Neben DON wurde meistens auch Nivalenol sowie Zearalenon nachgewiesen.

Während DON häufig und manchmal in sehr hohen Konzentrationen in Mais und Weizen vorkommt, ist es selten und in relativ geringen Konzentrationen in Hafer, Roggen und Gerste nachzuweisen. Im Jahr 2003 veröffentlichte die Scientific Cooperation (SCOOP), bestehend aus mehreren europäischen Ländern, einen Bericht zur Belastung von Lebensmitteln mit Fusarientoxinen. Zusammengefasst wurde für alle beteiligten Länder mit Ausnahme Belgiens eine Kontaminationshäufigkeit von >50% für DON ermittelt. Die höchsten Belastungen mit DON wurden für Mais (89%), gefolgt von Weizen (61%), festgestellt (SCOOP, 2003).

### 1.4.3 Aufnahme von Deoxynivalenol beim Menschen

Menschen nehmen DON vorwiegend durch den Verzehr von Getreide und Getreideprodukten wie zum Beispiel Müsli auf. Wegen der jährlichen Schwankungen des DON-Gehaltes im Weizen und anderen Getreidearten lässt sich die tägliche Aufnahmemenge von DON beim Menschen nicht genau abschätzen. Nach einer Berechnung des europäischen Wissenschaftlichen Ausschusses für Nahrungsmittel (Scientific Committee of Food – SCF) kann die täglich aufgenommene Menge an DON etwa 1 µg DON pro kg Körpergewicht erreichen (Scientific Committee on Food (SCF), 1999). Es leuchtet ein, dass die tatsächlich aufgenommene Menge auch sehr stark von den Ernährungsgewohnheiten (z.B. hoher Brot- oder Müsliverzehr) abhängt.

### 1.4.4 Toxizität von Deoxynivalenol

Wie andere Trichothecene hemmt auch DON die Eiweißsynthese im Körper, indem es sich an Ribosomen bindet und die Synthese von RNA und DNA behindert. Es ist dabei etwa 100fach weniger toxisch als das Toxin T2 (Thompson & Wannemacher, 1986).

Charakteristisch für DON ist, dass es Erbrechen auslösen kann. Daher kommt auch der Name Vomitoxin (Breachgift). Untersuchungen zur Wirkungsweise ergaben, dass sich DON an Serotonin- und Dopaminrezeptoren in bestimmten Gehirnregionen anlagern kann (Fioramonti, Dupuy, Dupuy, & Bueno, 1993, S. 1). Der daraus entstehende Appetitverlust zeigt sich an einer verringerten Nahrungsaufnahme und Gewichtsverlust, was besonders bei Schweinen beobachtet wurde. Rinder sowie Geflügel scheinen im Unterschied dazu weniger empfindlich auf DON zu reagieren (Curtui, et al., 2005, S. 7).

Neuere Untersuchungen ergaben, dass DON auch zu Entzündungen führt. Entzündungsfördernde Stoffe (Zytokine) traten schon bei niedrigen DON-Konzentrationen auf. Dagegen äußerte sich eine Exposition gegenüber einer höheren DON-Konzentration in einem Absterben von weißen Blutkörperchen (Shifrin & Anderson, 1999, S. 1). Diese Wirkungen scheinen typisch für alle Säugetiere zu sein, da diese Giftwirkungen von DON übereinstimmend an Mäusen, Nagetieren und menschlichen Zelllinien beobachtet wurden.

Der europäische Wissenschaftliche Ausschuss hat eine Konzentration, bei der in einem Tierversuch noch keine schädlichen Wirkungen von DON beobachtet wurden (No Observed Adverse Effect Level – NOAEL), von 0,1 mg DON pro kg Körpergewicht pro Tag festgelegt. Grundlage hierfür war eine Langzeitfütterungsstudie mit DON an Mäusen. Aus dieser Studie wurde mit einem Sicherheitsfaktor von 100 eine vorläufige tolerable

tägliche Zufuhrmenge (Tolerable Daily Intake – TDI) von 1 µg DON pro kg Körpergewicht abgeleitet (Scientific Committee on Food (SCF), 1999, S. 7).

#### *1.4.5 Grenzwerte für Deoxynivalenol in Getreideprodukten*

Um den Verbraucher zu schützen, wurden für viele Mykotoxine wegen ihres Vorkommens in Lebensmitteln und ihrer Toxizität Grenzwerte in Lebensmitteln festgelegt. Harmonisierte EU-Grenzwerte liegen bis jetzt für 40 lebensmittelbasierte Mykotoxine vor (van Egmond, Schothorst, & Jonker, 2007, S. 147). Lange Zeit gab es nur Vorschriften für Aflatoxin, das erste entdeckte Mykotoxin, und hierbei handelte es sich auch nur um Empfehlungen. Dies lag vor allem daran, dass damals für Aflatoxin weder Daten zum Vorkommen noch toxikologische Kenntnisse verfügbar waren. In den beiden letzten Jahrzehnten wurden jedoch Informationen über die Verteilung der Mykotoxine innerhalb der Lebensmittel gesammelt sowie über die Häufigkeit ihres Auftretens. Daraus konnte eine damit verbundene Expositionsabschätzung erstellt werden (van Egmond, Schothorst, & Jonker, 2007, S. 148).

Die Gefahrstoffidentifizierung, die Expositionsberechnung, die Bewertung der Giftigkeit und die sich daran anschließende Risikocharakterisierung sind die entscheidenden Grundsteine einer Risikoanalyse. Diese Risikoanalyse (auch Risikobewertung genannt) findet in der EU durch die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit (European Food Safety Authority – EFSA) statt. Analytische und repräsentative Daten liefert z.B. im Agrarbereich die sogenannte Besondere Ernte- und Qualitätsermittlung (BEE). Neben Qualität und Quantität des Getreides liefert sie auch Informationen über gesundheitlich nicht erwünschte Stoffe und ist damit ein wichtiges Instrument zur Entscheidungshilfe über Höchstmengen (Lindhauer, et al., 2005, S. 21-25).

Gleichzeitig wurden auch analytische Methoden weiterentwickelt, um Mykotoxine in noch geringeren Mengen erkennen zu können. Heutzutage hat Europa die umfangreichsten und ausführlichsten Daten zum Vorkommen von Mykotoxinen in Nahrungsmitteln (Food and Agriculture Organization, 2004, S. 14).

Nachdem aus diesen Untersuchungen bekannt war, wie viel DON in welchen Getreidearten vorkommt und wie viel der Mensch davon verzehrt, konnte die EFSA Grenzwerte für DON in den wichtigsten Getreidearten vorschlagen. Diese Grenzwerte für Deoxynivalenol sind in der Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln festgelegt (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1: Höchstmengen für Deoxynivalenol in bestimmten Erzeugnissen aus der VO (EG) Nr. 1881/2006

<b>Erzeugnis</b>	<b>Höchstgehalt für Deoxynivalenol (<math>\mu\text{g}/\text{kg}</math>)</b>
Unverarbeiteter Hartweizen, Hafer und Mais	1750
Andere unverarbeitete Getreide als Hartweizen, Hafer und Mais	1250
Zum unmittelbaren menschlichen Verzehr bestimmtes Getreide, Getreidemehl (einschließlich Maismehl, Maisschrot und Maisgrieß), als Enderzeugnis zum unmittelbaren menschlichen Verzehr vermarktete Kleie und Keime außer Getreidebeikost und andere Beikost für Säuglinge und Kleinkinder	750
Teigwaren (trocken)	750
Brot (einschließlich Kleingebäck), feine Backwaren, Kekse, Getreide-Snacks und Frühstückscerealien	500
Getreidebeikost und andere Beikost für Säuglinge und Kleinkinder	200

Die Grenzwerte für Deoxynivalenol sind unterteilt nach

- a) unverarbeiteten Getreidesorten, wobei für Mais, Hartweizen und Hafer höhere DON-Gehalte zugelassen sind,
- b) direkt zum Verzehr bestimmtes Getreide und Maiserzeugnisse sowie Kleie und Keime,
- c) Endprodukte aus Getreide wie Teigwaren und Brot sowie Getreidebeikost und
- d) Getreidebeikost für Säuglinge und Kleinkinder.

Je höher der Verarbeitungsgrad der Produkte ist, desto niedrigere Grenzwerte sind festgelegt. Die strengsten Höchstwerte gelten für Säuglings- und Kleinkindernahrung aus Getreide. Grundlage für die Grenzwerte sind die vom SCF ermittelten TDI-Werte.

Für die Untersuchung in dieser Arbeit sind zwei Höchstmengenregelungen hervorzuheben. Einmal der Grenzwert für unverarbeitetes Getreide mit Ausnahme von Hafer, Hartweizen und Mais. Das heißt, für unverarbeiteten Weizen gilt demnach ein Grenzwert von 1250  $\mu\text{g}$  DON/kg. Und zweitens der Grenzwert für die zum unmittelbaren menschlichen Verzehr bestimmten Getreideprodukte wie Getreidemehl, Kleie und Keime

von 750 µg DON/kg. Sollte eines der in der Verordnung genannten Lebensmittel den festgelegten Höchstgehalt überschreiten, dürfen diese Lebensmittel nicht in den Verkehr gebracht werden. Dabei ist ein Verschneiden, das heißt ein Vermischen von verkehrsfähigen Lebensmitteln mit Lebensmitteln, die die Höchstgehalte überschreiten, untersagt. Verboten ist auch eine chemische Behandlung von Mykotoxin enthaltenden Lebensmitteln, um diese zu entgiften.

### *1.5 Faktoren für einen Mykotoxinbefall sowie daraus ableitbare Dekontaminationsmöglichkeiten*

Es gibt verschiedene Wege, um das Risiko eines Befalls von Getreide durch Fusariumtoxine zu verringern und dadurch die Kontamination mit DON zu senken, da mehrere Faktoren eine Rolle beim Fusarium-Infektionsrisiko spielen. Abgesehen von der Witterung sind viele dieser anbau-, erntetechnischen- und lagerungstechnischen Faktoren beeinflussbar und bieten daher Raum für geeignete Dekontaminationsmöglichkeiten.

Der Beginn eines Befalls mit Fusarien wird durch das sogenannte Ausgangsinokulum beschrieben. „Der Begriff Ausgangsinokulum beschreibt das vorhandene infektiöse Material, von dem der Befall ausgehen kann“ (Raupach, 2012, S. 101). Erntereste der Vorfrucht und mangelnde Bodenbearbeitung beeinflussen dieses Ausgangsinokulum am Meisten (Schlang, 2010, S. 2).

#### *1.5.1 Fruchtfolge*

Vor allem in engen Fruchtfolgen, bei denen Feldfrüchte wie Mais und Weizen direkt aufeinander folgen, ist das Inokulum-Potenzial besonders hoch, da Fusarien diese Pflanzen bevorzugt befallen (Oldenburg, Rodemann, Schwake-Anduschus, & Münzing, 2011, S. 121). Als besonders infektionsfördernd gilt der Mais als Vorfrucht von Weizen (Bartels & Rodemann, 2003, S. 129). Die Gefahr geht dabei nicht vom Mais als Kulturpflanze selbst aus, sondern von den Ernterückständen, die dieser hinterlässt. Die langsam verrottenden Stoppeln bilden ideale Möglichkeiten für Fusarien, um zu überleben und sich zu vermehren. Bartels & Rodemann (2003) empfehlen daher, den Anteil problematischer Kulturen zu reduzieren und die Fruchtfolgen zu erweitern. Auf eine Direktsaat von Getreide nach Mais sollte möglichst verzichtet werden (Bartels & Rodemann, 2003, S. 131).

### 1.5.2 *Bodenbearbeitung*

Wie schon beschrieben, stellen verbliebene Ernterückstände eine permanente Infektionsquelle dar. Daher sollte die sogenannte wendende Bodenbearbeitung den konservativen Bodenbearbeitungsverfahren vorgezogen werden (Oldenburg, Brunotte, & Weinert, 2008). Durch Einsatz des Pfluges wird befallenes Pflanzenmaterial von der Bodenoberfläche entfernt und in den Boden eingearbeitet, wo es zur Rotte kommt. Sollte nicht verrottetes Pflanzenmaterial an die Oberfläche kommen, steigt das Infektionspotenzial wieder. „Deshalb wird rotteförderndes Häckseln und gleichmäßiges Verteilen von Mais- und Getreiderückständen generell vor wendender und nicht wendender Bodenbearbeitung empfohlen“ (Oldenburg, Rodemann, Schwake-Anduschus, & Münzing, 2011, S. 123).

### 1.5.3 *Sortenwahl*

Vollständig gegenüber Schimmelpilzbefall resistente Genotypen sind bisher beim Getreide nicht verfügbar (Oldenburg, Rodemann, Schwake-Anduschus, & Münzing, 2011, S. 122). Es gibt jedoch Sorten, die widerstandsfähiger sind als andere. Nach Ergebnissen von Resistenzuntersuchungen wurden Klassifizierungen hinsichtlich des Befallrisikos durch das Bundessortenamt (BSA) vorgenommen. Auf einer Skala von 2-9 sind Weizensorten mit einer BSA-Einstufung von 2-3 wenig anfällig und >5 mittel bis hoch anfällig. Es ist sinnvoll, in Gebieten mit hohem Niederschlag bei Anwendung konservativer Bodenbearbeitung und/oder Mais als Vorfrucht eine resistente Sorte zu wählen. Außerdem scheinen kurzhalbmige Sorten den Befall mit Fusarien zu begünstigen, da hier der Infektionsweg vom Boden zur Ähre geringer ist. Es gibt jedoch auch kurzhalbmige Sorten mit relativ niedrigen Befallrisiko-Einstufungen (Bartels & Rodemann, 2003, S. 131). Als Nachteil hat sich ergeben, dass bei einem erhöhten Resistenzniveau meist der Ertrag niedriger ist. Hier muss eine Abwägung hinsichtlich voraussichtlichem Ertrag und dem Risiko der Wertminderung bzw. der Ertragsminderung durch Fusarien stattfinden.

### 1.5.4 *Einfluss des Klimas*

Im Gegensatz zu den vorherigen Faktoren kann die Witterung vom Getreideanbauer nicht beeinflusst werden. Niederschläge beeinflussen den Befall, allerdings ist nicht die Menge, sondern der Zeitpunkt des Niederschlages der entscheidende Faktor (JECFA, 2001, S. 24). Regenfälle während der Blüte fördern maßgeblich den Krankheitsbefall. Zusätzliche Temperaturen zwischen 21°C - 25°C fördern das Wachstum von *Fusarium graminearum*

und *F. culmorum* (JECFA, 2001, S. 24). Falls Pflanzenschutzmittel bei diesem infektionsfördernden Klima eingesetzt werden sollen, sind diese nur sinnvoll zeitnah zur Blüte, um einen Befall zu reduzieren (Bartels & Rodemann, 2003, S. 133).

#### 1.5.5 Ernte

Das Getreide sollte zum optimalen Reifezeitpunkt geerntet werden. Ernteverzögerungen können weiteren Befall bedingen sowie zu einer Mykotoxinanreicherung führen (Oldenburg, Rodemann, Schwake-Anduschus, & Münzing, 2011, S. 125). Der Mähdrescher sollte optimal eingestellt sein, um die Körner nicht zu beschädigen. Falls möglich, sollte das Getreide vor dem Dreschen trocken sein. Ist dies nicht der Fall, muss das Getreide unverzüglich nachgetrocknet werden. Eingesetzt werden sollten nur saubere Erntemaschinen. In unzureichend gereinigten Mähdreschern sowie Förderbändern und Transportfahrzeugen kann es zu einer Kontamination mit Mykotoxinen kommen (Weidenböner, 1999, S. 85).

#### 1.5.6 Getreideannahme

Auch die Anforderungen bei der Getreideannahme einer Mühle sind eine wichtige Station bei der Risikominimierung von Mykotoxinen. Das Getreide wird nur angenommen, wenn es die vom Betrieb festgelegten Rohstoffanforderungen erfüllt. Das Getreide sollte nicht muffig riechen und eine Kornfeuchte von 15,0 % nicht überschreiten. Es sollte auch nicht mehr als einen durchschnittlichen Schwarzbesatz von 1-2,5 % enthalten. Als Schwarzbesatz gelten laut VO (EWG) Nr. 2731/75 Unkrautsamen, verdorbene Körner, Verunreinigungen, Spelzen, Mutterkorn, Brandbutten, tote Insekten und Insektenfragmente. Kornverfärbungen (von ausgebleichen bis hell rosa) sowie eine hohe Anzahl an Kümmerkörnern können Indizien für einen Fusarien-Befall sein.

Um solche Problempartien zu erkennen, sollte in der Getreideannahme bzw. in der Qualitätssicherung geschultes Personal mit Erfahrungswissen vorhanden sein. Bei Unsicherheiten in der Bewertung des angelieferten Getreides können Schnelltests angewendet werden, bei denen ein Ergebnis in bestimmten Bereichsintervallen innerhalb von 10 Minuten abgelesen werden kann. Generell sollten nur Getreidepartien angenommen werden, die mit dem in der Mühle zur Verfügung stehenden Reinigungssystem in einen gesundheitlich unbedenklichen Zustand gebracht werden können (Oldenburg, Rodemann, Schwake-Anduschus, & Münzing, 2011, S. 125).

### *1.5.7 Getreidelagerung*

Getreide mit einer Kornfeuchte unter 13,5 % kann für längere Zeit gelagert werden (Weidenböner, 1999, S. 86). Sollte die Kornfeuchte höher als 15,0 % sein, muss vor der Einlagerung eine effiziente Korntrocknung stattfinden. Während der Lagerung sollte eine maximale relative Luftfeuchtigkeit von 75 % und Temperaturen unter 20°C eingehalten werden (Oldenburg, Rodemann, Schwake-Anduschus, & Münzing, 2011, S. 125). Der  $a_w$ -Wert der Silowände sollte  $<0,70$  betragen (Magan, 2003, S. 723).

Die Lagersilos sollten sauber und unbeschädigt sein. Beschädigungen im Silo können zu einem Feuchtetransfer insbesondere bei Temperaturdifferenzen führen. Hierdurch können Schimmelpilznester entstehen. Ein weiteres Problem ist ein möglicher Befall durch Insekten. Diese können über ihre Ausscheidungen zur Kondensationsbildung an Oberflächen führen. Diese „Hot-Spots“ führen dann zum Verderb des Getreides (Magan, 2003, S. 728). Generell ist der Zustand von eingelagertem Getreide nicht als starr anzusehen, sondern unterliegt ständigen Wechselbeziehungen zwischen Pilzen, Insekten und der Umgebung.

### *1.5.8 Getreidereinigung*

Ein weiterer Schritt zur Verringerung des Mykotoxinrisikos ist die Getreidereinigung. Die dabei eingesetzten Reinigungsmaschinen unterscheiden sich von Mühle zu Mühle. Prinzipiell unterteilt sich die Reinigung in Schwarzreinigung (Entfernung grober Verunreinigungen), Konditionierung (Einstellen des Wassergehaltes und Abstezeit) und Weißreinigung (Entfernung von Schalen- und Staubteilchen). Eine vollständige Entfernung aller Mikroorganismen lässt sich allerdings nicht erzielen (Weidenböner, 1999, S. 110).

## *1.6 Fragestellung*

Es gibt eine Reihe von Studien über die Auswirkung der Getreidereinigung auf den Deoxynivalenolgehalt in Mehl und anderen Getreidemahlerzeugnissen, jedoch nicht über die Effektivität der einzelnen üblicherweise in einer Mühle vorkommenden Reinigungsmaschinen (vgl. Abbas (1985), Seitz (1985), Kushiro (2008)). Um einen Eindruck über die Effizienz der Reinigungsmaschinen in der Schwarz- und Weißreinigung zu erhalten, wurde diese Untersuchung an einem Weizen mit höherem DON-Gehalt innerhalb der Getreidereinigung durchgeführt.

Untersucht wird in dieser Arbeit der Einfluss verschiedener Reinigungsschritte auf den Gehalt an Deoxynivalenol in Weizen. Ferner wird untersucht, wie sich der DON-Gehalt in den einzelnen Fraktionen verteilt. Bisherige Studien haben den Einfluss der Vermahlung und des Backens von DON-haltigem Getreide untersucht, jedoch nicht, wie sich der DON-Gehalt nach den einzelnen Reinigungsschritten verhält und ob es relevante Abstufungen diesbezüglich gibt (Wolff (2004), Lancova (2008)).

Um verlässliche, reproduzierbare Aussagen über den Einfluss der verschiedenen Reinigungsschritte auf den DON-Gehalt machen zu können, ist eine für das Reinigungssystem möglichst repräsentative Probenahme unerlässlich. Die gezogenen Proben werden im Labor auf ihren DON-Gehalt untersucht und die Reinigungsstufen anhand der Ergebnisse bewertet.

## **2. Untersuchung auf Deoxynivalenol in Weizen**

### *2.1 Vorbereitende Maßnahmen*

#### *2.1.1 Auswahl eines geeigneten Weizens*

Bei der zu untersuchenden Charge handelt es sich um Getreide aus Deutschland. Dieses wurde im Jahr 2012 geerntet und in einem Lager in Husum gelagert. Es wurde am 29.04.2013 per Schiff an der Aurora-Mühle Hamburg angeliefert. Der Weizen wies keine außergewöhnlich hohe Feuchte oder sonstige im Labor erhaltenen auffälligen Messwerte auf, die auf einen erhöhten DON-Wert hätten schließen können. Das Getreide wurde als sensorisch „gesund und handelsüblich“ eingestuft. Bei der Eingangskontrolle wurde eine DON-Konzentration von 401 µg/kg gemessen. Dies entspricht 401 mg DON pro Tonne Getreide. Dieser Wert liegt noch deutlich unter dem Grenzwert von 1250 µg DON/ kg, jedoch stellt in Relation zu den anderen verfügbaren Weizen der Ernte 2012 einen relativ hohen Wert dar. Bildlich entspricht der Gehalt von 1 µg DON/kg einem Weizenkorn in der Ladung von zwei Güterwaggons (Offenbächer, 2002, S. 6). Die DON-Gehalte werden in dieser Arbeit in µg/kg angegeben.

Für diese Untersuchung wäre es nicht sinnvoll gewesen, einen nur gering belasteten Weizen zu verwenden, da sich bei sehr geringen Belastungen keine messbaren Abstufungen nach den einzelnen Reinigungs- sowie Verarbeitungsstufen finden lassen. Für die Fragestellung dieser Untersuchung entschied man sich deshalb für diesen

Weizen. Er wurde in einer eigenen Lagerzelle (312) eingelagert, da für diese Untersuchung ausschließlich diese Weizencharge die Reinigung sowie die Verarbeitung durchlaufen sollte. Normalerweise ist es üblich, verschiedene Weizenqualitäten zu mischen, um eine optimale Qualität der daraus entstehenden Mehle sowie einen reibungslosen Ablauf während der Verarbeitung zu gewährleisten.

### *2.1.2 Erstellung eines Probenahmeplans*

Am 31.05.2013 wurde ein Treffen mit dem Obermüller, dem Leiter der Qualitätssicherung, zwei Mitarbeitern der Qualitätssicherung sowie einem Müllermeister und einem Müllergesellen anberaunt. Auf der Grundlage jahrelanger Erfahrung wurde ein Probenahmeplan erstellt. Dieser Probenahmeplan enthielt die einzelnen Kontrollpunkte, die verantwortlichen Probenehmer, eine Richtmenge, welchen Umfang die jeweilige Probe haben soll, und ein minutengenaues Ablaufschema, zu welchem Zeitpunkt jede Probe genommen werden soll. Die Kontrollpunkte wurden so ausgewählt, dass sie den Weg des Weizens von der Rohfruchtzelle über die Schwarz- und Weißreinigung bis hin zum Endprodukt verfolgen können. In einem anschließenden Rundgang wurde der Plan auf Plausibilität, Einhaltung der vorgegebenen Zeiten und problemlose Probenahme überprüft.

### *2.1.3 Zusammenstellung eines Probenahmeteams*

Es wurde ein Probenahmeteam bestehend aus einem Müllergesellen, zwei Auszubildenden zum Verfahrenstechnologen in der Mühlen- und Futtermittelwirtschaft und einer Mitarbeiterin der Qualitätssicherung eingerichtet.

### *2.1.4 Ort und Tag der Probenahme*

Die Probenahme fand in der Aurora Mühle Hamburg statt. Aus organisatorischen und personellen Gründen wurde der Termin für die Untersuchung auf den 06.06.2013 gelegt.

## *2.2 Durchführung*

Das Probenahmeteam traf sich am 06.06.2013 um 07:45 Uhr im Labor der Qualitätssicherung. Es wurde ein Uhrenvergleich durchgeführt und daraufhin verteilten sich die Verantwortlichen auf ihren Start-Kontrollpunkt. Die benötigten

Probenahmegefäße wurden bereits vor der Probenahme an den Kontrollpunkten verteilt und beschriftet. Eine tabellarische Zusammenfassung der verwendeten Hilfsmittel befindet sich im Anhang (Tabelle 6). Es wurde eine zweite Probenahme mit denselben Kontrollpunkten und dem gleichen Fachpersonal 45 Minuten später durchgeführt. Durch eine zweite Probenahme lassen sich die Werte der ersten Probenahme überprüfen.

### 2.2.1 *Kontrollpunkte*

Bei den Kontrollpunkten handelt es sich um die folgenden Probenahmepunkte:

**KP 1:** Am ersten Kontrollpunkt wird der eingelagerte Weizen nach den Rohfruchtzellen untersucht. Die dabei gefundene DON-Konzentration stellt damit den Ausgangswert dar.

**Schwarzreinigung:** Der Weizen durchläuft nun als erste Reinigungsstufe den Kombireiniger. Dieser vereint verschiedene Maschinen wie den Separator mit angeschlossenen Aspirationskanal (auch Steigsichter genannt), den Konzentrator und den Steinausleser in sich (Sollberger, 2008, S. 155). Der Separator ist eine Siebmaschine, der nach Größe beziehungsweise Dicke trennt (Sollberger, 2008, S. 137). Auf verschiedenen Sieblagen wird zuerst der Grobbesatz entfernt, danach werden auf zwei Sandsieben noch kleinere Fremtteile entfernt. Das vorgereinigte Getreide wird entsprechend seiner Dichte in schwer, mittel und leicht getrennt. Diese Aufgabe übernimmt der Konzentrator. Der Steinausleser trennt das Schwerprodukt (schweres Getreide von Steinen, Glas und Metall) und anschließend wird das schwere Getreide zusammen mit dem mittelschweren Produkt abgeführt (Sollberger, 2008, S. 156). Der Steigsichter ist ein Luftkanal, bei dem die unterschiedliche Schwebegeschwindigkeit der Produktteile ausgenutzt wird. Die spezifisch leichteren Teile wie Staub und Spreu werden im Luftstrom von den Getreidekörnern getrennt. Auch die bereits erwähnten Kümmerkörner (Schmactkörner) werden vor allem durch den Steigsichter aussortiert. Durch den Fusariumbefall sind sie nicht vollständig ausgebildet, sondern eingeschrumpft, und werden aufgrund ihrer geringeren Dichte aussortiert. Da im Kombireiniger verschiedene Trennprinzipien kombiniert sind und er am Anfang des Reinigungsschemas steht, macht er mengenmäßig den größten Teil der Abgänge aus.

**KP 2:** Reinigungsabgang des Kombireinigers vom Sandsieb.

**KP 3:** Reinigungsabgang des Kombireinigers am Steigsichter.

**KP 4:** Probe des gereinigten Weizens nach Durchlaufen des Kombireinigers.

Nach dem Kombireiniger durchläuft der Weizen die Trieurbatterie. Diese besteht aus Rundkorntrieur, Langkorntrieur und einem Nachleser. Die Funktionsweise beruht auf der unterschiedlichen Länge der zu trennenden Produkte.

Der Rundkorntrieur entfernt Produkte, die kürzer sind als Weizenkörner, wie Raden, Wicken, Kletten und Bruchkorn. Beim Rundkorntrieur finden nur die Fremdkörner komplett Platz, da sie kleiner und runder als das normale Weizenkorn sind. Die Weizenkörner dagegen fallen aufgrund ihrer etwas länglicheren Form bei weiterer Neigung des Zylinders heraus und verlassen den Trieur.

Der Langkorntrieur liest Bestandteile aus, die länger als ein Weizenkorn sind, wie Gerste, Hafer oder Mutterkorn.

Der Trieur besteht aus einem Stahlblechzylinder, bei dem sich zellenartige Vertiefungen in der Innenwand befinden. Die Zellengrößen werden so gewählt, dass das Auslesegut, welches nicht weiterverarbeitet werden soll, darin Platz findet. Der Zylinder wird in eine Drehbewegung versetzt und das Produkt in die Vertiefungen gedrückt.

**KP 5a, 5b und 5c:** Reinigungsabgänge an Fremdkorn des Rundkorntrieurs. Der Rundkorntrieur gliedert sich auf in die drei Fraktionen „Bruchkorn+Unkraut“, „Schmachtkorn+Bruchkorn“ sowie Gutkorn auf. Unter Gutkorn versteht man einwandfreie Weizenkörner. Die Gutkornfraktion wird wieder in den Reinigungsprozess eingespeist. Alle drei Fraktionen werden einzeln analysiert.

**KP 6:** Reinigungsabgänge an Fremdkorn des Langkorntrieurs. Hier gibt es ebenfalls drei Fraktionen, jedoch werden diese zu einer Mischprobe zusammengefügt, da hier nur sehr wenig Material zusammenkommt.

**KP 7:** Der gereinigte Weizen nach Durchlaufen des Rund- und Langkorntrieurs. Er hat zu diesem Zeitpunkt die Schwarzreinigung durchlaufen, das heißt, alle Fremdbestandteile wurden entfernt.

Im nächsten Schritt wird der Weizen genetzt und ruht in den Abstehzellen. Das Wort Netzen beschreibt die Zugabe von Wasser zum Getreide. Dieser Vorgang ist wichtig, um die Schale des Korns zäh und elastisch sowie gleichzeitig den Mehlkern mürbe zu machen. Damit wird eine leichtere Trennung von Schale und Mehlkern erreicht. Die Abstezeit bezeichnet die Eindringgeschwindigkeit des Wassers bis in den Mehlkern. Diese wird unter anderem vom Härtegrad des Getreides (Dichte der Zellen im Endosperm), der Temperatur des Weizens und der Intaktheit der Schale sowie des Mehlkörpers beeinflusst (Sollberger, 2008, S. 170). Es sollte außerdem eine gleichmäßige

Verteilung des Wassers mit dem Getreide angestrebt werden. Die durchschnittliche Abstezeit beträgt acht Stunden, kann aber aufgrund der oben genannten Faktoren variieren. Um das Projekt an einem Arbeitstag mit dem gleichem Team durchführen zu können, wird der zu untersuchende Weizen nur knapp fünf Stunden in den Abstezellen gelassen.

**KP 8:** Muster des Weizens, nachdem er aus den Abstezellen herausfließt. Um an die gleiche Partie des Weizens zu gelangen, die auch bei den KP 1-7 untersucht wurde, muss mithilfe einer Formel der genaue Zeitpunkt berechnet werden, an dem die Probe genommen wird. Die Berechnung macht sich zunutze, dass das Getreide mit gleichmäßiger Geschwindigkeit in die Abstezellen hinein sowie mit gleichmäßigem Absinken aus den Abstezellen heraus gefördert wird

Zur Berechnung müssen die Ausgangszeit und die Weizenmenge bekannt sein. Die Uhrzeit, zu der das Getreide in die Abstezellen hineingeflossen ist, beträgt z. B. in der ersten Versuchsserie 08:00 Uhr. Die Menge an Weizen, die aus Zelle 312 für den Versuch genutzt wird, beträgt 55 Tonnen. Während sich das Getreide in den Abstezellen befindet, wird gleichzeitig Getreide hinaus befördert, sodass das Versuchsgetreide gleichmäßig nach unten absackt. Zur Berechnung wird die Menge an Getreide durch die Leistung dividiert, mit der es heraus gefördert wird. Damit lässt sich der Zeitpunkt herausfinden, an dem die zu untersuchende Partie die Auslaufzelle verlässt und die Probe genommen werden muss. Die Uhrzeit, an der das Muster von KP 8 genommen werden muss, ist in der ersten Messreihe 12:52.

$$t = \frac{m}{v} = \frac{55t}{11,3\frac{t}{h}} = 4,867 h = 4h + 0,867 * 60 = 4h + 52 min$$

**Weißreinigung:** Der Weizen wird danach von der Scheuermaschine gereinigt. Diese entfernt das Getreidekorn von anhaftendem Schmutz und scheuert die äußersten Schalenschichten ab. Sie verringert dadurch die Belastung durch Mikroorganismen und ist damit wesentlich verantwortlich für die Herstellung gesundheitlich einwandfreier Endprodukte.

**KP 9:** Probe vom Abgang nach Durchlaufen der Scheuermaschine.

**KP 10:** Abgang eines weiteren Steigsichters, der der Scheuermaschine nachgeschaltet ist, um die losgelösten Schalenteile und anderen Leichtbesatz zu entfernen.

**KP 11:** Der Weizen nach Weißreinigung, jedoch vor der Vermahlung (1. Schrot).

**KP 12:** Muster des Getreidemahlerzeugnisses Grieß

**KP 13:** Muster des Getreidemahlerzeugnisses Kleie.

**KP 14:** Muster des Getreidemahlerzeugnisses Keime.

**KP 15:** Muster des Getreidemahlerzeugnisses haushaltsübliches Mehl der Type 405.

**KP 16:** Muster des Getreidemahlerzeugnisses Vollkornmehl der Type 2000.

### 2.2.2 Vorbereiten der Proben für die Analyse

Alle 32 Muster werden nach der Probenahme eingesammelt und im Labor zwischengelagert. Bis auf die Mehle und den Abgang des zweiten Steigsichters (KP 10), bei dem die Gefahr bestand, dass der Abgang durch seine sehr feine Struktur die Maschine beschädigen könnte, werden alle Proben mithilfe der Laboratory Mill 3100 von Perten gemahlen. Die Proben werden hierfür jeweils vor und nach dem Zerkleinern durch die Fallzahl-Mühle durchmengt, um die Proben zu homogenisieren. Es wird mit den Proben des KP 11 angefangen, von denen angenommen wird, dass sie am Wenigsten belastet sind. Die Fallzahlmühle wird mit etwas neuem Produkt zunächst „durchgespült“, dieses wird verworfen und es wird eine größere Menge des gleichen Produkts für die Analyse gemahlen. Hierdurch wird Kreuzkontaminationen vorgebeugt. Die hochbelasteten Proben werden zum Schluss vermahlen. Beispiele für die untersuchten Proben sind in Abbildung 2 dargestellt.



Abbildung 2: Beispiele der untersuchten Proben

### 2.3 Analytische Bestimmung von Deoxynivalenol in Weizen

Die analytische Bestimmung der DON-Konzentration in den Proben erfolgt mithilfe einer immunochemischen Methode. Verwendet wird der Veratox DON 5/5 8331 NE Test Kit von Neogen (Neogen, 2013). Dieser kompetitive ELISA-Test (enzyme-linked-immunosorbent-assay) ist ein Antikörper-basiertes Nachweisverfahren mit einer gekoppelten enzymatischen Farbreaktion, die photometrisch quantifiziert werden kann. Freies DON in der Probe konkurriert mit enzymgebundenem DON (dem sog. Konjugat). Nach einem Waschschrift wird ein Färbemittel (Substrat) hinzugefügt, welches mit dem gebundenen DON reagiert und zu einem Farbumschlag führt. Die Extinktion der Lösung ist umgekehrt proportional zur DON-Konzentration der Probe. Dies bedeutet, je dunkler die Lösung ist, desto weniger DON enthält die Probe.

Es können maximal sieben Proben mit gleichzeitig fünf Kontrollproben analysiert werden. Von einer zuvor homogenisierten Probe werden 10,0 g in ein Reagenzglas abgewogen. Es werden 100 mL destilliertes Wasser zugegeben und das Gemisch für fünf Minuten auf einen Schüttler gestellt, der die Probe gleichmäßig in Bewegung hält. Danach werden 10 mL der Probe in ein neues Reagenzglas gefiltert. Dieses Filtrat dient der weiteren Analyse.

Das Test-Kit wird bei Temperaturen zwischen 2-8°C gelagert, sollte sich aber vor der Benutzung auf Zimmertemperatur erwärmt haben. Es werden zwei Kavitätenreihen aufgebaut, eine rote und eine durchsichtige (Siehe Abbildung 3). Nur die durchsichtige Kavitätenreihe ist antikörperbeschichtet. In die Kavitäten der roten Reihe werden jeweils 100 µL der fünf Vergleiche (0; 0,25; 0,5; 1 oder 2 mg DON/kg) und danach der sieben Proben pipettiert. Da das Substrat nicht stabil ist, müssen bei jeder Analyse die eben genannten Vergleichsstandards mit untersucht werden.

Zu jeder einzelnen Vertiefung der Kavitätenreihe kommen 100µL Konjugat dazu. Es wird mit der Pipette gemischt und 100 µL in die durchsichtigen Kavitäten überführt. Nach fünf Minuten wird die weiße Kavitätenreihe ausgeleert, mit destilliertem Wasser ausgespült und auf einem sauberen Krepppapier ausgeklopft. Hierdurch wird nicht gebundenes Konjugat entfernt. Es werden 100µL Substrat in die durchsichtige Kavität pipettiert und weitere fünf Minuten gewartet.

Im letzten Schritt wird 100 µL rote Stopper-Lösung in die durchsichtige Kavität gegeben und gemischt. Anschließend wird der DON-Gehalt mithilfe des Neogen StatFax-Lesegerätes durch eine photometrische Messung ausgewertet. Es dürfen höchstens 20 Minuten zwischen der Zugabe der Stopper-Lösung und der Auswertung liegen. Insgesamt

werden 64 Proben mithilfe von ELISA analysiert. Die Nachweisgrenze befindet sich bei 100 µg/kg.



Abbildung 3: Schematischer Aufbau der Analyse mit ELISA

In der Abbildung 3 befinden sich in vorderen Reihe von links nach rechts die Konjugat-, die Substrat- und die Stopperlösung. Dahinter ist der Kavitätenständer mit den zwei Kavitäten. Die Einmalpipettenspitzen sowie eine Kombi- und eine Einfachpipette befinden sich daneben. Hinter dem Kavitätenträger sind die fünf Vergleichslösungen sowie die Filtriervorrichtung mit den zu analysierenden Proben.

### **3. Ergebnisse zu Deoxynivalenol-Gehalten in Weizen und Weizenmahlerzeugnissen**

Tabelle 2 zeigt die Daten zur Probenahme. Sie ist aufgegliedert in die erste und zweite Probenahme, zu denen jeweils Uhrzeit, Menge der gezogenen Probe sowie die anschließend vermahlene Menge aufgeführt sind. Die Probe von KP 10 wurde nicht vermahlen, da hier sehr viel Besatz vorlag, der die Leistungsfähigkeit der Perten Laboratory Mill hätte einschränken können. Bei den Mehlen der Type 405 und 2000 entfällt eine weitere Aufbereitung. Teilweise fallen zwischen der ersten und der zweiten

Probenahme große Unterschiede in der Menge der gezogenen Proben auf. Dies ergibt sich aus dem nicht immer gleichmäßig fließenden Produktstrom. Das vorangestellte Wort Abgang bzw. Durchfall bedeutet in der Regel, dass es sich hierbei um den Teil der Produkte handelt, der aus dem Verarbeitungsprozess heraus sortiert wird und nicht ins Endprodukt gelangt. Eine Ausnahme stellt das Gutkorn vom Kontrollpunkt 5a dar. Diese Fraktion wird dem Produktkreislauf wieder zugeführt.

Tabelle 2: Daten der Probenahme

		1. Probenahme			2. Probenahme		
Kontrollpunkte	Produkt / Abgang	Uhrzeit	Menge (kg)	Vermahlene Menge (kg)	Uhrzeit	Menge (kg)	Vermahlene Menge (kg)
KP 1	Weizen nach Rohfruchtzelle	08:00	4,72	1,0	08:45	3,72	1,0
KP 2	Abgang Sandsieb	8:02	0,22	0,1	08:47	0,14	0,1
KP 3	Abgang Steigsichter	08:02	0,34	0,2	08:47	0,34	0,2
KP 4	Weizen nach Kombireiniger	08:02	1,56	1,0	08:47	2,12	1,0
KP 5	Abgang Rundkorntrieur						
KP 5a	Gutkorn	08:03	0,19	0,1	08:48	0,13	0,1
KP 5b	Schmactkorn+ Bruchkorn	08:03	0,40	0,2	08:48	0,28	0,2
KP 5c	Bruchkorn+ Unkraut	08:03	0,91	0,4	08:48	0,85	0,4
KP 6	Abgang Langkorntrieur	08:03	0,07	0,02	08:48	0,06	0,20
KP 7	Weizen nach Trieuren	08:04	4,83	1,0	08:49	4,54	1,0
KP 8	Weizen Auslauf Abstehzellen	12:52	6,38	1,0	13:35	7,03	1,0
KP 9	Abgang Scheuermaschine	12:53	0,23	0,2	13:36	0,27	0,2
KP 10	Abgang Steigsichter	12:53	0,16	entfällt	13:36	0,13	entfällt
KP 11	Weizen 1. Schrot	12:57	1,96	1,1	13:40	3,46	1,1
KP 12	Grieß	13:12	1,89	1,5	13:55	1,69	1,5
KP 13	Kleie	13:12	0,44	0,3	13:55	0,42	0,3
KP 14	Keime	13:12	1,19	0,3	13:55	0,96	0,3
KP 15	T 405	13:22	6,19	entfällt	14:05	6,57	entfällt
KP 16	T 2000	13:22	1,77	entfällt	14:05	2,05	entfällt

Tabelle 3 zeigt alle gemessenen DON-Konzentrationen der Proben, geordnet nach der Uhrzeit der Probenahme. Es wird nicht differenziert nach Produkt bzw. Abgang.

Tabelle 3: Ergebnisse der DON-Konzentrationen in allen untersuchten Proben der 1. und 2. Probenahmereihe in µg/kg

Kontrollpunkte	Produkt / Abgang	1. Probenahme			2. Probenahme		
		Uhrzeit	1. Analyse [µg/kg]	2. Analyse [µg/kg]	Uhrzeit	1. Analyse [µg/kg]	2. Analyse [µg/kg]
KP 1	Weizen nach Rohfruchtzellen	08:00	371	317	08:45	504	492
KP 2	Abgang Sandsieb	08:02	4201	4334	08:47	3861	5034
KP 3	Abgang Steigsichter	08:02	4269	4155	08:47	4075	3961
KP 4	Weizen nach Kombireiniger	08:02	218	226	08:47	240	310
KP 5	Abgang Rundkorntrieur						
KP 5a	Gutkorn	08:03	150	119	08:48	186	201
KP 5b	Schmactkorn+ Bruchkorn	08:03	669	633	08:48	586	556
KP 5c	Bruchkorn+ Unkraut	08:03	2074	1977	08:48	1791	1835
KP 6	Abgang Langkorntrieur	08:03	684	685	08:48	728	734
KP 7	Weizen nach Trieuren	08:04	418	449	08:49	493	364
KP 8	Weizen Auslauf Abstehzellen	12:52	258	214	13:35	123	162
KP 9	Abgang Scheuermaschine	12:53	3178	3525	13:36	2071	2880
KP 10	Abgang Steigsichter	12:53	6365	6226	13:36	5657	5510
KP 11	Weizen 1. Schrot	12:57	348	291	13:40	168	161
KP 11	Grieß	13:12	139	69	13:55	95	102
KP 13	Kleie	13:12	594	643	13:55	471	492
KP 14	Keime	13:12	202	190	13:55	171	201
KP 15	T 405	13:22	234	206	14:05	174	186
KP 16	T 2000	13:22	517	467	14:05	353	426

Aus den Ergebnissen der ersten und zweiten Analyse werden im Folgenden für beide Probenreihen die Mittelwerte gebildet und dann beide Mittelwerte zu einem Gesamtmittelwert zusammengefasst (Siehe Tabelle 4). In der zweiten Spalte der Tabelle werden zuerst die Ergebnisse der Produktproben dargestellt und in der dritten Spalte die Ergebnisse der Abgänge. Die Produkte sind dunkelblau markiert, während die Abgänge dunkelrot sind. Da der Abgang Gutkorn (KP 5a) wieder eingespeist wird, ist er blau markiert.

Tabelle 4: Ergebnisse zu durchschnittlichen DON-Konzentrationen differenziert nach Produkt und Abgang

Kontrollpunkte	Produkt	Abgang	Durchschnittlicher DON-Gehalt [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]		
			1. Probenahme	2. Probenahme	1. + 2. Probenahme
KP 1	Weizen nach Rohfruchtzellen		344	498	421
KP 2		Sandsieb	4268	4448	4358
KP 3		Steigsichter	4212	4018	4115
KP 4	Weizen nach Kombireiniger		222	275	249
KP 5		Rundkorntrieur			
KP 5a		Gutkorn	135	194	165
KP 5b		Schmactkorn+ Bruchkorn	651	571	611
KP 5c		Bruchkorn+ Unkraut	2026	1813	1920
KP 6		Langkorntrieur	685	731	708
KP 7	Weizen nach Trieuren		434	429	432
KP 8	Weizen Auslauf Abstehzellen		236	143	190
KP 9		Scheuermaschine	3352	2476	2914
KP 10		Steigsichter	6296	5584	5940
KP 11	Weizen 1. Schrot		320	165	243
KP 11	Grieß		104	99	102
KP 13	Kleie		619	448	551
KP 14	Keime		196	186	191
KP 15	T 405		220	180	200
KP 16	T 2000		492	390	441

Die erste Probenahme ergab einen Ausgangswert von 344 µg DON/kg. Dieser Wert nimmt nach dem Kombireiniger deutlich ab (222 µg DON/kg) und nimmt nach dem Trieur wieder zu (434 µg DON/kg). Diese Auffälligkeit lässt sich bei beiden Analysen beobachten. Der DON-Gehalt nimmt dann nach den Abstehzellen wieder ab (236 µg/kg) und dann nach der Weißreinigung wieder etwas zu auf 320 µg/kg. Es lässt sich daher ein Trend zur DON-Abnahme beobachten, welcher in den einzelnen Analysen deutlicher wird als im Durchschnitt beider. Die DON-Belastung im Grieß sowie den Keimen ist sehr niedrig. Bei der Kleie ist sie etwa doppelt so hoch.

In der zweiten Probenahme liegt der Ausgangswert des DON-Gehaltes mit 498 µg/kg höher als in der ersten Probenahme. Er fällt dann nach dem Kombireiniger auf etwa die Hälfte des Ausgangswertes ab (275 µg DON/kg). Nach den Trieuren ist er wieder deutlich erhöht (429 µg DON/kg), wobei es hier eine relativ große Schwankung zwischen der ersten und zweiten Analyse gibt. Hingegen ist der DON-Gehalt nach den Abstehzellen mit 143 µg/kg wieder sehr niedrig. Nach dem 1. Schrot steigt die DON-Belastung dann nur noch minimal auf 165 µg/kg an. Insgesamt ist hier der Trend der DON-Verringerung durch die Reinigung deutlicher zu sehen als bei der 1. Probenahme. Grieß, Keime und T405 sind wenig belastet, während der DON-Wert in der Kleie geringfügig niedriger ist als der Ausgangswert. Die Doppelbestimmung liegt diesbezüglich allerdings sehr nah zusammen.

Die dritte Spalte enthält den Mittelwert der ersten und zweiten Probenahme. Der DON-Ausgangswert liegt hier bei 421 µg/kg, welches einem Prozentsatz von 100 entspricht. Er nimmt dann um etwa 60 % auf 249 µg DON/kg ab, um nach den Trieuren auf den Ausgangswert wieder zuzunehmen. Nach den Abstehzellen sinkt er auf 189 µg DON/kg ab, um dann um etwa 50 µg DON/kg auf 242 µg DON/kg nach der Weißreinigung zuzunehmen.

Einen Eindruck von der Effizienz der Reinigungsmaschinen erhält man aus dem Vergleich der DON-Gehalte in den einzelnen Zwischen- sowie Endprodukten. Die Abgänge des Kombireinigers weisen teilweise um das 10fache höhere DON-Gehalte als der Ausgangsgehalt an DON des noch ungereinigten Kornes auf. Hier wird ein wesentlicher Teil der Mykotoxinbelastung verringert.

Die Fraktionen des Rundkorntrieurs unterscheiden sich sehr in ihrer Belastung. Die DON-Gehalte in der Fraktion Gutkorn (KP 5a) sind sehr niedrig, sodass dieser Weizen über den Nachleser wieder in den Produktkreislauf eingespeist werden kann. Die Fraktion 5b ist höher belastet, da diese vor allem aus Schmachtkorn besteht, welches beim Trieurvorgang aussortiert wird. Das Vorkommen von Schmachtkorn ist häufig ein Indiz für Fusarienbefall. Die Fraktion 5c ist am Höchsten belastet, da hier neben Bruchkorn

(gebrochenes Korn) in hohem Maße Unkrautsamen aussortiert werden und diese noch stärker kontaminiert sind als die Getreidekörner.

Die Effektivität der Scheuermaschine sowie des angeschlossenen Steigsichters ist hoch. Vergleicht man den DON-Ausgangsgehalt des Weizens mit dem nach der Scheuermaschine (KP 11), findet eine Reduzierung um 58 % statt. Setzt man den Abgang des Steigsichters in Relation zum Weizen nach den Auslaufzellen, ist der Abgang mehr als 5-mal so hoch belastet. Der Abgang des Steigsichters ist außerdem mit Abstand am Höchsten belastet und deutet somit die enormen Mengen an hoch kontaminiertem Material an, das aus dem Getreide aussortiert wird.

Obwohl die Mittelwerte und Mediane der ersten und zweiten Probenahme sehr eng beieinander liegen, zeigen sich zwischen dem kleinsten und dem größten Wert des jeweiligen Kontrollpunktes doch sehr hohe Unterschiede. Dies trifft vor allem auf die Abgänge zu. In der folgenden Tabelle 5 sind jeweils der Median, der Minimal- sowie der Maximalwert dargestellt. Die Werte sind aufgegliedert nach den einzelnen Kontrollpunkten und beinhalten die erste und zweite Probenahme. Bei KP 2 sowie KP 9 gibt es sogar Spannbreiten über 1000 µg DON/kg.

Tabelle 5: Median, Minimum und Maximum der DON-Konzentrationen in allen Proben in µg/kg

<b>Kontrollpunkte</b>	<b>Median</b>	<b>Minimum</b>	<b>Maximum</b>
KP 1: Weizen nach Rohfruchtzellen	432	317	504
KP 2: Abgang Sandsieb	4268	3861	5034
KP 3: Abgang Steigsichter	4115	3961	4269
KP 4: Weizen nach Kombireiniger	233	218	310
KP 5: Abgang Rundkorntrieur			
KP 5a: Gutkorn	168	119	201
KP 5b: Schmachtkorn+Bruchkorn	610	556	669
KP 5c: Bruchkorn+Unkraut	1906	1791	2074
KP 6: Abgang Langkorntrieur	707	684	734
KP 7: Weizen nach Trieuren	433	364	493
KP 8: Weizen Auslaufzellen	188	123	258

KP 9: Abgang Scheuermaschine	3029	2071	3525
KP 10: Abgang Steigsichter	5942	5510	6365
KP 11: Weizen 1. Schrot	229	161	348
KP 12: Grieß	99	69	139
KP 13: Kleie	543	471	643
KP 14: Keime	196	171	202
KP 15: T 405	196	174	234
KP 16: T 2000	447	353	517

#### **4. Diskussion**

Das in dieser Arbeit beschriebene Verfahren ermöglicht eine erste halbquantitative Einsicht in die Reinigungsschritte von Weizen. In dieser Arbeit konnten keine weiteren verfahrenstechnischen oder gerätespezifischen Daten erhoben werden. Für eine quantitative Abschätzung der Effektivität der einzelnen Reinigungsstufen bräuchte man vor allem Angaben über das Durchflussvolumen, das heißt die pro Zeit durch die Reinigungsanlage geflossene Menge an Getreide, sowie über das Durchflussvolumen an den einzelnen Abgängen.

Es gibt verschiedene Faktoren, die zu der ungleichmäßigen DON-Abnahme während des Reinigungsprozesses geführt haben könnten. Generell muss beachtet werden, dass üblicherweise eine Verteilung von 94% einwandfreiem Grundgetreide, 3% Kornbesatz und 3% Schwarzbesatz vorliegt. Davon befinden sich nur 20% der Toxine im Grundgetreide, aber 80% im Schwarzbesatz (Münzing & Schwake-Anduschus, 2010).

Im Folgenden diskutiere ich die Fehlermöglichkeiten bei der Probenahme und bei der analytischen Bestimmung von DON in den Produkten und erläutere anschließend, welchen Einfluss die Getreidereinigung auf die Verteilung von DON innerhalb des Weizens und der Weizenmahlerzeugnisse hat. Danach betrachte ich die Effektivität der Reinigung anhand der DON-Belastung der Abgänge.

#### 4.1 Fehlermöglichkeiten bei der Probenahme

Den Fehler bei den Probenahme-Behältnissen und beim Transport schätze ich eher als gering ein. Die Probenahme wurde sorgfältig vorbereitet und durchgeführt. Die Probengefäße waren sauber und es wurde darauf geachtet, dass diese nicht schon im Vorfeld einer Kontamination ausgesetzt wurden. Die gezogenen Muster wurden in abdeckbaren Kisten gelagert und teilweise sogar noch in wiederverschließbaren Tüten, um einer Kontamination von Mykotoxinen über Aerosole vorzubeugen. Alle benutzten Geräte wurden vor einem neuen Muster gereinigt, um einer Kreuzkontamination vorzubeugen.

Größere Fehler sind beim Zeitpunkt der Probenahme möglich. Die Zeitpunkte, zu denen die Muster genommen wurden, sind nur Schätzwerte. Sie beruhen zwar auf jahrelanger Erfahrung der Müller vor Ort, lassen sich aber in dieser Arbeit nicht genauer berechnen. Hieraus könnte sich ergeben haben, dass nicht immer genau die gleiche Partie des Weizens analysiert wurde, so wie es vorgesehen war. Eine weitere grundsätzliche Schwierigkeit besteht darin, dass das Getreide als Schüttgut einer ständigen Bewegung während des Reinigungsprozesses unterliegt und es nicht möglich ist, immer exakt die gleiche Charge des Ausgangsweizens wiederzufinden.

#### 4.2 Fehlermöglichkeiten bei der analytischen Bestimmung von Deoxynivalenol

Für die quantitative Bestimmung von DON in Getreide können mehrere Verfahren genutzt werden, z. B. die Gaschromatographie mit gekoppeltem Massenspektrometer (GC-MS), die Dünnschichtchromatographie (DC), die Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) mit UV-Detektion und der ELISA (JECFA, 2001).

Der ELISA ist die kostengünstigste Analysemöglichkeit zur Bestimmung von Deoxynivalenol, da das Testkit relativ preiswert ist und man keine teuren Geräte wie z.B. den Gaschromatographen oder das Massenspektrometer anschaffen muss. Er ist außerdem im Verhältnis zu den anderen Tests sehr unaufwändig und schnell (Biselli, 2006, S. 112). Ein weiterer Vorteil des ELISA ist die Durchführbarkeit direkt vor Ort, sodass „Fehlerquellen durch Lagerung und Transport der Proben entfallen“ (Steinmüller, 2006, S. 592). Der ELISA-Schnelltest ist außerdem so konzipiert, dass dieser Test auch von Personen ohne größere Laborefahrung nach kurzer Einweisung eingesetzt und schnell erlernt werden kann (Masloff, 2007).

Als Nachteil des ELISA wird immer wieder beobachtet, dass es zu Kreuzreaktionen kommt. In einem Ringversuch des Verbandes deutscher landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA) wurde ein Vergleich zwischen HPLC und ELISA durchgeführt, bei dem die Ergebnisse des ELISA unter anderem für DON um 40-600 % über denen der HPLC-Bestimmung lagen (Richter, et al., 2013, S. 46). Dieses Ergebnis wird auf eine Kreuzreaktion der Antikörper zurückgeführt, bei der neben DON auch 3- bzw. 15-Acetyl-DON mit reagieren können. Aus Vorsorgesicht wird diese Erweiterung des Bestimmungsumfangs jedoch als positiv betrachtet, da die verwandten Mykotoxine ebenfalls toxisch sind und höhere Werte eher tolerierbar sind (Steinmüller, 2006, S. 592). In der Produktbeschreibung des eingesetzten ELISA-Tests von Neogen wird beschrieben, dass es zu einer Antikörper-Kreuzreaktion mit 3-Acetyl-DON kommen kann, nicht aber mit anderen Trichothecenen (Neogen, 2013).

Der verwendete ELISA wird einmal im Jahr im Rahmen einer Ringuntersuchung validiert. Dabei werden Produkte mit bekannten DON-Konzentrationen mit Hilfe des ELISA analysiert und die Ergebnisse an den Hersteller des Testkits geschickt. In den letzten Jahren lag der verwendete ELISA immer im Durchschnitt der Ringuntersuchung.

Als Nachweisgrenze wird vom Hersteller 100 µg/kg angesehen (Neogen, 2013). Das bedeutet, dass ein Ergebnis von KP 12 (Grieß) mit 69 µg DON/kg unter der Nachweisgrenze liegt, ein weiteres Ergebnis bei der Nachweisgrenze (95 µg DON/kg). Davon zu unterscheiden ist die Bestimmungsgrenze. Die Bestimmungsgrenze gibt die kleinste Konzentration des Stoffes in einer Probe an, die quantitativ mit einer festgelegten Präzision bestimmt werden kann (Ebel & Kamm, 1983, S. 382). Messwerte über dieser Grenze dürfen als verlässlich und präzise angesehen werden. Einige Werte der Kontrollpunkte 4, 5a, 8, 11 sowie alle Werte der Kontrollpunkte 12, 14 und 15 liegen unter der Bestimmungsgrenze von 250 µg DON/kg.

Der verwendete ELISA-Test arbeitet nur in einem bestimmten Bereich zuverlässig. Die Obergrenze dieses Bereiches liegt bei 2000 µg DON/kg. Einige der gemessenen Werte der Abgänge liegen oberhalb dieser Grenze. Die Obergrenze wurde vom Hersteller des Testkits so eingestellt, da in der Praxis DON-Konzentrationen oberhalb von 1250 µg/kg keine Rolle mehr spielen. Solche hohen DON-Konzentrationen liegen über dem zulässigen EU-Grenzwert. Zudem wird der ELISA hauptsächlich als Screening-Methode verwendet.

In Tabelle 6 sind Nachweisgrenzen anderer Verfahren zur Messung des DON-Gehaltes angegeben. Einige Messverfahren sind empfindlicher, dafür jedoch auch teurer und vor allem viel zeitaufwändiger, sodass sie für diese Untersuchung nicht in Frage kamen.

Tabelle 6: Nachweisgrenze verschiedener Verfahren zur Bestimmung von DON in Getreide  
(Abkürzung: n.a. = nicht angegeben)

Verfahren	Nachweis- Grenze (unterer Messbereich)	Bestimmungs- Grenze	Maximalgehalt (oberer Messbereich)	Quelle
ELISA Veratox 5/5 für DON quantitativ	100 µg/kg	250 µg/kg	2000 µg/kg	Informations- blatt Neogen Europe Ltd.
ELISA Reveal Q+ für DON Semiquantitativ	300 µg/kg	n. a.	6000 µg/kg	Informations- blatt Neogen Europe Ltd.
HPLC-MS/MS	20 µg/kg	50 µg/kg	n. a.	(Huang, et al., 2012)
GC-MS/MS	200 µg/kg	n. a.	n. a.	(Mulders & van Impelen- Peek, 1986)
HPLC-UV	10 µg/kg	50 µg/kg	n. a.	(Czerwiecki & Wilczyńska, 2003)

#### 4.3 Verteilung von Deoxynivalenol innerhalb des Weizens während der Reinigung und in den Weizenmahlerzeugnissen nach der Reinigung

Für die unregelmäßige Senkung bzw. den teilweisen Anstieg der DON-Gehalte gibt es neben der Probenahme-Problematik sowie etwaiger Analyseungenauigkeiten noch eine dritte Erklärung: Die heterogene Verteilung von DON innerhalb der Weizenpartie. Da DON in Nestern auftritt, ist eine repräsentative Aussage über die DON-Belastung in einer Weizenpartie schwierig. Mykotoxine sind irregulär innerhalb der Ähre als auch innerhalb des Kornes verteilt.

Auffällig an den Ergebnissen ist die sprunghafte Abnahme bzw. die zeitweilige Zunahme der DON-Belastung entlang der der Getreidereinigung. Besonders auffällig ist diese nach der Triurbatterie. In allen analysierten Proben nimmt die DON-Konzentration nach den Trieuren im Verhältnis zu dem vorherigen Kombireiniger zu. Nach Überlegungen, ob der Kontrollpunkt falsch gewählt wurde, kam man zu dem Schluss, dass dem nicht so ist. Es wurden daraufhin noch einmal drei Proben genommen, um die Ergebnisse zu überprüfen. Die Proben wurden jeweils nach dem Kombireiniger und nach dem Trieur nach demselben Zeitschema genommen und mit ELISA analysiert. Da der Weizen aus der

Hauptuntersuchung nicht mehr zur Verfügung stand, wurde jeweils dreimal verschiedener Weizen zur Herstellung von T405, T1050 und T 550 genommen. Es wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt. Die Daten dieser dritten, eigenen Probenahme sind im Anhang (Tabelle 7) zu finden. Bei zwei der drei untersuchten Weizen (T 405 und T 550) stieg die DON-Konzentration nach dem Trieur an. Bei einem Weizen lag nach dem Trieur eine niedrigere DON-Belastung vor. Alle Werte befinden sich allerdings unter der Bestimmungsgrenze und sind daher mit einer gewissen Fehlerquote behaftet, sodass diese Überprüfung die Werte aus der Hauptuntersuchung nicht sicher verifizieren konnte.

Eine weitere Auffälligkeit ist die systematische Abnahme des DON-Gehaltes nach den Abstehzellen. Hier findet keine weitere Reinigung statt, jedoch lässt sich der Abfall der DON-Belastung mit dem Einzug des Wassers in das Korn erklären. Die Zugabe des Wassers wirkt wie ein Verdünnungsfaktor. Beispielhaft stelle man sich den Zusatz von einem Liter Wasser zu einem Kilogramm Getreidekörner vor. Durch diese Massenzunahme um 100% sinkt die Konzentration an DON gleichzeitig um die Hälfte. Dies deckt sich mit den Daten aus der Untersuchung, bei der ein Abfall um fast 50% festzustellen ist.

Infolgedessen ist der Anstieg der DON-Konzentration im Weizen vor dem 1. Schrot ebenfalls erklärbar. Vergleicht man nur die Werte nach dem Trieur mit denen vor dem 1. Schrot, erkennt man keinen Anstieg, sondern eine Abnahme der DON-Konzentration. Dies deckt sich mit den Erwartungen, da der Weizen an dieser Stelle die gesamte Reinigung durchlaufen hat und am saubersten ist. Insgesamt lässt sich also ein Trend der DON-Reduzierung durch die Getreidereinigung feststellen. Der Verlauf der DON-Belastung entlang der verschiedenen Reinigungsschritte ist in Abbildung 4 dargestellt.

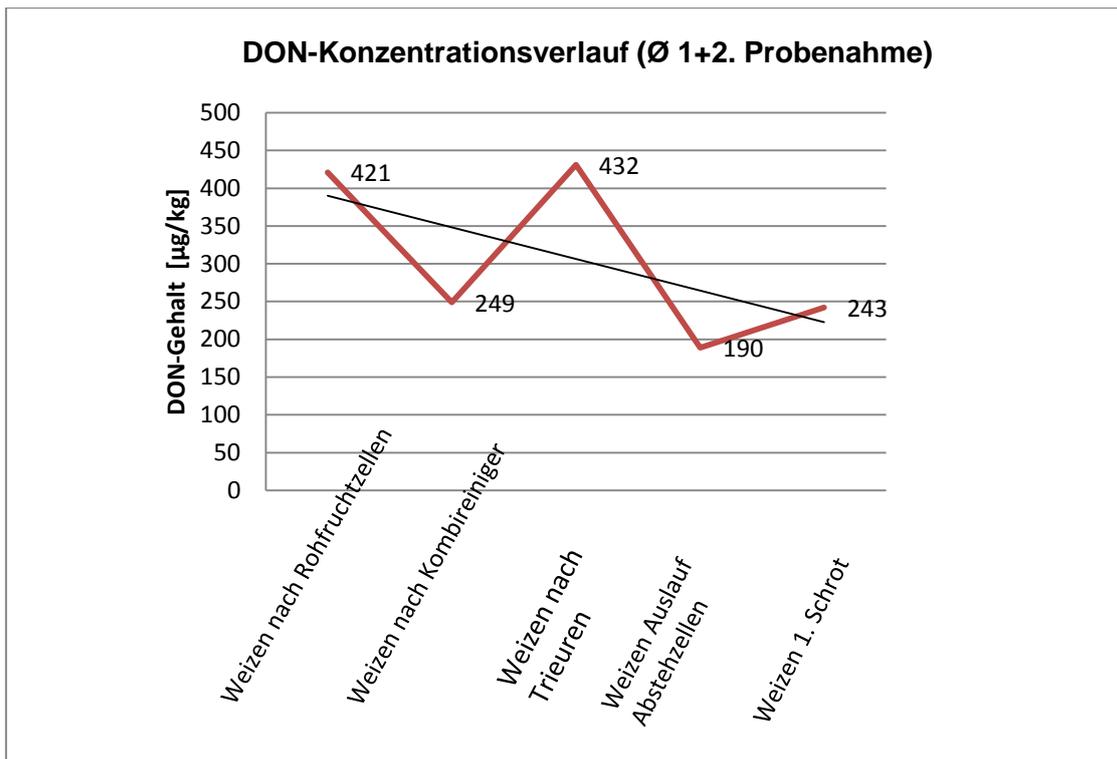


Abbildung 4: DON-Gehalte während der Getreidereinigung

Die Reduktion der Mykotoxine ist partiespezifisch und es findet zum Teil eine Verschiebung der Toxine in die Nachprodukte statt (Wolff, 2004). Zu diesen Nachprodukten bzw. Rückständen gehört unter anderem die Kleie. Sie besteht hauptsächlich aus den Frucht- und Samenschalen des Getreidekorns, aus Aleuronzellen und dem Mehlkörper (Weidenböner, 1999, S. 117). Es wird daher angenommen, dass der DON-Gehalt in der Kleie relativ hoch ist, da sich DON hauptsächlich in den Randschichten befindet. In dieser Untersuchung ist der DON-Gehalt der Kleie nach der ersten Probenahme etwa doppelt so hoch wie der des Ausgangswertes, in der zweiten Probenahme ist diese Anreicherung jedoch nicht zu erkennen. Von allen Mahlerzeugnissen weist die Kleie insgesamt gesehen die höchsten DON-Konzentrationen auf. Dies deckt sich mit Ergebnissen von Abbas (1985), der ebenfalls die höchsten DON-Gehalte in der Kleie fand (Abbas, 1985, S. 482). Auch eine andere Studie, die sich mit der Verteilung von Mykotoxinen aus der Gruppe der Trichothecene während der Getreideverarbeitung befasst, kommt zu diesem Ergebnis (Lancova, et al., 2008, S. 650). In einer anderen Studie lagen die DON-Konzentrationen in der Kleie fast 3-mal so hoch wie der grundgereinigte Weizen (Edwards, 2011, S. 9).

Auch die DON-Belastung in Mehlen wurde in der oben genannten Studie analysiert. Beispielhaft wurden ein Mehl der Type 405 und eines der Type 1050 ausgewählt.

Während die DON-Kontamination im Mehl der Type 405 durchschnittlich um ca. 50 % sank, war die DON-Konzentration des 1050er Mehles im Vergleich zum ungereinigten Weizen leicht erhöht. Dass das Mehl der Type 1050 stärker belastet ist als das der Type 405 ist nachvollziehbar, da es Randschichten des Weizenkorns besitzt. Lancova et al. (2008) bestätigten dieses Ergebnis: Das Vollkornmehl ist das am meisten mit DON belastete Mehl von allen untersuchten Mehlprodukten (Lancova, et al., 2008, S. 12). Helles Mehl (Type unbekannt) wies dagegen eine 30%ige Verringerung des DON-Gehaltes nach der Reinigung auf (Edwards, 2011, S. 9).

Über die DON-Belastung von Keimen und von Grieß habe ich keine Studien gefunden. Ausgehend von dieser Untersuchung lässt sich jedoch sagen, dass die Kontamination äußerst gering ist und ein großer Teil durch die Reinigung entfernt wird (im Durchschnitt 50-75 %). Es bestätigt sich, dass DON nach der Reinigung und Vermahlung in allen Endfraktionen wiedergefunden werden kann (Abbas, 1985, S. 482).

In Abbildung 5 ist die DON-Belastung der Weizenmahlerzeugnisse zusammenfassend dargestellt. Grieß, Keime und T 405 sind, wie schon beschrieben, nur sehr gering belastet. Dem entgegen steht eine Anreicherung beim Mehl der Type 2000 sowie der Kleie.

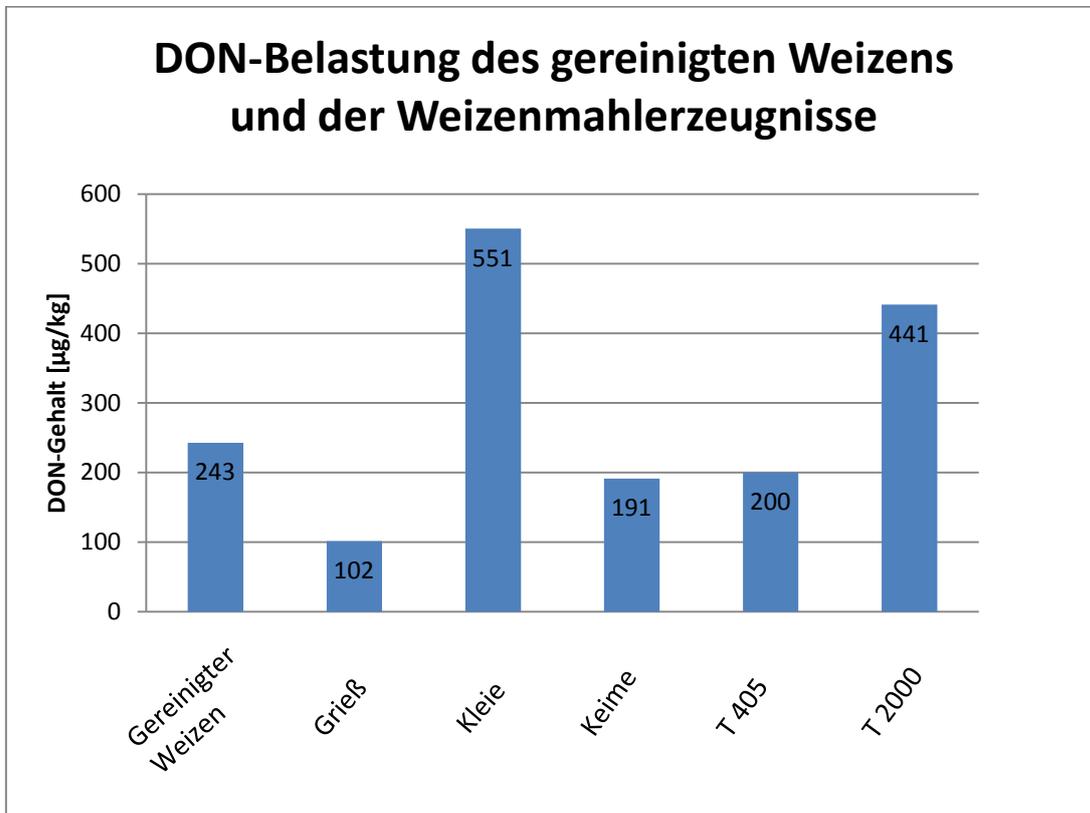


Abbildung 5: Darstellung der DON-Belastung in den Weizenmahlerzeugnissen

#### 4.4 Deoxynivalenol-Belastung der Abgänge und Effektivität der Reinigung

Da jede Mühle ihr eigenes Reinigungsdiagramm hat, ist es schwierig, die Ergebnisse bezüglich der Getreidereinigung zu vergleichen. In einem Projekt zur Untersuchung von Schadstoffe in Nebenprodukten der Getreidemüllerei wurden verschiedene „Nebenprodukte“, die in dieser Untersuchung den Reinigungsabgängen entsprechen, auf Deoxynivalenol untersucht. Zu diesen „Nebenprodukten“ gehörten unter anderem Stäube, Spelzen, Bruchkorn, Abrieb und Sand aus verschiedenen Mühlen. Es gab große Streuungen zwischen den einzelnen DON-Belastungen, was auf die verschiedenen Reinigungsmaschinen zurückzuführen ist (Wolff, 2004, S. 62).

Es zeigte sich deutlich, dass alle Nebenprodukte höher belastet waren als Getreide oder Kleie. Dies ist vergleichbar mit den Ergebnissen dieser Studie (Die Werte des Gutkorns sind ausgenommen). Die Reinigungsabgänge waren etwa 10-fach höher belastet als das gereinigte Getreide (Wolff, 2004, S. 63). Gereinigtes Getreide entspricht in dieser Untersuchung dem KP 11, nachdem es die Schwarz- und Weißreinigung durchlaufen hat (durchschnittlicher DON-Gehalt: 243 µg/kg). Verglichen mit dem Durchschnittswert des Rundkorntrieur (1266 µg DON/kg) ohne Gutkorn und dem Langkorntrieur (708 µg DON/kg) liegt die Belastung hier 3-5-fach so hoch. Der Abgang der Scheuermaschine entspricht in etwa der 10-fachen Konzentration, während die Abgänge des Sandsiebs, des Steigsichters nach dem Kombireiniger sowie des Steigsichters nach der Scheuermaschine sogar 20-mal so hoch mit DON belastet sind. Dies spricht für eine sehr gute Effizienz des in der Mühle verwendeten Reinigungsdiagrammes. Es zeigt ebenfalls, dass die Reinigungsabgänge eine deutliche Schadstoffsenke für DON und vermutlich auch andere Mykotoxine im Getreide sind.

Insgesamt bestätigt diese Untersuchung Studien, in denen die Reinigung von Getreide die DON-Belastung senkt. In Abbildung 6 sind die durchschnittlichen DON-Konzentrationen der Reinigungsabgänge dargestellt. Die niedrigsten Belastungen befanden sich im Abgang des Rundkorntrieurs. Man muss aber, wie schon in vorherigen Kapiteln geschehen, darauf hinweisen, dass diese Fraktion über einen Rücklauf wieder in den Reinigungsprozess geleitet wird. Es handelt sich hierbei größtenteils um noch verwendbaren Weizen, was sich in der niedrigen Belastung äußert.

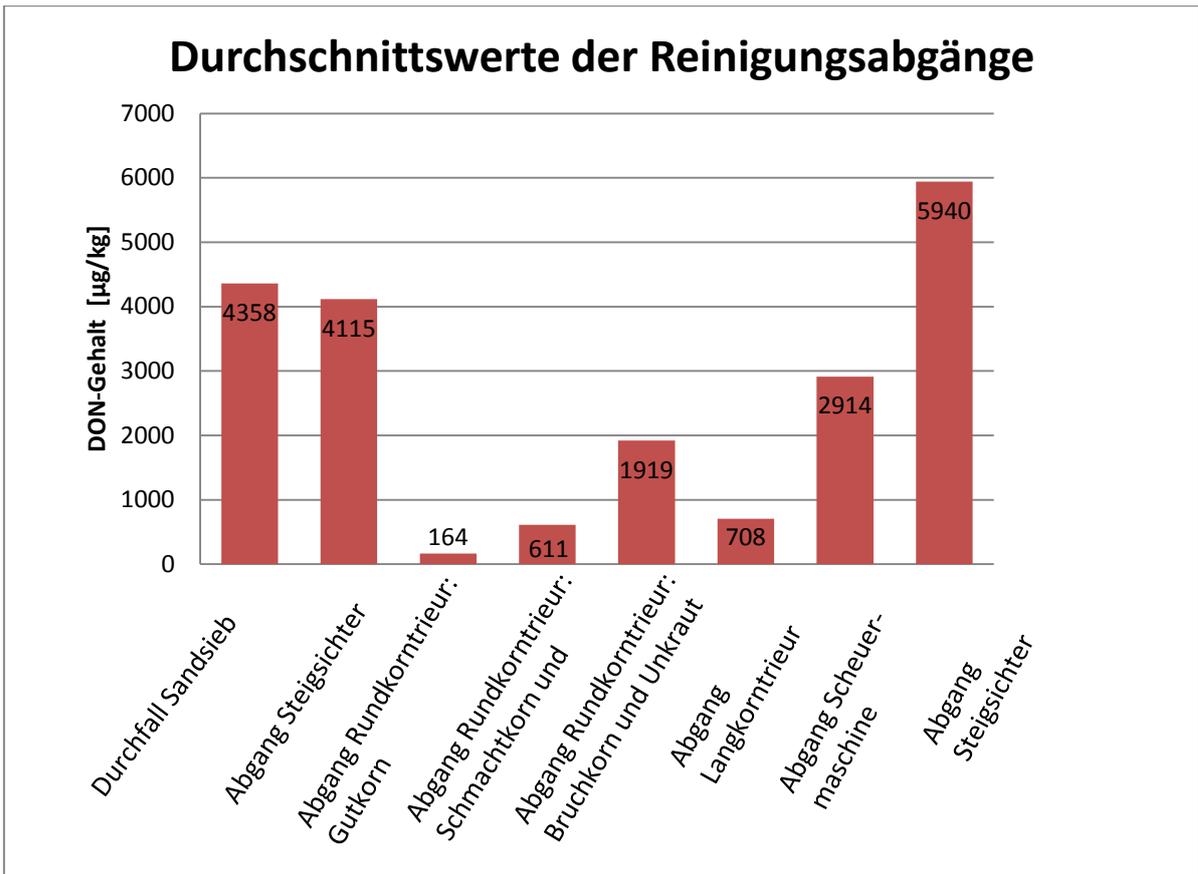


Abbildung 6: Darstellung der DON-Belastung in den Reinigungsabgängen

## **5. Fazit und Ausblick**

Die in dieser Arbeit analysierten Daten zum Vorkommen von DON in verschiedenen Abschnitten einer Getreidereinigungsanlage wurden in der Aurora- Mühle Hamburg erhoben. Ziel der Arbeit war herauszufinden, wie effektiv die Getreidereinigung, bezogen auf die Reinigungsmaschinen, den Deoxynivalenolgehalt in Weizen und daraus resultierenden Weizenmahlerzeugnissen verändert. In zwei Reihen wurden insgesamt 32 Proben mit einer Doppelbestimmung jeder Probe durch einen ELISA-Testkit analysiert. Da es an einigen Probenahmestellen zu deutlichen Schwankungen zwischen den einzelnen Werten kam, sollte die Untersuchung das nächste Mal mit einer größeren Anzahl von Proben durchgeführt werden. Wünschenswert wäre auch ein höherer Ausgangs-Deoxynivalenolgehalt, um möglichst alle Werte über der Bestimmungsgrenze zu erhalten. Während fast alle DON-Gehalte über der Nachweisgrenze von 100 µg DON/kg lagen, befanden sich mehrere Werte unterhalb der Bestimmungsgrenze von 250 µg DON/kg.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse dieser Untersuchung, dass die Deoxynivalenolbelastung durch die Getreidereinigung um etwa die Hälfte abnimmt. Eine deutliche Reinigungswirkung lässt sich an den Abgängen der Reinigungsmaschinen erkennen, die teilweise bis zu 20mal so hoch belastet waren wie der normale Weizen. Eine quantitative Aussage zur Effektivität lässt sich jedoch nicht machen, da - wie in Kapitel 4 dargestellt - verfahrenstechnische und maschinenspezifische Daten nicht erhoben worden sind.

Wie schon beschrieben, unterscheiden sich das Reinigungsdiagramm wie auch die technischen Anlagen von Mühle zu Mühle. Auch wenn Getreidereinigungsmaschinen wie der Kombireiniger, der Trieur oder auch die Scheuermaschine meistens zur Grundausstattung gehören, gibt es doch von Mühle zu Mühle möglicherweise unterschiedliche technische Ausführungen und Baureihen. Interessant wäre es, diese Untersuchung in einer anderen Mühle wiederholen zu lassen. Man könnte dadurch die Ergebnisse dieser Untersuchung mit denen anderer vergleichen in Hinsicht auf Effizienz der Getreidereinigung wie auch auf mögliche Diskrepanzen wie beispielsweise bei den erhöhten Werten nach dem Trieur.

Der Grad der Belastung des Getreides mit DON hängt von einer Reihe von Faktoren ab, die sich nicht alle durch den Menschen beeinflussen lassen. Zum einen die klimatischen Bedingungen auf dem Feld und eine damit bedingte Bildung von Mykotoxinen, zum anderen die Tiefe des Mykotoxinbefalls im Getreidekorn. Hinzu kommt das Auftreten von

Fusarien in Nestern, sodass sprichwörtlich die Nadel im Heuhaufen liegt und selbst bei sehr guter Analytik die Ergebnisse je nach Probenahme variieren. Das spricht dafür zu versuchen, die Kontamination mit Fusarien schon so weit wie möglich auf dem Feld zu verhindern.

Es sind mittlerweile einige Verfahren in der Entwicklung, die sich mit einer Verbesserung des Nachweises von Fusarien beschäftigen. Erwähnt sei hierbei eine relativ neue akustische Screening-Methode für DON in Getreide. Sie basiert auf der Stoffdichte eines Lebensmittels und dem davon abhängigen akustischen Signal. Von Fusarien befallene Getreidekörner weisen gegenüber nicht befallenen Körnern eine geringere Dichte auf und können daher von einem Messgerät mit einer hohen Sicherheit und Genauigkeit detektiert werden. Die Methode ist relativ schnell und preiswert, einfach in ihrer Durchführung und es muss keine Vermahlung oder sonstige Aufarbeitung der Probe stattfinden (Juodeikienė, et al., 2008, S. 276).

In der europäischen Union ist – wie in Kapitel 1.4.4 dargestellt - bisher nur eine vorläufige tolerable tägliche Zufuhrmenge festgelegt worden. Deshalb bemüht sich die EFSA um weitere Daten zur Giftigkeit von DON. Aus Sicht der EFSA fehlen besonders Studien zur Genotoxizität und zur Frage einer möglichen krebserzeugenden Wirkung von DON. In einem Test an Bakterien (sogenannter Ames-Test) ergaben sich keine Hinweise auf eine erbgutverändernde (mutagene) Wirkung von DON. In anderen Studien traten aber teilweise Veränderungen an den Chromosomen auf. Allerdings wurden diese Ergebnisse von der Weltgesundheitsorganisation als widersprüchlich bewertet (Canady, et al., 2001).

Hinweise auf eine mögliche krebserzeugende Wirkung liegen nicht vor. In der bisher einzigen Langzeitstudie entwickelten sich bei Mäusen, die über zwei Jahre DON im Futter erhielten, keine bösartigen Tumore. Nach Ansicht der Weltgesundheitsorganisation sollte dieser Befund durch eine entsprechende Studie an Ratten bestätigt werden. Tumore können sich auch entwickeln, wenn durch ein Toxin das Erbgut verändert wird. Die EFSA hat deshalb am 13. August 2013 dazu aufgerufen („Call for Proposal“), ihr weitere Studien zur Frage einer möglichen erbgutverändernden Wirkung von DON zu übermitteln (EFSA, 2013a).

Größere Wissenslücken bestehen auch noch bei der Frage, wie viel DON Menschen in Europa tatsächlich aufnehmen. In Kapitel 1.4.3 wurde geschätzt, dass die tägliche Aufnahme von DON bis zu 1 µg DON/kg Körpergewicht betragen kann. Diese Aufnahmemenge entspricht bereits der tolerablen Aufnahmemenge. Da eine genauere

Berechnung wegen der in ebenfalls Kapitel 1.4.3 dargestellten Probleme schwierig ist, hält es die EFSA für sinnvoller, die Ausscheidung von DON (z.B. als DON-glucuronid oder DOM-1) im Urin von Menschen zu untersuchen. Auch hierzu fordert die EFSA auf (EFSA, 2013b).

Desweiteren beschäftigt die Wissenschaftler ein noch relativ neues Problem. Es wurde herausgefunden, dass Mykotoxine in maskierter Form auftreten können. Diese maskierten Mykotoxine entstehen im Stoffwechsel und werden von den üblichen analytischen Methoden nicht erkannt (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2011). Durch eine Reaktivierung im Verdauungstrakt oder durch Bioaktivierung bei technischen Prozessen entstehen dann biologisch wirksame Verbindungen. Auch DON liegt zusätzlich zur nachweisbaren freien Form noch als DON-3 $\beta$ -D-Glucosid sowie als verschiedene Acetylderivate in Lebensmitteln vor (Bundesinstitut für Risikobewertung, 2011). Das Vorkommen dieser Derivate wurde anhand von DON-3-Glucosid in der Bierherstellung untersucht. Es wurde herausgefunden, dass DON-3-Glucosid in Malz höher vertreten war als in der Gerste, die zur Malzherstellung benutzt wurde (Lancova, et al., 2008). Daraus ergibt sich, dass DON wahrscheinlich in höheren Mengen aufgenommen wird, als bisher angenommen. Auch diese Entdeckung spricht dafür, die Belastung beim Menschen direkt zu untersuchen.

Es ist wichtig, weiter in diesem Bereich zu forschen, um die bisherigen Grenzwerte sicherer zu begründen oder überarbeiten zu können. Schließlich sind Mykotoxine Auslöser von erheblichen gesundheitlichen Problemen. Zusätzlich zu dem eben genannten Gesundheitsaspekt darf auch die wirtschaftliche Dimension nicht vergessen werden. Die WHO schätzt, dass 25% der Welternte an Getreide mit Schimmelpilzen beziehungsweise mit Mykotoxinen belastet ist. Dies macht deutlich, wie wichtig Maßnahmen bereits auf dem Feld sind, aber auch eine funktionierende Getreidereinigung. Hier besteht weiterhin Verbesserungsbedarf. Dies zeigt, dass das Thema Mykotoxine allgemein und das Deoxynivalenol als einer der häufigsten Vertreter in Getreide auch in Zukunft hochaktuell sein werden.

## **Literaturverzeichnis**

- Food and Agriculture Organization (FAO). (2004). Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003. FAO Food and Nutrition Paper 81:  
<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y5499e/y5499e00.pdf>, Stand:30.09.2013.
- Abbas, H. K., Mirocha, C. J., Pawlosky, R. J., Pusch, D.J. (1985). Effect of cleaning, milling and baking on deoxynivalenol in wheat, Vol. 50, No. 2. In: Applied and Environmental Microbiology, S. 482-486.
- Bartels, G., Rodemann, B. (2003). Strategien zur Vermeidung von Mykotoxinen im Getreide. In: Gesunde Pflanzen, 55. Jahrg., S. 125-135.
- Biselli, S. (2006). Analytische Methoden für die Kontrolle von Lebens- und Futtermitteln auf Mykotoxine. In: Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Band 1, Heft 2, S. 106-114.
- Brockhaus, R. (2011). Pressemitteilung Nr. 105 vom 22.05.11. Aigner: Deutsches Brot als Kulturerbe schützen. Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV):  
<http://www.bmelv.de/SharedDocs/Pressemitteilungen/2011/105-AI-Besuch-Baeckerinnung.html>, Stand: 23.09.2013.
- Bundesinstitut für Risikobewertung (2011). TOP 5 Maskierte Mykotoxine – ein vernachlässigtes Problem? 6. Sitzung der BfR-Kommission für Kontaminanten und andere gesundheitlich unerwünschte Stoffe in der Lebensmittelkette. Bundesinstitut für Risikobewertung S. 1-4.
- Canady, R. A., Coker, R. D., Egan, S. K., Krska, R., Kuiper-Goodman, T., Olsen, M., Pestka, J., Resnik, S., Schlatter, J. (2001). Deoxynivalenol. Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations.  
<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je05.htm>, Stand: 06.10.2013
- Curtui, V., Brockmeyer, A., Dietrich, R., Kappenstein, O., Klaffke, H., Lepschy, J., Wolff, J. (2005). Verbundforschungsprojekt 00HS 055: Analytik und Vorkommen wichtiger Fusarientoxine (Deoxynivalenol, Zearalenon) sowie Aufnahme dieser Toxine durch den deutschen Verbraucher. Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung.
- Czerwiecki, L., Wilczyńska, G. (2003). Determination of deoxynivalenol in cereals by HPLC-UV. In: Mykotoxin Research, Vol. 19, S. 31-34.
- Ebel, S., Kamm, K. (1983). Statistische Definition der Bestimmungsgrenze. In: Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie, Vol. 316, Issue 4, S. 382-385.
- Edwards, S., Scudamore, K., MacDonald, S., Patel, S., Hazel, C., Buttler, D., Dickin, E. (2011). Distribution of Fusarium mycotoxins in UK wheat mill fractions. In: Food Additives and Contaminants. Part A, Chemistry, analysis, exposure, control & risk assessment, S. 1-34.

- EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Deoxynivalenol (DON) as undesirable substance in animal feed. In: The EFSA Journal, 73, S. 1-41.
- EFSA (2013a). Call for proposals and guide for applicants. In vivo genotoxicity studies on nivalenol and deoxynivalenol. European Food Safety Authority. <http://www.efsa.europa.eu/en/contam201305/docs/gpefsacontam201305guide.pdf>, Stand: 02.10.2013.
- EFSA (2013b). Call for proposals and guide for applicants. Experimental study of deoxynivalenol biomarkers in urine. European Food Safety Authority. <http://www.efsa.europa.eu/en/gpefsacontam201304/docs/gpefsacontam201304guide.pdf>, Stand: 02.10.2013.
- EFSA (2013). EFSA contaminants events. Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain: Draft Agenda of the 61st plenary meeting. <http://www.efsa.europa.eu/en/events/event/130925-a.pdf>, Stand: 28.09.2013.
- Fioramonti, J., Dupuy, C., Dupuy, J., Bueno, L. (1993). The mycotoxin, deoxynivalenol, delays gastric emptying through serotonin-3 receptors in rodents. In: Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, Vol. 266, No. 3, S. 1255-1260.
- Gareis, M. (1999). Mykotoxine und Schimmelpilze. Forschungsreport Nr. 2, S. 4-5.
- Gruber-Schley, S. (1988) Fusarien und ihre Toxine in Getreide unter besonderer Berücksichtigung von Mais. Dissertation. Universität Hohenheim.
- Huang, J., Chen, G., Zhang, X., Shen, C., Lü, C., Wu, B., Liu, Y.; Chen, H.; Ding, T. (2012). Determination of deoxynivalenol in grain and its products by solid-phase extraction coupled with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. In: Chinese Journal of Chromatography (11), S. 1203-1207.
- JECFA (2001). Fifty-sixth meeting, 6.-15. February 2001, Geneva. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Summary and Conclusions, S. 24-28 [http://www.who.int/foodsafety/chem/jecfa/summaries/en/summary\\_56.pdf](http://www.who.int/foodsafety/chem/jecfa/summaries/en/summary_56.pdf), Stand: 02.10.2013.
- Juodeikienė, G., Basinskiene, L., Vidmantienė, D., Bartkiene, E., Kunigelis, V., de Koe, W. (2008). Rapid acoustic screening of deoxynivalenol (DON) in grain. In: World Mycotoxin Journal, Vol. 1, No. 3, S. 267-274.
- Krämer, J. (2007). Lebensmittel-Mikrobiologie (5. Auflage). Stuttgart: Eugen Ulmer Verlag.
- Kushiro, M. (2008). Effects of milling and cooking on the deoxynivalenol content in wheat. In: International Journal of Molecular Science, Vol. 9, S. 2127-2145.
- Lancova, K., Hajslova, J., Poustka, J., Krplova, A., Zachariasova, M., Dostalek, P., Sachambula, L. (2008). The fate of trichothecene mycotoxins during the processing: milling and baking. In: Food additives and contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure and risk assessment, S. 650-659.

- Lindhauer, M., Münzing, K., Seling, S., Betsche, T., Kersting, H.-J., Masloff, S., Seifert, M. (2005). Hochwertiges Getreide durch kontinuierliche Qualitätserhebungen - Besondere Ernte- und Qualitätsermittlung (BEE) als Beratungsinstrument für die Agrar- und Verbraucherpolitik und ihre Zielgruppen. In: Forschungsreport Verbraucherschutz, Ernährung, Landwirtschaft, Band 2, S. 21-25.
- Magan, N., Hope, R., Cairns, V., Aldred, D. (2003, September). Post-harvest fungal ecology: Impact of fungal growth and mycotoxin accumulation in stored grain. In: European Journal of Plant Pathology (109), S. 723-730.
- Masloff, S. (2007). Schnellmethoden zur Ermittlung des Mykotoxingehaltes. Arbeitsgemeinschaft Getreideforschung e.V. <http://www.agfdt.de/loads/mt06/masloabb.pdf>, Stand: 03.10.2013.
- Mulders, E., van Impelen-Peek, H. (1986). Gas chromatographic determination of deoxynivalenol in cereals. In: Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung , Vol 183, Issue 6, S. 406-409.
- Münzing, K., Schwake-Anduschus, C. (2010). Verfahren der Risikominimierung und Dekontamination zur Förderung der Sicherheit und Qualität bei Brot und Speisegetreide. 13. Mold-Meeting in Linz. Ernährungsrisiko Mykotoxine - Vermeidungsstrategien entlang der Lebensmittelkette, S. 1-27.
- Neogen (2013). Veratox Test Kits: Veratox for DON 5/5. Neogen Europe Ltd. [http://www.neogen.com/FoodSafety/pdf/ProdInfo/V-Don-5-5\\_NE.pdf](http://www.neogen.com/FoodSafety/pdf/ProdInfo/V-Don-5-5_NE.pdf), Stand: 01.10.2013.
- Offenbächer, G. (2002). Zur Analytik von Fusarium-Mykotoxinen. Band 92 der Schriftenreihe des Lehr- und Forschungsschwerpunktes „Umweltverträgliche und Standortgerechte Landwirtschaft“, Landwirtschaftliche Fakultät der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. S. 4-13.
- Oldenburg, E., Rodemann, B., Schwake-Anduschus, C., Münzing, K. (2011). Minimierungsstrategien für Mykotoxine bei Anbau, Ernte und Verarbeitung. Kreislauf unerwünschter Stoffe in der Lebensmittelkette. In: Angewandte Wissenschaften, Heft 524, S. 119-130.
- Oldenburg, E., Brunotte, J., Weinert, J. (2008). Einfluss verschiedener Bodenbearbeitungsverfahren auf den Gehalt des Fusariumtoxins Deoxynivalenol im Silomais. 56. Deutsche Pflanzenschutztagung in Kiel, 22.-25. September 2008. Mitteilungen aus dem Julius-Kühn-Institut, Heft 417, S. 68-69
- Placinta, C. M., D'Mello, J. P. F., Macdonald, A. M.C. (1999). A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with Fusarium mycotoxins. In: Animal Feed Science and Technology, Vol 78, Issue 1-2, S. 21-37.
- Raupach, K. (2012). Risiko und Riskikomanagement ausgewählter Fusarium-Mykotoxine. Stuttgart: ibidem-Verlag.

- Richter, W., Schuster, M., Tischner, H., Zimmermann, G., Doleschel, P., Beck, R., Lepschy von Gleissenthall, J., Steinhöfel, O., Hörügel, K., Hanschmann, G., Heinze, A., Jahn, O., Hartung, H., Müller, G., Thalmann, A. (2013). Länderübergreifende Zusammenarbeit der Landesanstalten für Landwirtschaft: Schimmelpilze und Mykotoxine in Futtermitteln. Landwirtschaft-Sachsen.de: [http://www.landwirtschaft.sachsen.de/landwirtschaft/download/BU\\_Mykotoxine\\_April2005.pdf](http://www.landwirtschaft.sachsen.de/landwirtschaft/download/BU_Mykotoxine_April2005.pdf), Stand: 30.09.2013.
- Schlang, N. (2010). Auftreten der partiellen Taubährigkeit in Weizenbeständen – räumliche Verteilung der Fusarium-Arten und assoziierter Mykotoxine. Dissertation. Universität Bonn.
- SCF (1999). Opinion on Fusarium toxins. Part 1: Deoxynivalenol (DON). European Commission: Scientific Committee on Food. [http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out44\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out44_en.pdf), Stand: 03.10.2013.
- SCOOP (2003). SCOOP TASK 3.2.10: Collection of occurrence data of Fusarium toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU Member States. European Commission: Scientific Cooperation. <http://ec.europa.eu/food/fs/scoop/task3210.pdf>, Stand: 03.10.2013.
- Seitz, L. M., Yamazaki, W. T., Clements, R. L., Mohr, H. E., Andrews, L. (1985). Distribution of Deoxynivalenol in Soft Wheat Mill Streams. In: Cereal Chemistry, Vol. 62, Issue 6, S. 467-469.
- Shifrin, V., Anderson, P. (1999). Trichothecene mycotoxins trigger a ribotoxic stress response that activates c-Jun N-terminal kinase and p38 mitogen-activated protein kinase and induces apoptosis. In: Journal of Biology Chemistry, Vol. 274, Issue 20, S. 13985-13992.
- Sollberger, H. (2008). Getreidereinigung. In: Erling, P. (Hrsg.), Handbuch Mehl- und Schälmmüllerei, Clenze: Agrimedia Verlag, S. 135-183.
- Spicher, G. (1981). Schimmelpilze und Mykotoxine in Getreide. In: Reiß, J. (Hrsg.), Mykotoxine in Lebensmitteln, Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, S. 349-350.
- Steinmüller, R. (2006). Mykotoxin-Schnellanalytik - die schnelle Alternative zur klassischen Analyse? Immunoassay - Möglichkeiten und Grenzen, 3. Teil. In: Mühle + Mischfutter, 143. Jahrg., Heft 18, S. 592.
- Thompson, W., Wannemacher, R. (1986). Structure-function relationships of 12,13-epoxytrichothecene mycotoxins in cell culture: comparison to whole lethality. Toxicol, Vol. 24, Issue 10, S. 985-994.
- van Egmond, H., Schothorst, R., Jonker, M. (2007). Regulations relating to mycotoxins in food. Analytical and Bioanalytical Chemistry, Vol. 389, Issue 1, S. 147-157.
- Verordnung (EG) Nr.1881/2006 der Kommission vom 19. Dezember 2006 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln, Anhang, Abschnitt 2: Mykotoxine, 2.4 Deoxynivalenol

Verordnung (EWG) Nr. 2731/75 des Rates vom 29. Oktober 1975 über die Standardqualitäten für Weichweizen, Roggen, Gerste, Mais und Hartweizen, Artikel 1: Weichweizen

Weidenböerner, M. (1999). Lebensmittel-Mykologie. Hamburg: Behr's Verlag.

Wolff, J. (2004). 26. Mykotoxin-Workshop: Untersuchungen der Gehaltsveränderungen der Fusariumtoxine Deoxynivalenol (DON) und Zearalenon (ZEA) durch Be- und Verarbeitungsprozesse in Getreide und Getreideprodukte. Schriftenreihe der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft, S. 32  
[http://www.lfl.bayern.de/mam/cms07/publikationen/daten/schriftenreihe/p\\_19805.pdf](http://www.lfl.bayern.de/mam/cms07/publikationen/daten/schriftenreihe/p_19805.pdf), Stand: 03.10.2013.

Wolff, J., Blüthgen, A. (2004). Untersuchungen an Nebenprodukten der Müllerei auf unerwünschte Stoffe. In: Angewandte Wissenschaft - Schriftenreihe des Bundesministeriums für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft, Heft 496. Münster: Landwirtschaftsverlag.

Wolz, L. (2013). Futtermittel-Skandal: So gefährlich ist das Schimmelpilzgift. stern.de: <http://www.stern.de/gesundheit/futtermittel-skandal-so-gefaehrlich-ist-das-schimmelpilz-gift-1978347.html>, Stand: 30.09.2013.

## **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Chemische Struktur von Deoxynivalenol (EFSA, 2004).....	9
Abbildung 2: Beispiele der untersuchten Proben.....	22
Abbildung 3: Schematischer Aufbau der Analyse mit ELISA.....	24
Abbildung 4: DON-Gehalte während der Getreidereinigung.....	35
Abbildung 5: Darstellung der DON-Belastung in den Weizenmahlerzeugnissen .....	36
Abbildung 6: Darstellung der DON-Belastung in den Reinigungsabgängen .....	38

## **Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Höchstmengen für Deoxynivalenol in bestimmten Erzeugnissen aus der VO (EG) Nr. 1881/2006.....	12
Tabelle 2: Daten der Probenahme .....	25
Tabelle 3: Ergebnisse der DON-Konzentrationen in allen untersuchten Proben der 1. und 2. Probenahmereihe in µg/kg.....	26
Tabelle 4: Ergebnisse zu durchschnittlichen DON-Konzentrationen differenziert nach Produkt und Abgang .....	27
Tabelle 5: Median, Minimum und Maximum der DON-Konzentrationen in allen Proben in µg/kg.....	29
Tabelle 6: Übersicht der an den Kontrollpunkten eingesetzten Probenahme-Hilfsmittel ...	48
Tabelle 7: DON-Gehalt nach dem Kombireiniger und nach dem Trieur (Überprüfung der Ergebnisse aus der Hauptuntersuchung) .....	49

## Anhang

Tabelle 6: Übersicht der an den Kontrollpunkten eingesetzten Probenahme-Hilfsmittel

Kontrollpunkte	Probenahmebehälter	Hilfsmittel
1	10 kg – Papierbeutel	Pappschälchen
2	0,5 kg – Plastikbeutel	Pappschälchen
3	0,5 kg – Plastikbeutel	Pappschälchen
4	10 kg – Papierbeutel	Nicht erforderlich
5a	0,5 kg – Plastikbeutel	Pappschälchen
5b	0,5 kg – Plastikbeutel	Pappschälchen
5c	0,5 kg – Plastikbeutel	Pappschälchen
6	2,0 kg – Plastikbeutel	Pappschälchen
7	10 kg – Papierbeutel	Pappschälchen
8	10 kg – Papierbeutel	Nicht erforderlich
9	2,0 kg – Plastikbeutel	Nicht erforderlich
10	0,5 kg – Plastikbeutel	Pappschälchen
11	10 kg – Papierbeutel	Nicht erforderlich
Grieß	2,0 kg – Plastikbeutel	Schälchen
Kleie	2,0 kg – Plastikbeutel	Schaufel
Keime	2,0 kg - Plastikbeutel	Schälchen
T 405	10 kg – Plastikeimer	Nicht erforderlich
T 2000	10 kg – Plastikeimer	Nicht erforderlich

Tabelle 7: DON-Gehalt nach dem Kombireiniger und nach dem Trieur (Überprüfung der Ergebnisse aus der Hauptuntersuchung)

Bezeichnung	DON-Gehalt [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] nach dem Kombireiniger			DON-Gehalt [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] nach dem Trieur		
	1. Analyse	2. Analyse	Mittelwert	1.Analyse	2.Analyse	Mittelwert
T 405	104	130	<b>117</b>	155	180	<b>168</b>
T 550	111	106	<b>108</b>	181	220	<b>200</b>
T 1050	167	177	<b>172</b>	139	154	<b>146</b>

## **Zusammenfassung**

Weizen ist regelmäßig mit Schimmelpilzen der Gattung *Fusarium* verunreinigt. Fusarien können für den Menschen giftige Verbindungen, die sogenannten Mykotoxine, bilden. Das wichtigste Mykotoxin im Weizen ist das Deoxynivalenol (DON). Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, die Effektivität der Getreidereinigung auf den DON-Gehalt in Weizen und Weizenerzeugnissen zu untersuchen.

Dazu wurden die DON-Konzentrationen in Weizen und Weizenprodukten sowie in den Abgängen an ausgewählten Untersuchungspunkten des gesamten Reinigungsvorgangs einer Mühle bestimmt. Nach einer für die Anlage repräsentativen Probenahme erfolgte die quantitative Bestimmung des DON mittels kompetitivem ELISA-Test.

Die Effektivität der Getreidereinigung wird aus den Ergebnissen der DON-Konzentrationen der Abgänge und der Proben deutlich. Die Abgänge waren etwa 10- bis 20fach höher belastet als der gereinigte Weizen. Bei der Getreidereinigung sank der DON-Gehalt um etwa 50%. Dabei fand eine Anreicherung von DON in der Kleie statt.

Mit dem ELISA-Schnelltest ist eine schnelle und kostengünstige halbquantitative Prüfung der Effektivität der einzelnen Reinigungsschritte möglich. Eine quantitative Aussage über die Effektivität der untersuchten Getreidereinigungsmaschinen konnte nicht gemacht werden, da keine Durchflussvolumina der Abgänge und der Produkte erhoben wurden.

## **Abstract**

Wheat is regularly contaminated by the fungus *Fusarium*. *Fusarium* is able to produce toxic compounds, the so called mycotoxins, which are toxic to humans. The most important mycotoxin in wheat is deoxynivalenol (DON). The aim of this study was to discover the effectiveness of wheat cleaning and its impact on the concentration of Deoxynivalenol in wheat.

For this purpose, DON concentrations in wheat and wheat products and outflows at selected control points of the cleaning system of a mill were analyzed. Following a representative sampling DON was quantified by a competitive ELISA test.

The effectiveness of the cleaning system became apparent from the results of the DON concentrations of the outflows and the wheat products. The outflows were 10 to 20 times

higher contaminated than the cleaned wheat. The concentration of DON in cleaned wheat decreased by 50 percent. An accumulation of DON was found in the bran.

The ELISA used in the study allowed a fast and cheap semi-quantitative determination of the effectiveness of the single cleaning steps. A quantitative conclusion on the effectiveness of the analyzed wheat cleaning machines could not be evaluated due to lack of data for the flow rate of the outflows and the products.

### ***Eidesstattliche Erklärung***

Ich versichere, dass ich vorliegende Arbeit ohne fremde Hilfe selbstständig verfasst und nur die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe. Wörtlich oder dem Sinn nach aus anderen Werken entnommene Stellen sind unter Angabe der Quelle kenntlich gemacht.

Hamburg, 08.10.2013