

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Band: 82 (1991)

Heft: 5

Artikel: Aflatoxin B, BGY-Fluoreszenz und Kojisäure in Maiskörnern : eine Untersuchung auf Mais schweizerischer Herkunft = Aflatoxin B, BGY-fluorescence and kojic acid in maize kernels : an investigation on maize of Swiss origin

Autor: Steiner, W. / Pacciarelli, B. / Battaglia, R.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982424>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 06.10.2024

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Aflatoxin B₁, BGY-Fluoreszenz und Kojisäure in Maiskörnern: eine Untersuchung auf Mais schweizerischer Herkunft

Aflatoxin B₁, BGY-fluorescence and Kojic Acid in Maize
Kernels: An Investigation on Maize of Swiss Origin

W. Steiner und *B. Pacciarelli*
Kantonales Laboratorium, Zürich

R. Battaglia
Migros-Genossenschaftsbund, Zentrallabor, Zürich

Einleitung

Aufgrund von Milchprodukten, die Aflatoxin M₁ enthielten, wurden wir im Jahre 1987 auf eine Mühle aufmerksam gemacht, die mit Aflatoxin B₁ beträchtlich kontaminierten Futtermais der Ernte 1986 lieferte. Die untersuchten Proben enthielten 9–58 µg/kg dieses Toxins. Der Mais war nicht etwa argentinischer oder amerikanischer Herkunft, sondern stammte aus dem Kanton Zürich und somit einer Region mit gemässigtem Klima. Diese Klimazone bietet ungünstige Bedingungen für die Aflatoxinproduktion (1, 2), eine Kontamination in diesem Ausmasse war deshalb unerwartet.

Die Bildung von Aflatoxin B₁ auf Mais während des Wachstums wurde von mehreren Autoren beschrieben (3–9). Die Möglichkeit, dass der von uns untersuchte Mais schon kontaminiert zur Mühle geführt wurde, war somit nicht auszuschliessen. Andererseits sind Aflatoxinproduzenten dafür bekannt, bei für sie günstigen Bedingungen auf gelagertem Mais Toxine zu produzieren (10). Eine längere Lagerung von ungetrocknetem Mais in einer Mühle kann durchaus zu einer Aflatoxinkontamination führen. Da nicht mehr abzuklären war, welche der beiden Möglichkeiten am untersuchten Mais zutraf, wurden Feldproben aus der gesamten Region Zürich und Proben aus den entsprechenden Mühlen der folgenden Ernte 1987 untersucht.

Aflatoxin B₁ ist in Mais häufig mit BGY-Fluoreszenz (BGY: bright greenish yellow) vergesellschaftet (11–13). Der Vorläufer der fluoreszierenden Verbindun-

gen soll Kojisäure sein, ein von den meisten Aflatoxinproduzenten erzeugtes Stoffwechselprodukt (12–14). Kojisäure ist wesentlich weniger gesundheitsgefährdend als Aflatoxin B₁, sie wird aber doch als Mykotoxin eingestuft (15). Neben der Aflatoxinkonzentration wurde deshalb auch der Gehalt an Kojisäure in einzelnen Maiskörnern untersucht.

Material und Methoden

Chemikalien

Aceton, p.a.
Acetonitril, HPLC-Qualität
Acetanhydrid, Merck, 41
Aflatoxin B₁, B₂, G₁ und G₂, Serva, 77020, 77021, 77022, 77023
Standardmischung für die DC: Aflatoxine B₁ und G₁ je 0,5 µg/ml, Aflatoxine B₂ und G₂ je 0,25 µg/ml Toluol/Acetonitril (98+2)
Chloroform, p.a.
Dichlormethan, p.a.
Diethylether, wasserfrei, peroxidfrei
Methanol, Merck p.a.
Pyridin, Fluka, 60890
Toluol, p.a.
Wasser, bidestilliert
Iod
Kojisäure, Fluka, 60890
Natriumsulfat
PIC A (Terabutylammoniumphosphat, Waters)

Geräte

Gaschromatographie-Massenspektrometriesystem: QMD 1000 (Carlo Erba Instruments)
Fluoreszenzdetektor F1050 (Merck, Hitachi). UV-Detektor: Kratos Spectroflow 773
Camag Scanner TLC II, Dünnschichtfolien (Merck, 5553)
HPLC-Pumpen: Modell 665A-12 8 (Merck, Hitachi), Kontron T-414, Einkolbenpumpen
Nachsäulenderivatisierungsgerät: Applied Biosystem Modell PCRS 520
Zur Dosierung der Iodlösung für die Nachsäulenderivatisierung von Aflatoxin B₁ wurde eine Kontronpumpe verwendet.
Ultraschallbad, Bandelin, Sonorex, RK 100 H
Hettich Zentrifuge Rotanta/S

Gerät zur Homogenisierung von einzelnen Maiskörnern: Zylinderrohr mit Kolben aus Messing. Das Rohr wies einen Innendurchmesser von 16 mm und eine Höhe von 200 mm auf, der Durchmesser des Kolbens war 14 mm und als Unterlage diente ein über das Zylinderrohr aufsteckbarer 15 mm hoher Zylinder mit 19 mm Innendurchmesser. Retsch Ultra-Zentrifugalmühle Typ ZM 1 zum Mahlen der Maisproben (Siebeinsatz: 1 mm).

Blak-Ray UV-Lampe (Model B-100 A 360 nm). Zum Aussortieren fluoreszierender Maiskörner wurden Einweghandschuhe getragen und die Augen wurden mit Blak-Ray UV-Brillen geschützt.

Faltenfilter 593 1/2, 24 cm (Schleicher & Schuell)

Einwegfilter, 0,45 µm Porendurchmesser, Macherey-Nagel, 718005

Probenahmen

33 Feldproben aus dem Kanton Zürich wurden im Jahre 1987 erhoben. Dabei wurden die Maiskörner vom Mähdrescher entnommen und innert 1 Tag bei 80 °C über Nacht von 32–44% auf 9–15% Wassergehalt getrocknet. Die Probenmengen lagen zwischen 1,6 und 19,4 kg.

Aus 4 Mühlen, deren Einzugsgebiet der Region entsprach, aus welchem die Feldproben entnommen worden waren, wurden im Dezember 1987, Februar und März 1988, und im März 1989 Proben zwischen 17,5 und 23 kg erhoben.

Probenvorbereitung

Unter einer Blak Ray UV-Lampe (360 nm) wurden von der trockenen Ware Maiskörner mit BGY-Fluoreszenz herausgelesen und fluoreszierendes Material bei –20 °C bis zur Analyse gelagert.

Zur Durchführung der Analyse wurden fluoreszierende Maiskörner in einem Zylinderrohr mit einem Kolben zertrümmert und homogenisiert. Die aussortierte, von fluoreszierenden Körnern befreite Ware wurde in einer Zentrifugalmühle mit einem 1 mm Siebeinsatz gemahlen.

Extraktion

Proben ohne BGY-Fluoreszenz bzw. aussortierte Ware

Die gemahlene Probe wurde nach (16) extrahiert.

80 g Probe wurde mit 200 ml Methanol und 20 ml Wasser versetzt und 3 min in einem Mixer extrahiert. Daraufhin wurden 60 ml Wasser zugefügt und die Suspension erneut 3 min extrahiert. Das Gemisch wurde durch ein Faltenfilter filtriert und 70 ml Filtrat mit 50 ml Petrolether, 55 ml Wasser und 2 g Kochsalz versetzt. Die Probe wurde 1 min in einem Scheidetrichter geschüttelt und die wässrige Phase nach Zugabe von 20 ml Wasser und 90 ml Dichlormethan erneut 2 min extrahiert. Die Dichlormethanphase wurde mit Natriumsulfat getrocknet und zur Trockne

eingedampft. Der Rückstand wurde in 1 ml Toluol/Acetonitril 98 + 2 aufgenommen und diese Lösung zur Dünnschichtanalyse verwendet.

Proben mit BGY-Fluoreszenz

Maiskörner mit BGY-Fluoreszenz wurden bei Mengen unter 1 g in einem Schliffröhrchen 3mal mit je 2 ml Methanol/Wasser 7 + 3 im Ultraschallbad extrahiert. Bei Mengen zwischen 1 und 9 g erfolgte die Extraktion 3mal mit je 10 ml Methanol/Wasser 7 + 3. Nach jeder Extraktion wurde die Suspension 1 min bei 4000 U/min zentrifugiert. Die vereinigten Überstände wurden mittels Einwegfiltern gereinigt. 40 g übersteigende Mengen wurden mit 140 ml Methanol/Wasser 7 + 3 während 3 min in einem Mixer homogenisiert.

Aufarbeitung

Verbindungen mit BGY-Fluoreszenz

Die Extraktionslösung wurde, direkt nach Filtration oder nach Verdünnung, zur Analyse mit HPLC eingesetzt.

Kojisäure

Von der Extraktionslösung bzw. Standardlösung (2 mg Kojisäure/l Methanol + Wasser 1 + 9, externer Standard) wurden 50 µl entnommen und bei 40 °C mit Stickstoff zur Trockne eingeengt. Je 50 µl Acetanhydrid und Pyridin wurden dem Trockenrückstand zugesetzt und Kojisäure während 30 min bei Raumtemperatur acetyliert. Die Reaktionslösung wurde bei 40 °C mit Stickstoff zur Trockne eingeengt und in 1 ml, in einigen Fällen in 0,1 ml mobiler Phase aufgenommen. Nachweisgrenze für Standard: 2 ng, dies bedeutet, dass die Nachweisgrenze in den Maispartikeln zwischen ca. 2 mg/kg und 3 g/kg lag.

Aflatoxine

Jeweils 1 ml Extraktlösung wurden nacheinander mit 4 ml und 2 ml Dichlormethan extrahiert und anschliessend bei 4000 U/min 1 min zentrifugiert. Die Dichlormethanphasen wurden abpipettiert, vereinigt und bei 40 °C und einem Druck von 11 Torr zur Trockne geblasen. Die Rückstände wurden in 200 µl Toluol/Acetonitril 98 + 2 aufgenommen und 25 µl dieser Lösung zur Dünnschichtanalyse verwendet. Bei hohen Konzentrationen wurden die Proben mit dem gleichen Lösungsmittelgemisch derart verdünnt, dass höchstens 5–10 ng Aflatoxin B₁ auf die Kieselgelschicht aufgetragen wurde. Nachweisgrenze für Aflatoxin B₁: 0,2 ng, d. h. dass in den Maispartikeln je nach Masse Konzentrationen zwischen ca. 20 µg/kg und 6 mg/kg erfasst wurden. Für die HPLC wurde ein Teil der für die Dünnschicht verwendeten Lösungen mit Stickstoff zur Trockne eingeengt und der Rückstand in 1 ml mobiler Phase aufgenommen. Die HPLC-Analyse wurde nur bei hohen Aflatoxin-B₁-Konzentrationen zur Überprüfung der Dünnschichtresultate durchgeführt, eine Nachweisgrenze wurde nicht bestimmt.

Analysenbedingungen

Aflatoxine

1. Dünnschicht (16)

50 µl bzw. 25 µl (bei Maismengen bis zu 9 g) Probenextrakt sowie 2,5 und 10 µl Standardlösung wurden in 12 cm Höhe auf eine 30 min bei 100 °C vorgetrocknete Alufolie aufgetragen. Die erste Entwicklung erfolgte in Diethylether mit den aufgetragenen Substanzen in 12 cm Entfernung vom Wannensboden. Ca. 1 cm oberhalb der Aflatoxine (in 13–14 cm Höhe der ersten Laufrichtung) wurde die Folie entzweigeschnitten und erneut in umgekehrter Fliessrichtung entwickelt. Die Zusammensetzung des Fliessmittels war: Chloroform/Aceton/Wasser (88 + 12 + 0,2). Beide Entwicklungen wurden ohne Kammersättigung durchgeführt. Die quantitative Auswertung erfolgte im Densitometer bei 365 nm Anregungswellenlänge (Kantenfilter durchlässig über 400 nm).

2. HPLC

Stationäre Phase: 150 x 4,6 mm id, S3 ODS2 (Spherisorb, Stahlkartusche)
Mobile Phase: Wasser/Methanol/Acetonitril 55 + 45 + 10
Derivatisierungslösung: 0,25 g Iod in 5 ml Methanol lösen und mit bidest. Wasser auf 250 ml verdünnen
Injektionsvolumen: 20 µl
Fluss: 0,5 ml/min (mobile Phase)
0,2 ml/min (Iodlösung)
Post column-Temperatur: 75 °C
Reaktionsschleife: 3,5 ml
Fluoreszenzdetektion: Anregungswellenlänge: 360 nm
Emission: 440 nm
Standards: Konzentrationen entsprechend 2,5 µg/kg Aflatoxin B₁ und 1,25 µg/kg Aflatoxin B₂ in mobiler Phase.
Die Standards blieben jeweils nur einige Tage stabil.

Kojisäure

1. HPLC

Stationäre Phase: 125 x 4 mm, Hypersil ODS, 5 µm
Mobile Phase: 10% Acetonitril in Wasser
Injektionsvolumen: 20 µl
Fluss: 1 ml/min
UV-Detektion: 250 nm

2. GC-MS

Gaschromatographie:
Kapillarsäule: 0,15 µm PS 255, 13 m/0,32 mm, Trägergas: Helium, 0,4 bar

Injektion:	Splitlos, 60 s, 250 °C
Ofentemperatur:	1 min, 40 °C isotherm. Programm: 15 °/min auf 120 °C, 10 °/min auf 180 °C
Massenspektrometrie:	EI: 70 eV, Elektronenstrom: 150 µA, Ionenquellentemperatur: 180 °C, Transferline: 250 °C. CI neg.: Methan als Reaktantgas, 70 eV, Elektronenstrom: 500 µA, Ionenquelle 200 °C, Transferline: 250 °C

Substanz mit BGY-Fluoreszenz

Stationäre Phase:	250 x 4 mm, Nucleosil 7 C2 mit Vorsäule (30 x 4 mm)
Mobile Phase:	20% Methanol in PIC A (0,005 M)
Injektionsvolumen:	20 µl
Fluss:	1 ml/min
Detektion:	Anregung: 367 nm, Emission: 501 nm, Sensitivity: 2, Time, Constant: 0,3 Da keine Standardsubstanz zur Verfügung stand, wurden alle Messungen mit derselben Detektoreinstellung durchgeführt. Der Gehalt wurde aufgrund des Schreibersignals als Flächeneinheit pro mg Mais berechnet. Diese Konzentrationsangabe ist daher als ein relativer Wert zu betrachten.

Resultate und Diskussion

Feldproben

Mais der Ernte 1986 aus Mühle 4 war mit 9–58 µg/kg Aflatoxin B₁ kontaminiert. Im Gegensatz dazu enthielten 33 Feldproben der darauffolgenden Ernte weder Körner mit BGY-Fluoreszenz noch waren Aflatoxine nachweisbar (Nachweisgrenze: 0,2 µg Aflatoxin B₁/kg). Dieses Resultat steht in Übereinstimmung mit anderen in gemässigten Klimazonen durchgeführten Untersuchungen (1, 2), in welchen keine Aflatoxinbildung auf wachsendem Mais nachgewiesen werden konnte. Diese Ergebnisse müssen nun aber nicht bedeuten, dass auf Feldmais in gemässigten Klimazonen keine Aflatoxinproduzenten vorkommen. *Öschlmüller* (2) gelang die Isolierung von *Aspergillus flavus*-Stämmen aus österreichischem Feldmais, welche zu einem grossen Teil die Fähigkeit zur Aflatoxinbildung besaßen. Die Abwesenheit von Aflatoxinen auf in dieser Untersuchung geprüfem Feldmais dürfte daher eher von ungünstigen Witterungsbedingungen für Wachstum und Aflatoxinprodukten abhängen, als von fehlenden *Aspergillus flavus*-Stämmen.

Proben aus Mühlen

Im Gegensatz zu den Feldmais-Untersuchungen konnten in einigen Proben aus Mühlen sowohl Körner mit BGY-Fluoreszenz als auch die Aflatoxine B₁ und B₂ nachgewiesen werden.

Die Grösse der erhobenen Proben, die gefundene Anzahl fluoreszierender Partikel und die entsprechenden mittleren Konzentrationen von Aflatoxin B₁ und Kojisäure auf diesen Körnern mit BGY-Fluoreszenz sind in Tabelle 1 aufgeführt. Das Verhältnis der gefundenen fluoreszierenden Partikel zu den übrigen Maiskör-

Tabelle 1. Erhobene Maismengen aus 4 Mühlen und mittlere Aflatoxin-B₁- bzw. Kojisäurekonzentrationen auf den aus diesen Proben entnommenen Maiskörnern mit BGY-Fluoreszenz

Ernte	Mühle	Probe	Gesamtmenge (kg)	Menge fluor. Partikel (g)	Afla. B ₁ in fluor. Partikeln (µg/kg)*	Kojis. in fluor. Partikeln (g/kg)*	
1987	1	1	22	0,46	nn	1,8	
		2	21,5	0,28	nn	2,9	
		3	22	0,11	nn	10,0	
	2	1	17,5	4,00	nn	7,4	
		2	20	2,58	117	5,0	
		3	17	2,20	nn	2,1	
	3	1	20	0,03	nn	10,0	
		2	20,2	0,13	nn	9,2	
		3	18	0,01	nn	20,0	
	4	1	23	9,17	2901	2,7	
		2	19	5,50	8093	4,9	
		3	21,5	5,47	1829	6,0	
		4	20,5	3,36	1220	4,2	
		5	18,8	2,31	458	6,1	
		6	18,5	3,43	108	3,2	
	1988	1	1	18,4	0,80	nn	0,5
			2	20	2,57	nn	1,2
		2	1	20	1,55	767	nn
3		1	20	56,28	527	2,4	
		2	20	51,91	40	1,7	
4		1	22,2	0,89	nn	nn	
		2	22,8	0,40	nn	nn	

* nn: nicht nachweisbar. Nachweisgrenzen für einz. Maiskörner: siehe Tabelle 3.

nern bewegte sich zwischen 1:36 000 (Ernte 1988, Mühle 4) und 1:300 (Ernte 1988, Mühle 3). Aflatoxin B₁ war bei 45% der Proben in den fluoreszierenden Partikeln nachzuweisen, teilweise im mg/kg-Bereich, Kojisäure hingegen in 86% der Proben in ca. 1000fach höheren Konzentrationen als Aflatoxin B₁.

Table 2. 8 Signale aus Massenspektren (EI und CI neg.) von acetylierter Kojisäure. Standard: derivatisierte Reinsubstanz, Probe: aus einem Maiskorn isolierte und acetylierte Kojisäure

EI				CI neg.			
Standard		Probe		Standard		Probe	
m/z	Int. (%)	m/z	Int. (%)	m/z	Int. (%)	m/z	Int. (%)
226	1,1	226	1,1	225	2,9	225	3,6
185	12,4	185	9,9	184	55,8	184	48,6
184	100	184	100	183	12	183	9,4
142	83,2	142	89,1	140	12,4	140	9,4
135	14	135	7	125	12,2	125	11,9
131	11	131	9,7	124	100	124	100
113	58,7	113	50	96	2,6	72	19,4
85	45,6	85	18,5	82	3,1	70	27,5

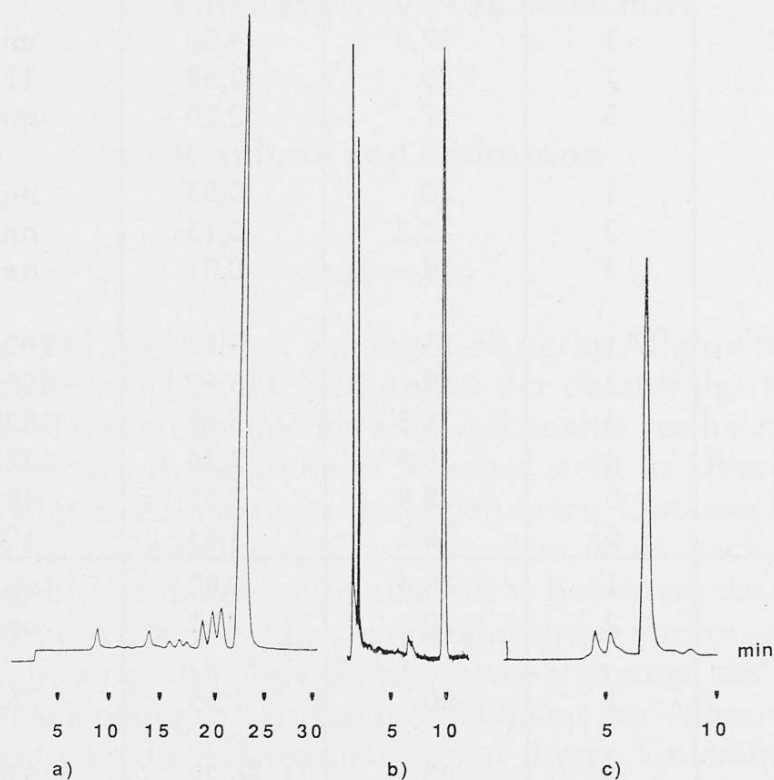


Abb. 1. HPLC-Chromatogramme von a) mit Iod derivatisiertem Aflatoxin B₁, b) acetylierter Kojisäure und c) der Verbindung mit BGY-Fluoreszenz. Chromatographische Bedingungen: vgl. unter Analysenbedingungen. Das untersuchte Maiskorn enthielt 1,6 mg/kg Aflatoxin B₁ und 10 g/kg Kojisäure.

HPLC-Chromatogramme von Aflatoxin B₁ und Kojisäure, die aus einem Maiskorn isoliert wurden, gibt Abbildung 1 wieder. In Tabelle 2 sind die neben den Molekülfractionen 7 höchsten Signale der Massenspektren von einer Probe und einem derivatisierten Kojisäure-Standard aufgeführt.

Einzel untersuchte Maiskörner

Ein Teil der fluoreszierenden Körner wurde einzeln untersucht. Eine Übersicht der Resultate gibt Tabelle 3. Wie ein Vergleich von Tabelle 1 und 3 zeigt, waren die Beziehungen zwischen Aflatoxin B₁ und Kojisäure auf den einzeln untersuchten Maiskörnern ähnlich wie jene über die Gesamtheit der BGY-Fluoreszenz aufweisenden Körner (Tabelle 1), was darauf hinweist, dass die Auswahl der einzeln untersuchten fluoreszierenden Maiskörner repräsentativ für die Gesamtheit war.

Tabelle 3. Einzel untersuchte Maiskörner mit BGY-Fluoreszenz aus verschiedenen Mühleproben. Die Zahlen der Kolonnen mit den Konzentrationsangaben für Kojisäure und Aflatoxin B₁ der Ernte 1988 entsprechen den minimalen und maximalen Konzentrationen

Ernte	Mühle	Probe	Anzahl anal. Körner	Anzahl Körner mit Afl. B ₁	% Körner mit Afl. B ₁	Afl. B ₁ -Konz. µg/kg*	Anzahl Körner mit Kojis.	% Körner mit Kojis.	Kojis. Konz. g/kg*	
1987	1	1	4	0	0	nn	2	50	nn-0,08	
		2	4	0	0	nn	3	75	nn-33,6	
		3	3	0	0	nn	3	100	3,0-37,4	
		Total	11	0	0	-	8	73		
	2	1	8	0	0	nn	7	88	nn-10,2	
		2	7	2	29	3300/50	7	100	1,2-22,2	
		3	3	0	0	nn	3	100	0,2-1,4	
		Total	18	2	11	nn	17	94		
	3	1	4	0	0	nn	3	75	nn-9,9	
		2	4	0	0	nn	3	75	nn-56,1	
		3	2	0	0	nn	2	100	11,1-33,1	
		Total	10	0	0	-	8	80		
	4	1	4	2	50	73000/2300	4	100	0,7-9,8	
		2	4	1	25	100	4	100	2,5-20,5	
		3	4	1	25	200	4	100	0,04-36,1	
		4	4	1	25	2000	4	100	2,0-22,1	
		5	4	1	25	400	4	100	0,9-19,1	
		6	4	1	25	500	4	100	0,8-10,1	
		Total	24	7	29		24	100		
	1988	3	1	40	22	55	nn-10070	40	100	0,1-32,3
			2	35	8	23	nn-1739	33	94	nn-24,6
			Total	75	30	40		73	97	

* nn: nicht nachweisbar. Nachweisgrenze je nach Partikelgewicht: für Aflatoxin B₁: ca. 20 µg/kg-6 mg/kg, für Kojisäure: ca. 2 mg/kg-3 g/kg

Die separat untersuchten Maiskörner mit BGY-Fluoreszenz aus den verschiedenen Proben der 4 Mühlen enthielten zu 0, 0, 11, 29 und 40% Aflatoxin B₁. In der entsprechenden Reihenfolge war Kojisäure zu 73, 80, 94, 97 und 100% in den einzelnen analysierten fluoreszierenden Maiskörnern vorhanden. Die höchste in einem Korn gemessene Aflatoxin-B₁-Konzentration war 73 mg/kg, ein Partikel enthielt 56 g/kg Kojisäure.

Die Beurteilung der BGY-Fluoreszenz von Auge hatte einige Unsicherheit bezüglich der Aussortierung bestehen lassen, weil nicht in allen aussortierten Partikeln Kojisäure nachgewiesen werden konnte. Nach Untersuchung der Proben

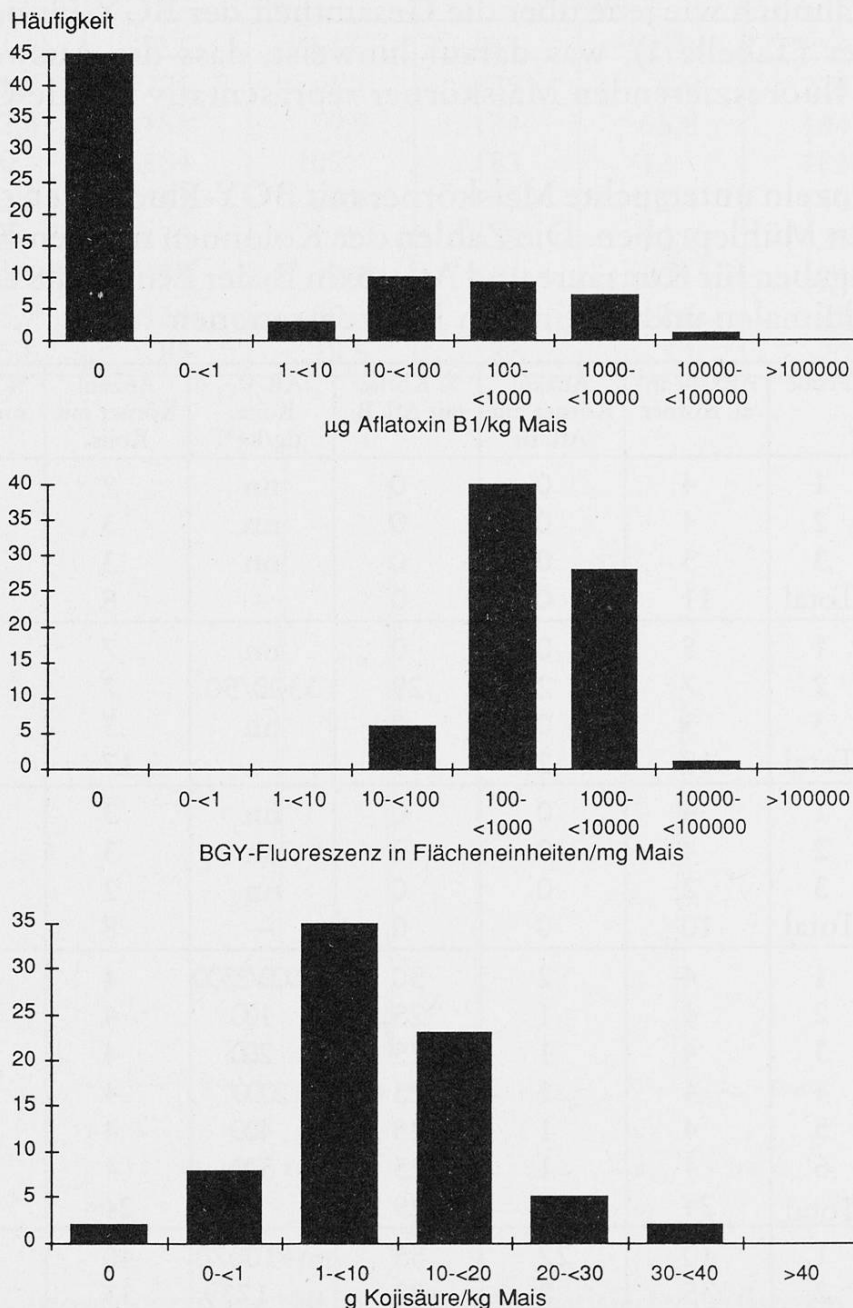


Abb. 2. Konzentrationsverteilung von Aflatoxin B₁ (oben), BGY-Fluoreszenz erzeugender Substanz (Mitte) und Kojisäure (unten) auf fluoreszierenden Maiskörnern der Ernte 1988, Mühle 3

der Ernte 1987 war daher eine Analysenmethode zur Bestimmung von BGY-Fluoreszenz ausgearbeitet worden, die ein objektiveres Kriterium zur Beurteilung bot, ob die Maiskörner nach demselben Merkmal ausgesucht worden waren. Die im Jahre 1989 aus denselben 4 Mühlen gezogenen Proben (Ernte 1988) konnten deshalb noch zusätzlich auf Fluoreszenz hin untersucht werden. In Abbildung 1 ist ein Chromatogramm der Substanz mit BGY-Fluoreszenz dargestellt.

Die Proben der Mühle 3, Ernte 1988, enthielten ca. 400 fluoreszierende Partikel. Es wurden insgesamt 75 Körner aussortiert und einzeln analysiert. Abbildung 2 gibt Verteilungsmuster für Aflatoxin B₁, BGY-Fluoreszenz und Kojisäure auf fluoreszierenden Partikeln wieder. Bei Kojisäure lagen die Konzentrationsbereiche innert einem Faktor von ca. 300, bei der Substanz mit BGY-Fluoreszenz innert einem Faktor von 700 und bei Aflatoxin B₁ war die niedrigste gefundene Konzentration ca. 5000mal kleiner als die höchste. In 61% der einzeln analysierten Maiskörner von Mühle 3, Ernte 1988, war kein Aflatoxin B₁ nachweisbar. Das mit HPLC bestimmte Signal für BGY-Fluoreszenz konnte in allen diesen Maiskörnern nachgewiesen werden, ein Hinweis dafür, dass sich die BGY-Fluoreszenz von Auge sicher zuordnen lässt.

Das Herauslesen von Maiskörnern nach BGY-Fluoreszenz erfasst nur z. T. mit Aflatoxin B₁ kontaminierte Partikel. Andererseits könnte es aber möglich sein, die

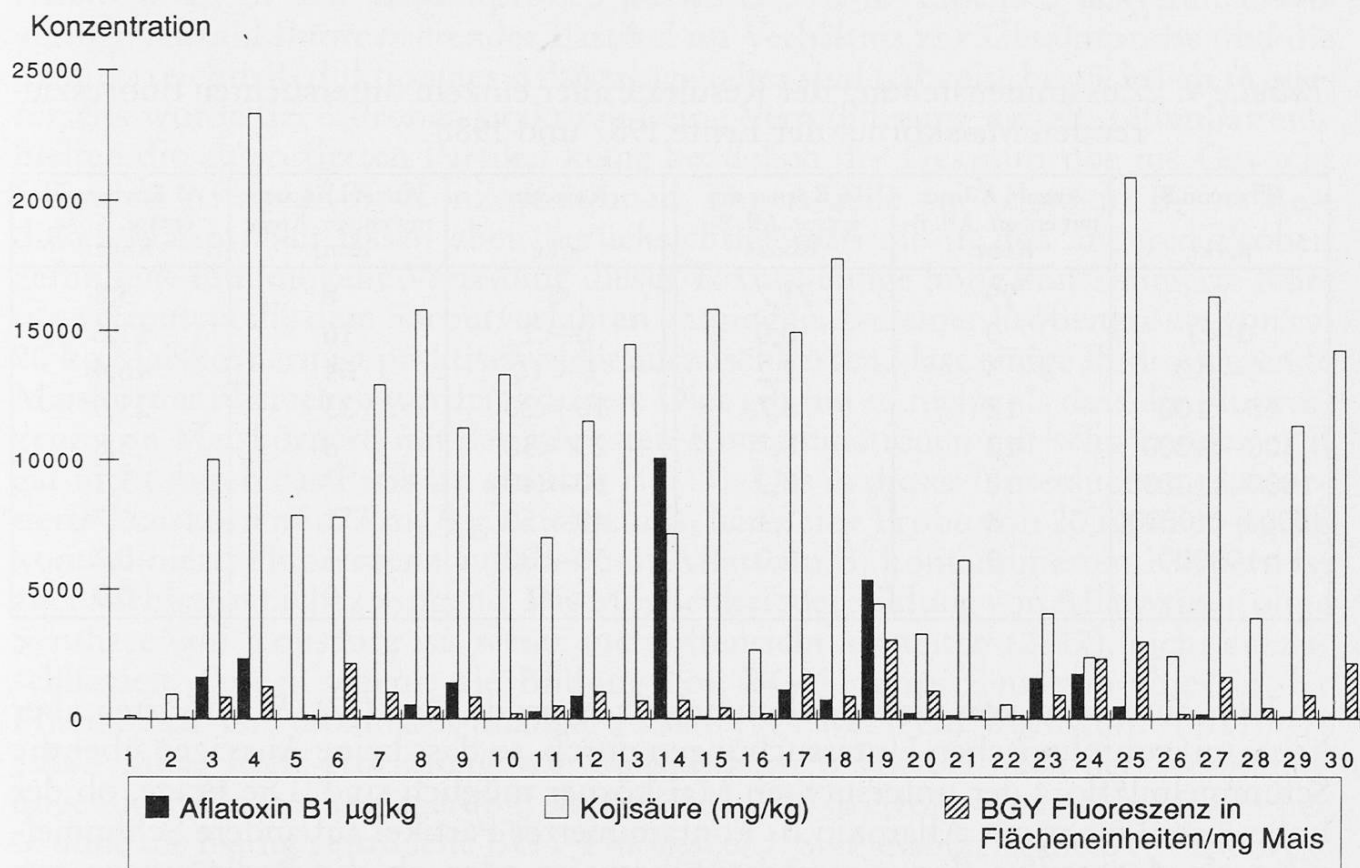


Abb. 3. Relativer Konzentrationsvergleich von Aflatoxin B₁, Substanz mit BGY-Fluoreszenz und Kojisäure auf fluoreszierenden Maiskörnern, die Aflatoxin B₁ enthielten (Mühle 3, Ernte 1988)

Intensität der Fluoreszenz zur Erkennung mit Aflatoxin B₁ oder Kojisäure hochkontaminierter Körner zu benützen. Aus Abbildung 3 wird deutlich, dass die Schwankungen der relativen Konzentration von Aflatoxin B₁, Kojisäure und der Verbindung, welche BGY-Fluoreszenz erzeugt, keinen Zusammenhang erkennen lassen. Besonders deutlich kommt dies beim Vergleich der Konzentrationen dieser drei Verbindungen bei Nummer 4, 14 und 24 in Abbildung 3 hervor. Bezüglich Aflatoxin B₁ deckt sich dieses Resultat mit den Beobachtungen von *Shotwell* (13).

In Tabelle 4 sind die Konzentrationsbereiche von Aflatoxin B₁ und Kojisäure aller untersuchten Körner mit BGY-Fluoreszenz der Ernten 1987 und 1988 aufgeführt. Ca. 72% der fluoreszierenden Körner enthielten kein Aflatoxin B₁, während nur in ca. 6% dieser Körner keine Kojisäure nachweisbar war. Da die Nachweisgrenze für Kojisäure je nach Partikelgewicht zwischen ca. 2 mg/kg und 3 g/kg lag, bedeutet der fehlende Nachweis von Kojisäure nicht zwangsläufig, dass diese Verbindung nicht in den Partikeln vorhanden war. Die Abwesenheit von Kojisäure in fluoreszierenden Partikeln ist jedenfalls nicht in Einklang mit der Hypothese, der Vorläufer der Substanz mit BGY-Fluoreszenz sei Kojisäure (14). Diese Hypothese wird andererseits durch die Beobachtung unterstützt, dass 94% der fluoreszierenden Körner diese beiden Verbindungen enthielten. Ein zufälliges Vorkommen der beiden Substanzen in dieser Grössenordnung ist doch eher unwahrscheinlich.

Tabelle 4. Zusammenstellung der Resultate aller einzeln untersuchten fluoreszierenden Maiskörner der Ernte 1987 und 1988

Aflatoxin B ₁ µg/kg	Anzahl Körner mit entspr. Afl. B ₁ Konz.	% Körner mit entspr. Afl. B ₁ Konz.	Kojisäure g/kg	Anzahl Körner mit entspr. Kojis. Konz.	% Körner mit entspr. Kojis. Konz.
0	99	71,7	0	8	5,8
0-<1	0	0,0	0-<1	16	11,6
1-<10	3	2,2	1-<10	64	46,4
10-<100	12	8,7	10-<20	33	23,9
100-<1000	12	8,7	20-<30	8	5,8
1000-<10000	10	7,2	30-<40	7	5,1
10000-<100000	2	1,4	40-<50	1	0,7
>100000	0	0,0	50-<60	1	0,7
			>60	0	0,0

Kojisäure wird von vielen Schimmelpilzen produziert (17). Wir führten aber keine mikrobiologischen Untersuchungen durch, so dass keine Aussagen über die Schimmelpilzflora der untersuchten Maiskörner möglich sind. Die Frage, ob der hohe Anteil nicht mit Aflatoxin B₁ kontaminierter Partikel auf andere Schimmelpilze als *Aspergillus flavus* zurückzuführen ist oder ob die Bedingungen zur Bildung von Kojisäure für Aflatoxinproduzenten geeignet, hingegen für die Aflatoxinsynthese ungünstig waren, kann somit nicht beantwortet werden. Eine hohe Syntheserate an Kojisäure bei gleichzeitiger geringer Aflatoxinproduktion ist bei

Kulturen von *Aspergillus flavus* aber möglich. *Schröppel und Müller* (18) konnten zeigen, dass Kulturen bei geringem Stickstoffgehalt im Substrat viel Kojisäure, hingegen erst zu einem späteren Zeitpunkt Aflatoxin B₁ bildeten.

In den mit Aflatoxin B₁ kontaminierten Partikeln wurden z. T. ähnlich hohe Konzentrationen an Aflatoxin B₁ nachgewiesen, wie schon an anderer Stelle (11, 13) beschrieben wurde. Die höchste Konzentration an Aflatoxin B₁ wurde in einem intakten Kern mit von innen her durchscheinender Fluoreszenz gefunden (72 mg/kg). Auch *Shotwell* fand die höchsten Aflatoxinkontaminationen in intakten Kernen (13). Der Keimling bietet günstige Bedingungen zum Wachstum und zur Toxinproduktion, so dass hauptsächlich in dessen Region BGY-Fluoreszenz und hohe Aflatoxinkonzentrationen auftreten (11). Kerne mit Fluoreszenz scheinen aber in ihrer Struktur geschädigt und brechen daher bei Beanspruchung leicht auseinander (11). Möglicherweise entgeht dabei ein Teil der mit Aflatoxinen kontaminierten Partikel der Aussortierung, so dass mit dem Herauslesen von fluoreszierenden Bruchstücken im allgemeinen geringere Aflatoxinkonzentrationen gefunden werden, als ursprünglich vorhanden waren.

Reduktion des Toxingehaltes durch Entfernung fluoreszierender Partikel

Wie sich die Aussortierung von fluoreszierenden Partikeln auf den Gehalt von Aflatoxin B₁ in den Gesamtproben auswirkte, ist in Tabelle 5 ausgeführt. Die geringe Anzahl fluoreszierender Partikel im Verhältnis zur Gesamtprobe und die damit erreichte Reduktion des Aflatoxingehaltes sind teilweise beträchtlich. Andererseits wurde bei 3 Proben praktisch keine Verminderung erzielt. Offenbar enthielten die aussortierten Partikel keine bezüglich der Gesamtprobe ins Gewicht fallenden Aflatoxin-B₁-Konzentrationen. Die Anteile an Aflatoxin B₁ im Rest dieser Maisproben lassen aber, berücksichtigt man die in den anderen Proben gefundene inhomogene Verteilung dieses Toxins, einige hohe kontaminierte Körner vermuten, die dem Sortierverfahren entgingen. Bei einer Probengröße von ca. 20 kg Maiskörnern ist praktisch nicht auszuschliessen, dass einige fluoreszierende Maiskörner übersehen werden können. Dies gilt um so mehr, als dass die Fluoreszenz von Maiskörnern mit den höchsten Kontaminationen nur schwer oder z. T. gar nicht durch das Perikarp sichtbar ist (13). Das in dieser Untersuchung aussortierte Maiskorn mit 73 mg/kg Aflatoxin B₁ hätte eine Probe von 20 kg mit 1 µg/kg kontaminiert. Fluoreszenz auf allen mit Aflatoxin B₁ kontaminierten Körnern ist aber auch sonst nicht zwingend. Die Möglichkeit der Bildung von Aflatoxinen ohne Synthese von Kojisäure ist, wenn auch offensichtlich selten (2, 17), nicht auszuschliessen. Ferner scheint die Bildung von BGY-Fluoreszenz von einer in der Pflanze aktiven Peroxidase abhängig zu sein (14). Wenn ein Wachstum von *Aspergillus flavus* nach Trocknung von Maiskörnern (z. B. bei nach der Trocknung ungenügender Trockenlagerung) stattfinden kann, so erfolgt eine Aflatoxinsynthese ohne die häufig gefundene BGY-Fluoreszenz. Schliesslich ist die BGY-Fluoreszenz aufweisende Substanz ziemlich lichtempfindlich, kann doch diese Fluoreszenz in einem Tag auf einem dem Licht ausgesetzten Maiskorn vollständig verschwinden. Wenn ein fluoreszierendes Maiskorn also nicht im Dunkeln gelagert wird, kann trotz hohen Aflatoxingehaltes die charakteristische Fluoreszenz fehlen.

Ob sich durch Entfernung von Partikeln mit Fluoreszenz aus Mais eine genügende Reduktion des Aflatoxingehaltes erreichen lässt, steht demnach nicht von vornherein fest. Eine Sortierung nach BGY-Fluoreszenz dürfte sich daher nur bei hohen Kontaminationen lohnen, wenn man vor der Entscheidung steht, eine Charge sonst vernichten zu müssen. Mit mahltechnischen Massnahmen wie Entfernung von Bruchstücken, Keimling und Schalentteilen gelingt eine Reduktion der Aflatoxinkontamination um ca. 90%. Ist die Aflatoxinkonzentration so hoch, dass mit dieser Massnahme keine genügende Verminderung der Aflatoxinmenge erreicht werden kann, so könnte ein Aufbrechen der Maiskörner mit anschliessender Sortierung nach Fluoreszenz die Möglichkeit bieten, den Mais doch noch für den menschlichen Verzehr verwenden zu können.

Die Entfernung von Kojisäure sollte mit denselben Massnahmen gelingen: obwohl Kojisäure in viel höheren Konzentrationen und auch häufiger als Aflatoxin B₁ vorkommt (vgl. z. B. Tabelle 4), scheint sie vorwiegend auf Bruchstücken lokalisiert zu sein und dürfte damit einem Reinigungsverfahren in einer Mühle kaum entgehen.

Tabelle 5. Durch Aussortieren von fluoreszierenden Partikeln erreichte Reduktion des Aflatoxingehaltes in Mühleproben

Ernte	Mühle	Probe	Menge g	Anzahl Körner	fluor. Partikel g	Anzahl fluor. Partikel*	Afl. B ₁ total** µg/kg	Afl. B ₁ aus. fluor. Part.** µg/kg	Afl. B ₁ in Rest*** µg/kg	Afl. B ₁ Reduktion %
1987	4	1	23000	73482	9,171	32	3,2	1,2	2,7	31
		2	19000	60703	5,504	20	3	2,3	0,7	77
		3	21500	68690	5,467	19	1,2	0,5	0,7	42
		4	20500	65495	3,36	13	0,6	0,2	0,4	33
		5	18800	60064	2,306	10	1,2	0,1	1,1	0
		6	18500	59105	3,426	13	0,7	0	0,7	0
1988	3	2	20000	63898	56,282	208	2,1	1,5	0,6	71
			20000	63898	51,909	188	2,1	0,1	2	5

* z. T. rechnerisch ermittelt; durchschnittl. Masse: 313 mg.

** berechnet auf die gesamte Probenahme.

*** nach Herauslesen der fluor. Partikel.

Probenahmegrösse

Entscheidend für die Beurteilung einer Probe ist die Anzahl hochkontaminierter Partikel. Wenn 1 mg/kg Aflatoxin B₁ (einmal unabhängig von der Masse der Partikel) als kritische Grösse betrachtet wird, so betrug deren Anteil in den untersuchten Proben ca. 10% der Partikel mit BGY-Fluoreszenz. Diese Grösse gilt für die etwas gründlicher untersuchten Proben der Mühle 3, Ernte 1988, wie auch für die Gesamtheit der analysierten Körner von allen Proben. In Mühle 3 wurden 40 kg Probe erhoben und darin waren 107 g fluoreszierende Körner enthalten. Von diesen 107 g wären nun nach obiger Annahme 10% hochkontaminiert. Dies würde

bedeuten, dass 0,3‰ der Körner eine Kontamination von 1 mg/kg und mehr aufwiesen.

Eine Probenahme von 3,3 kg hätte somit durchschnittlich ein hochkontaminierter Partikel enthalten. Um mit einiger Sicherheit solche Partikel zu erfassen, ist aber ein Mehrfaches dieser Probenmenge erforderlich. Unter diesem Gesichtspunkt scheint die von *Whitaker* (19) vorgeschlagene Probengröße von 4,54 kg knapp. Dabei ist allerdings zu berücksichtigen, dass die amerikanische Gesetzgebung 20 µg Aflatoxine pro kg Essmais zulässt (20), während bei uns 2 µg Aflatoxin B₁ pro/kg Essmais erlaubt sind.

Bei einer unbekannt Probe könnte aufgrund der fluoreszierenden Partikel mit obiger Annahme der Anteil hoch kontaminierter Körner abgeschätzt werden. Die Kontamination einer Charge hängt nun aber auch von der Verteilung der hohen Konzentrationen auf den verschiedenen Körnern ab. Diese ist im allgemeinen aber nicht bekannt, so dass die Angabe einer minimalen Probennahme zur sicheren Beurteilung einer Charge schwierig ist.

Aflatoxinbildung auf Mais in Mühlen

Die Ursachen für die Aflatoxinbildung auf Mais in den Mühlen 4 (Ernte 1986 und 1987) und 3 (Ernte 1988) sind nicht bekannt. Ein Hinweis ergibt sich aber aus der Tatsache, dass in Mühle 4 die Trocknungskapazität in den Jahren 1986 und 1987 nicht ausreichte, die anfallenden Maiskörner laufend zu trocknen, hingegen im Jahre 1988, in welchem keine Aflatoxine mehr auf Mais dieser Mühle nachgewiesen werden konnten. Ebenso musste in Mühle 3 der Mais vor der endgültigen Trocknung zwischengelagert werden. Möglicherweise bildeten sich während diesen Lagerzeiten Aflatoxine. Nach Untersuchungen von *Sauer* (10) kann eine zu lange Lagerung von ungetrocknetem Mais zu einer Aflatoxinkontamination von Erntematerial führen, eine rasche Trocknung hingegen die Bildung von Aflatoxinen weitgehend verhindern. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit für eine Kontamination vor Trocknung der Maiskörner ergibt sich aus folgender Überlegung: wenn tatsächlich eine Peroxidase für die Bildung einer BGY-Fluoreszenz erzeugenden Verbindung verantwortlich ist (14), muss Schimmelpilzwachstum und Toxinbildung zu einem Zeitpunkt stattgefunden haben, in welchem das Enzym aktiv war, und das kann nur vor Erhitzung der Maiskörner zur Herabsetzung des Wassergehaltes gewesen sein.

Aus den geringen Konzentrationen von Aflatoxin B₁ in den Gesamtproben der Ernte 1987 und 1988 (Tabelle 5) lässt sich andererseits herauslesen, dass keine Bedingungen herrschten, welche die Aflatoxinproduktion wesentlich gefördert hätten. Dass aber eine latente Möglichkeit zur Aflatoxinbildung auf Mais in Mühlen vorhanden ist, kommt aus dieser Untersuchung klar hervor.

Dank

Für die ausgezeichnete Mitarbeit danke ich Frau *K. Brunschweiler*, Frau *E. Leimbacher* und Frau *R. Schneider*. Ferner spreche ich Herrn *E. Wetzl* meinen Dank für die Konstruktion des Gerätes zur Homogenisierung von Maiskörnern aus.

Zusammenfassung

Futtermaisproben (Körner) der Ernten 1987 und 1988 aus dem Kanton Zürich wurden auf ihre Gehalte an Aflatoxin B₁ und Kojisäure untersucht. Dabei wurden Einzelkörner mit «BGY-Fluoreszenz» aussortiert und 138 davon einzeln analysiert. Von diesen Körnern enthielten 28% Aflatoxin B₁ und 94% Kojisäure. Die höchsten Konzentrationen waren 73 mg/kg Aflatoxin B₁ bzw. 56 g/kg Kojisäure. Die relativen Konzentrationsverhältnisse der Substanz mit «BGY-Fluoreszenz», Aflatoxin B₁ und Kojisäure auf den Maiskörnern liessen keinen Zusammenhang erkennen. Durch die Entfernung von fluoreszierenden Maiskörnern aus Maisproben wurden die Aflatoxingehalte nicht einheitlich reduziert, die Werte schwankten zwischen 0 und 77%.

Eine Bildung von Aflatoxin B₁ auf wachsendem Mais konnte nicht nachgewiesen werden. Hingegen wurde in einigen Mühlen mit Aflatoxin B₁ kontaminierter Mais derselben Ernte gefunden. Mit grosser Wahrscheinlichkeit ist die Bildung von Aflatoxin B₁ und Kojisäure auf Maiskörnern in diesen Mühlen auf eine Zwischenlagerung der gernteten Ware vor der endgültigen Trocknung zurückzuführen.

Résumé

Des échantillons de maïs grain, utilisé comme aliment pour animaux et récoltes en 1987 et 1988 dans le canton de Zurich ont été analysés pour déterminer l'aflatoxine B₁ et l'acide kojique. Des grains avec «BGY-fluorescence» ont été séparés des échantillons et 138 ont été analysés individuellement. En 28% de ces grains, l'aflatoxine B₁ a été trouvée et l'acide kojique en 94%. Les concentrations les plus élevées étaient de 73 mg/kg d'aflatoxine B₁ et 56 g/kg d'acide kojique. Les concentrations relatives de la substance avec «BGY-fluorescence», de l'aflatoxine B₁ et de l'acide kojique n'ont montré aucune corrélation. En enlevant les grains montrant «BGY-fluorescence», la teneur en aflatoxine B₁ n'a pas été réduite régulièrement, la réduction a variée entre 0 et 77%.

Avant la récolte, l'aflatoxine B₁ n'a pas été trouvée dans le maïs. Dans quelques moulins par contre, le maïs de la même récolte a été contaminé. Il est certain que la production de l'aflatoxine B₁ et l'acide kojique sur les grains de maïs dans ces moulins peut être attribuée au stockage du produit récolté avant d'être séché.

Summary

From the 1987 and 1988 crops, samples of maize kernels (fodder) from the area of Zurich were analyzed according to their aflatoxin B₁ and kojic acid content. Kernels with «BGY-fluorescence» were sorted out and 138 of these were analyzed individually. Among these kernels 28% were contaminated with aflatoxin B₁ and 94% contained kojic acid. The highest concentrations were 73 mg/kg aflatoxin B₁ and 56 g/kg kojic acid respectively. The relative concentrations of the substance with «BGY-fluorescence», aflatoxin B₁ and kojic acid did not show any correlation. The sorting out of «BGY-fluorescent» kernels did not reduce the aflatoxin B₁ content consistently, the values differed between 0 and 77%.

Aflatoxin B₁ in corn did not occur before harvest, but in some mills corn of the same harvest was contaminated with that substance. With high probability the production of

aflatoxin B₁ and kojic acid on the kernels in these mills is attributable to the storage of the harvested products before final drying.

Literatur

1. *Reiss, J.*: Mykotoxine in Lebensmitteln, S. 343 ff. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York 1981.
2. *Oeschmüller, R.*: Toxinogene *Aspergillus flavus* und *Aspergillus parasiticus*-Stämme auf Mais und Getreide in Österreich. Dissertation, Technische Universität Wien (1987).
3. *Anderson, H. W., Nebring, E. W. and Wichser, W. R.*: Aflatoxin contamination of corn in the field. *J. Agric. Food Chem.* **23**, 775–782 (1975).
4. *Lillehoj, E. B.*: Effect of environmental and cultural factors on aflatoxin contamination of developing corn kernels. In: Diener, U. L., Asquith, R. L. and Dickens, J. W. (eds), *Aflatoxin and Aspergillus flavus in corn*. Southern cooperative Series Bulletin **279**, 27–34 (eds) (1982).
5. *Marsh, F. S. and Payne, G. A.*: Scanning EM studies on the colonization of dent corn by *Aspergillus flavus*. *Phytopathology* **74**, 557–561 (1984).
6. *Marsh, F. S. and Payne, G. A.*: Preharvest infection of corn silks and kernels by *Aspergillus flavus*. *Phytopathology* **74**, 1284–1289 (1984).
7. *Lillehoj, E. B., Wall, J. H. and Bowers, E. J.*: Preharvest aflatoxin contamination: Effect of moisture and substrat variation in developing cottonseed and corn kernels. *Appl. Environm. Microbiol.* **53**, 584–586 (1987).
8. *Payne, G. A.*: *Aspergillus flavus* infection of maize: silks and kernels. In: Zuber, M. S., Lillehoj, E. B. and Renfro, B. L. (eds), *Aflatoxin in maize: a proceedings of the workshop*. CIMMIYT, Mexico. D. F. 119–129 (1987).
9. *Fortnum, B. A.*: Effect of environment on aflatoxin development, in preharvest maize. In: Zuber, M. S., Lillehoj, E. B. and Renfro, B. L. (eds). *Aflatoxin in maize: a proceedings of the workshop*. CIMMIYT, Mexico. D. F. 145–151 (1987).
10. *Sauer, D. B.*: Conditions that affect growth of *Aspergillus* and production of aflatoxin in stored maize. In: Zuber, M. S., Lillehoj, E. B. and Renfro, B. L. (eds), *Aflatoxin in maize: a proceedings of the workshop*. CIMMIYT, Mexico. D. F. S. 41–50 (1987).
11. *Shotwell, O. L.*: Aflatoxin contamination: Association with foreign material and characteristic fluorescence in damaged corn kernels. *Cereal Chem.* **49**, 458–465 (1972).
12. *Fennell, D. I., Bothast, R. J., Lillehoj, E. B. and Peterson, R. E.*: Bright greenish-yellow fluorescence and associated fungi in white corn naturally contaminated with aflatoxin. *Cereal Chem.* **50**, 404–415 (1973).
13. *Shotwell, O. L., Goulden, M. L. and Hesseltine, C. W.*: Aflatoxin: Distribution in contaminated corn. *Cereal Chem.* **51**, 492–499 (1974).
14. *Marsh, P. B., Simpson, M. E., Ferretti, R. J., Merola, G. V. Donoso, J., Craig, G. O., Trucksess, M. W. and Work, P. S.*: Mechanism of formation of a fluorescence in cotton fiber associated with aflatoxins in the seeds at harvest. *J. Agric. Food Chem.* **17**, 468–472 (1969).
15. *Reiss, J.*: Mykotoxine in Lebensmitteln, S. 21 ff. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York 1981.
16. Arbeitsgruppe «Toxine» 2 der Eidgenössischen Lebensmittelbuchkommission: Bestimmung der Aflatoxine B₁, B₂, G₁ und G₂. *Mitt. Lebensm. Hyg.* **73**, 362–367 (1982).
17. *Parrish, F. W., Wiley, B. J., Simmons, E. G. and Long, L. Jr.*: Production of aflatoxins and kojic acid by species of *Aspergillus* and *Penicillium*. *Appl. Microbiol.* **14**, 139 (1966).

18. *Schröppel, E. und Müller, H. M.*: Landw. Forsch. (Kongressband), Sonderheft 35, 570–584 (1978).
19. *Whitaker, T. B. and Dickens, J. W.*: Variability associated with testing corn for aflatoxin. J. Am. Oil Chem. Soc. **56**, 789–794 (1979).
20. *Van Egmond, H. P.*: Current situation on regulations for mycotoxins. Overview of tolerances and status of standard methods of sampling and analysis. Food Add. Contam. **6**, 139–188 (1989).

Dr. R. Battaglia
Migros-Genossenschaftsbund
Zentrallabor
Postfach 266
CH-8031 Zürich

Dr. W. Steiner
B. Pacciarelli
Kantonales Laboratorium
Postfach
CH-8030 Zürich