

Zur Verteilungscharakteristik von Mykotoxinen bei Kakaobohnen



Marion Raters, Susanne Beucker, Reinhard Matissek

Lebensmittelchemisches Institut (LCI)
des Bundesverbandes der Deutschen Süßwarenindustrie e. V.
Adamsstr. 52-54, 51063 Köln, www.lci-koeln.de



Einleitung

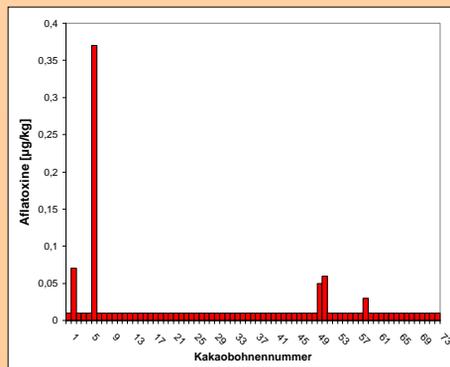
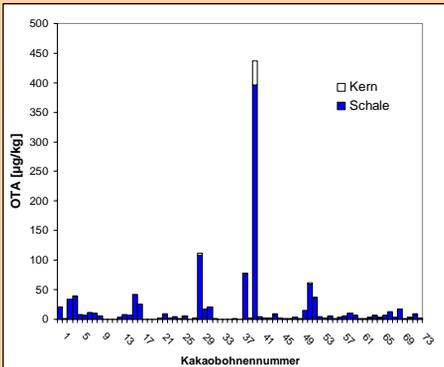
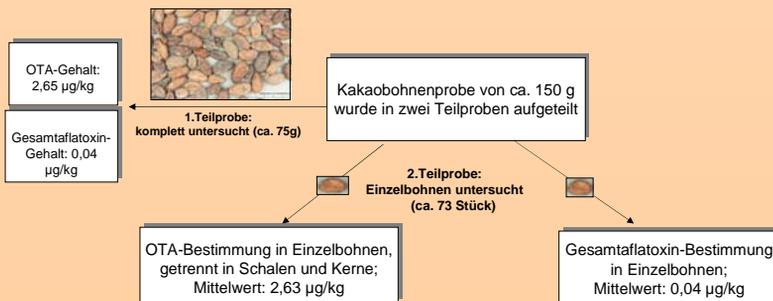
Bei Aflatoxinen und Ochratoxin A (OTA) handelt es sich um Sekundärmetaboliten toxinbildender Schimmelpilze der Gattung *Aspergillus* und *Penicillium*.

OTA kommt bevorzugt in einheimischen stärkehaltigen Cerealien vor. Es konnte aber u. a. auch in Nüssen, Feigen, Kaffeebohnen (roh und geröstet), in Gewürzen, im Olivenöl, Wein, Bier und auch in Kakao nachgewiesen werden [2, 4]. Aflatoxine bilden sich häufig in eiweißreichen Produkten feucht warmer Regionen, wie Nüsse (Erdnüsse, Pistazien), Mais, Trockenfeigen und verschiedenen Gewürzen, wie Pfeffer und Paprika. Auch in Kakao konnten Aflatoxine nachgewiesen werden [4]. Aufgrund ihres toxikologischen und cancerogenen Potentials sind diese Mykotoxine in Lebensmitteln unerwünscht [1, 2].

Mykotoxine sind in stückigen Rohstoffen wie Pistazien oftmals extrem inhomogen verteilt; dieses wird als „Nesterbildung“ oder „hot spots“ bezeichnet. So zeigten Untersuchungen an Pistazien, dass ein einzelner Kern so stark mit Mykotoxinen kontaminiert sein kann, dass er das Kontaminationsbild von mehreren tausend Kernen bestimmt [3]. Ob auch Kakaobohnen zur Ausbildung so genannter „Mykotoxin-Nester“ neigen, ist bisher nicht bekannt. Im Rahmen dieser Arbeit wurde die statistische Verteilung der Mykotoxine Gesamtaflatoxine und Ochratoxin A untersucht.

Versuchsaufbau / Ergebnisse

Für die vorgesehene Untersuchung einzelner Kakaobohnen wurde eine ausgewählte Rohkakaobohnenprobe aus der Region Elfenbeinküste mit einem Gesamtumfang von ca. 1200 g zunächst mit einem Probenteller mehrfach in jeweils zwei statistisch gleichwertige Teile geteilt bis eine Probe von 150 g erhalten wurde. Diese wurde anschließend in zwei weitere Teilproben (siehe Abbildung) geteilt. Die 1. Teilprobe wurde komplett zerkleinert und auf Gesamtaflatoxine und Ochratoxin A untersucht. Von der 2. Teilprobe wurden für die OTA-Analyse alle 73 Bohnen, getrennt in Schale und Kern, einzeln untersucht. Die Aflatoxin-Untersuchungen wurden im Gegensatz dazu an den ganzen Einzel-Kakaobohnen durchgeführt. Wie den dargestellten Charts zu entnehmen ist, stimmen die in der komplett untersuchten Teilprobe ermittelte Mykotoxin-Gehalt exakt mit den per Einzelbohnenuntersuchung errechneten Mykotoxin-Gehalten überein.



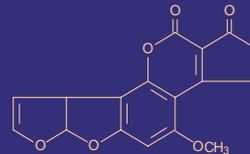
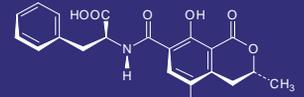
Fazit

Die üblicherweise angewandte Analysenmethode zur Bestimmung von Aflatoxinen und Ochratoxin A konnte der Aufgabenstellung entsprechend erfolgreich miniaturisiert werden. Dieses brachte aufgrund des geringeren Extraktionsvolumens zusätzlich eine beachtliche Zeit- und Materialersparnis mit sich.

Die Untersuchungen zur Verteilungscharakteristik ergaben sowohl für Aflatoxine als auch für Ochratoxin A eine eher unsymmetrische Verteilung der Einzelwerte. Aufgrund der exakten Übereinstimmung zwischen den in der komplett untersuchten Teilprobe ermittelten und den per Einzelbohnenuntersuchung errechneten Mykotoxin-Gehalten, ist von einer im Vergleich zu anderen mykotoxinhaltigen Gütern (Erdnüsse oder Pistazien) eher geringen Streuung der Werte in den einzelnen Kakaobohnen auszugehen. Echte „hot spots“ traten demzufolge bei der untersuchten Charge nicht auf.

Es konnte des Weiteren erneut gezeigt werden, dass der überwiegende Anteil an OTA sich auf der Kakaoschale und nicht im Kakaokern befindet [5].

Ochratoxin A

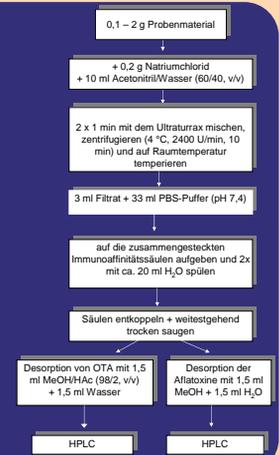


Aflatoxin B₁

Miniaturisierung der Analysenmethode

Hinsichtlich der Mykotoxin Analytik ist die am häufigsten zum Einsatz kommende Methode zur Zeit die Hochleistungs Flüssigchromatographie mit Fluoreszenz Detektion. Zuvor werden die Mykotoxine mit Hilfe von speziellen Immunoaffinitätsäulen isoliert.

Zur Untersuchung einzelner Bohnen war es nötig, die bestehenden Analysenmethoden, die für Einwaagen von ca. 50 g optimiert sind, den Einwaagen von z. T. < 100 mg entsprechend, zu miniaturisieren [4]. Nur so war es möglich, einzelne Bohnen getrennt im Schale und Kern zu untersuchen und hierbei zugleich eine Nachweisgrenze im akzeptablen Bereich von 0,04 µg/kg zu erhalten.



HPLC-Bedingungen

	OTA	Aflatoxine
Trennsäule	Sperisorb ODS 2; 5 µm, 4,6 x 250 mm	
Eluent	MeOH / H ₂ O / HAc (70,5 / 25,5 / 4, v/v/v)	H ₂ O / MeOH / ACN (60 / 20 / 20, v/v/v) + 100 µl HNO ₃ + 119 mg KBr
Fluss	1,0 ml isokratisch	1,2 ml isokratisch
Injektionsvolumen	20 µl	100 µl
Säulentemperatur	20 °C	20 °C
Derivatisierung	-	Kobra-Zelle
Fluoreszenz	λ _{Ex} =330 und λ _{Em} =460	λ _{Ex} =362 und λ _{Em} =440

Literatur

- [1] Märtlbauer E, Uleber E, Dietrich R (1999) Mykotoxine - Eine Übersicht. Der Lebensmittelbrief 10: 131-134
- [2] Deutsche Forschungsgemeinschaft (1990) Ochratoxin A - Vorkommen und toxikologische Bewertung. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim
- [3] Steiner E, Brunschweiler K, Leimbacher E, Schneider R (1992) Aflatoxines and fluorescence in brasil nuts and pistachio nuts. J Agric Food Chem 40: 2453-2457
- [4] Raters M, Matissek R (2003) Neue Studien zur Analytik und zum Vorkommen von Ochratoxin A in Kakao und kakaohaltigen Erzeugnissen (nicht veröffentlicht)
- [5] Raters M, Matissek R (2000) Vorkommen der Mykotoxine Aflatoxin B₁, B₂, G₁, G₂ und Ochratoxin A in Kakao und Kakaoprodukten (nicht veröffentlicht)