

# Vorkommen von Fumonisin in Lebensmitteln = Occurrence of fumonisins in foods

Autor(en): **Zoller, Otmar / Sager, Fritz / Zimmerli, Bernhard**

Objekttyp: **Article**

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

Band (Jahr): **85 (1994)**

Heft 1

PDF erstellt am: **23.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982749>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Otmar Zoller, Fritz Sager und Bernhard Zimmerli, Bundesamt für Gesundheitswesen, Sektion Lebensmittelchemie, Bern

## Vorkommen von Fumonisinen in Lebensmitteln

### Occurrence of Fumonisins in Foods

*Key words:* Fumonisin, *Fusarium moniliforme*, Mycotoxins, Risk assessment

### Einleitung

Fumonisine sind eine Gruppe von Mykotoxinen, welche vom Pilz *Fusarium moniliforme* Sheldon gebildet werden. Sie kommen vor allem in Mais vor. Auch *Fusarium proliferatum* bildet Fumonisine (1, 2). Bisher sind 6 verschiedene Fumonisine beschrieben. Ihre Strukturen sind in Abbildung 1 dargestellt (Abkürzung: FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub>, FB<sub>3</sub>, FB<sub>4</sub>, FA<sub>1</sub>, FA<sub>2</sub>). FA<sub>1</sub> und FA<sub>2</sub> entsprechen FB<sub>1</sub> und FB<sub>2</sub>, sind jedoch an der Aminogruppe acetyliert. Am wichtigsten ist das Fumonisin B<sub>1</sub>, dessen

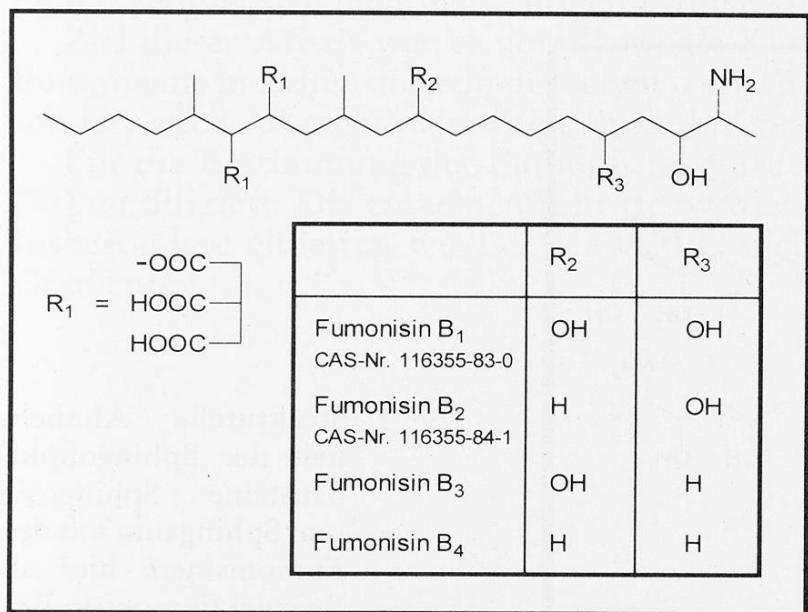


Abb. 1. Struktur der Fumonisine

Struktur erstmals 1988 beschrieben wurde (3, 4). Substanzen mit sehr ähnlicher chemischer Struktur wurden schon früher im Pilz *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* beschrieben (5, 6). *Mirocha* et al. zeigten, dass die Toxizität dieser Substanzen auf Zellkulturen mit der Wirkung der Fumonisine vergleichbar ist (7). Der Pilz kann eine Erkrankung des Stengels bei Tomaten verursachen. Inzwischen konnte in Kulturlösungen von *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* auch FB<sub>1</sub> nachgewiesen werden (8).

In den USA und auch in Südafrika werden einige Vergiftungsfälle bei Tieren den Fumonisinen zugeschrieben. Beim Pferd können Fumonisine vermutlich ab ca. 20 µg/g im Futter, entsprechend ca. 0,4 mg/kg KG/Tag (KG = Körpergewicht), die sogenannte Leukoencephalomalazie (ELEM, equine leukoencephalo malacia), eine Nekrose der weissen Hirnmasse, hervorrufen. Als erstes Symptom zeigen die betroffenen Pferde ein ungewöhnliches Verhalten. Ihr Zustand verschlechtert sich zusehends innerhalb einiger Monate. Bei höheren Dosen endet die Krankheit innerhalb einiger Wochen tödlich (9–15). Bei Schweinen verursachen Fumonisine vermutlich ab ca. 100 µg/g im Futter, entsprechend ca. 4 mg/kg KG/Tag, die Entstehung eines Lungenödems (PPE, porcine pulmonary edema syndrome). Bei genügend hohen Dosen tritt das Lungenödem schon nach wenigen Tagen auf und führt rasch zum Tod der Tiere. Tiefere Dosen führen vermutlich zu einer langsam fortschreitenden Schädigung der Leber, die nur bei gezielter Suche nach der Sektion bemerkt wird (11, 12, 14, 16–18).

In der Transkei wurde die Aufnahme von Fumonisinen via Mais beim Menschen auf 0,01–0,4 mg/kg KG/Tag geschätzt und mit einem erhöhten Auftreten von Oesophaguskrebs in Zusammenhang gebracht (10, 25, 26).

Es wurde gezeigt, dass die Fumonisine in den Sphingolipidstoffwechsel eingreifen. Sphingolipide sind Bestandteile von Zellmembranen und spielen eine Rolle bei der Zell-Zell-Kommunikation und der Zelldifferenzierung. Sphingosin ist ein potenter Hemmer der Proteinkinase C. Diese wiederum hat grossen Einfluss auf

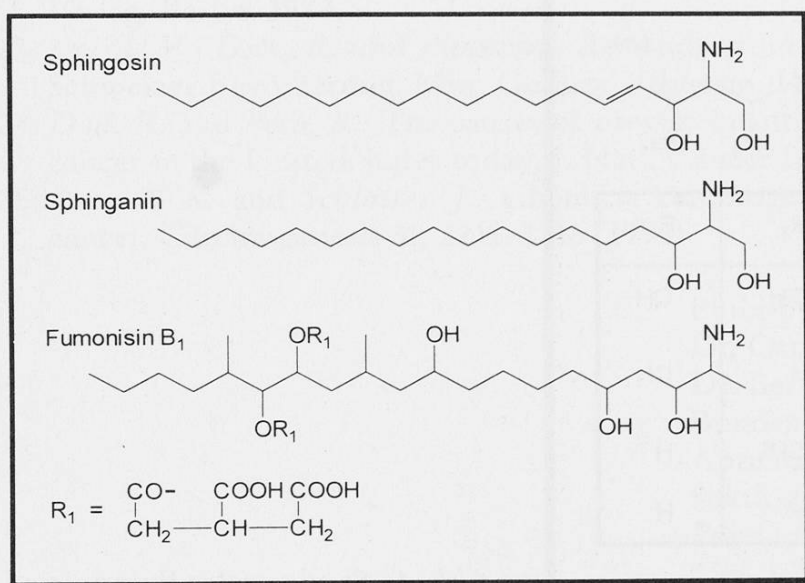


Abb. 2. Strukturelle Ähnlichkeit der Sphingolipidbausteine Sphingosin und Sphinganin mit den Fumonisinen; hier als Beispiel Fumonisin B<sub>1</sub>

die Regulation der Zellproliferation (19–23). Abbildung 2 zeigt die strukturelle Ähnlichkeit von Sphingalin und Sphingosin mit den Fumonisin.

FB<sub>1</sub> und FB<sub>2</sub> sind nicht mutagen im Ames-Test (24, 28). In einer Langzeitstudie mit Ratten erwies sich FB<sub>1</sub> als kanzerogen (50 mg/kg im Futter = ca. 2,5 mg/kg KG/Tag): 10 von 15 Ratten entwickelten primäre hepatozelluläre Karzinome, gleichzeitig wiesen aber alle Tiere eine Leberzirrhose auf (27). Die IARC beurteilt FB<sub>1</sub> und FB<sub>2</sub> im Moment folgendermassen: «limited evidence» für die Kanzerogenität von FB<sub>1</sub> in Versuchstieren und «inadequate evidence» für die Kanzerogenität von FB<sub>2</sub> in Versuchstieren (28).

Für die Analyse von Fumonisin wurden verschiedene Methoden verwendet: Dünnschichtchromatografie (9, 15, 29, 30), FAB-MS (31), HPLC mit UV-Detektion nach Derivatisierung mit Maleinsäureanhydrid (6, 9, 29), GC-FID und GC-MS für den Nachweis der Propantricarbonsäure nach Hydrolyse der Fumonisin und anschliessender Veresterung mit Isobutanol (25, 29), GC-MS für den Nachweis des Pentolamingrundgerüsts nach Hydrolyse der Fumonisin und anschliessender Derivatisierung mit Trifluoressigsäure (15) und HPLC mit Fluoreszenzdetektion nach Derivatisierung der Fumonisin. Weitaus am häufigsten wurde HPLC mit Fluoreszenzdetektion angewendet. Dabei wurde die Aminogruppe der Fumonisin mit fluoreszierenden Gruppen derivatisiert. Als Derivatisierungsreagenzien wurden o-Phthaldialdehyd (OPA) (13, 25, 30, 32–37), Naphthalin-2,3-dicarbaldehyd (NDA) (38), 4-Fluor-7-nitrobenzofurazan (NBD-F) (39), Fluorescamin (15, 29, 31) und (9-Fluorenylmethyl)-chlorformiat (FMOC) (40) verwendet. Für die Untersuchung einer grösseren Anzahl von Proben wurde meist die Derivatisierung mit OPA verwendet. Mit dieser Methode wurde auch ein Ringversuch durchgeführt (33).

Wurden ursprünglich vor allem Tierfutter auf Fumonisin untersucht, berichten neuere Arbeiten auch über deren Vorkommen in maishaltigen Lebensmitteln (35, 36). Einen ersten Überblick über das Vorkommen in maishaltigen Lebensmitteln in der Schweiz gibt die Arbeit von *Pittet et al.* (30). Bisher wurde über die Untersuchung von nichtmaishaltigen Proben auf Fumonisin nicht berichtet.

Ziel dieser Arbeit war es vor allem, die Kenntnisse über das Vorkommen der Fumonisin in Lebensmitteln des schweizerischen Marktes zu vertiefen und insbesondere auch auf nichtmaishaltige Produkte auszudehnen.

Für die Bestimmung der Fumonisin wurde die Methode von *Shephard et al.* (32) modifiziert. Die einzelnen Schritte wurden für unsere Bedürfnisse optimiert. Insbesondere eluierten wir bei der HPLC nicht isokratisch, sondern mit einem Gradienten.



## Material und Methoden

### *Probenerhebung*

#### *Proben aus der Schweiz*

Von den 113 untersuchten Proben stammen 104 aus dem Lebensmitteldetailhandel. Sie wurden im Jahre 1993 bei Filialen der Grossverteiler und bei anderen Detaillisten gekauft. 3 Proben Maiskörner (Futter) aus schweizerischem Anbau erhielten wir freundlicherweise von der Landwirtschaftlichen Forschungsanstalt Changins. 2 Proben Maiskörner (Futter) aus schweizerischem Anbau kamen uns von Futtermühlen und 2 Proben Futterwürfel aus Mais (ganze Pflanze, schweizerischer Anbau) direkt von Bauern zu. 2 Proben Maiskörner wurden von einem Betrieb der Lebensmittelindustrie erhalten.

#### *Proben aus Ecuador*

11 Proben Maisgriess aus verschiedenen Quellen wurden uns von M. Mühlemann (Latinreco, Ecuador) zur Verfügung gestellt.

### *Apparate*

Zentrifugalmühle mit Sieb 0,25 mm, Retsch Typ ZM1  
Polytron Mixer, Kinematika

### *Chemikalien, Verbrauchsmaterial*

Sämtliche Chemikalien wurden ohne weitere Reinigung verwendet.

SAX-Säulen (Anionenaustauschersäulen): Bond Elut LRC SAX, Varian sample preparation products 1211-3043

Fumonisin B<sub>1</sub> und B<sub>2</sub>, CSIR, Division of Food Science and Technology, Pretoria, South Africa

Wasser: gereinigt mit ROpure ST (Umkehrosiose) und NANOpure (Ionenaustauscher, Aktivkohle, Mikrofiltration), Barnstead

Acetonitril, Nanograde, Mallinckrodt

Essigsäure 100%, Merck Art. 63

2-Mercaptoethanol, Merck Art. 15433

Methanol, Merck Art. 6007

Natriumhydroxid, Fluka 71690

di-Natriumhydrogenphosphat-2-hydrat, Merck Art. 6580

di-Natriumtetraborat, Merck Art. 6309

Phosphorsäure 85%, Merck Art. 573

Phthaldialdehyd (OPA), Merck Art. 15433

1-Propanol, Merck Art. 997  
Salzsäure 37%, Merck Art. 317

*Boratpuffer pH 10,4:* 0,1 mol/l di-Natriumtetraborat, pH mit Natronlauge eingestellt

*OPA-Stammlösung:* 40 mg/ml OPA in Methanol (vor Licht geschützt, 1–2 Monate haltbar)

*Phosphatpuffer pH 3,35:* 0,1 mol/l di-Natriumhydrogenphosphat, pH mit Phosphorsäure eingestellt

*FB<sub>1</sub> Stammlösung:* 1,00 mg FB<sub>1</sub> wird in 10 ml Acetonitril/Wasser 1 + 1 (v/v) gelöst

*FB<sub>2</sub> Stammlösung:* 1,00 mg FB<sub>2</sub> wird in 10 ml Acetonitril/Wasser 1 + 1 (v/v) gelöst

*FB<sub>1</sub> und FB<sub>2</sub> Standardlösungen:* die Stammlösungen werden mit Acetonitril/Wasser 1 + 1 (v/v) auf die gewünschte Konzentration verdünnt

*OPA-Reagenz:* OPA-Stammlösung 1 ml  
Boratpuffer pH 10,4 5 ml  
2-Mercaptoethanol 0,05 ml  
(vor Licht geschützt 1–2 Tage haltbar)

*Extraktionslösung:* Methanol/Salzsäurelösung 0,1 mol/l 3 + 1 (v/v)

*Waschlösung:* Methanol/Wasser 3+1 (v/v); «pH»<sup>1</sup> der fertigen Lösung mit Salzsäure auf 5,8 gestellt

*Elutionslösung:* Methanol mit 1% Essigsäure

## HPLC

*Pumpe:* Merck-Hitachi L6200; ternärer Niederdruckgradient (Totvolumen von Proportional-Ventil bis Säulenbeginn = ca. 2 ml)

*Säule:* 125 x 4 mm mit Vorsäule 8 x 4 mm, beide gefüllt mit Nucleosil C18 5 µm, Stahlkartuschen (Macherey-Nagel)

*Injektor:* Rheodyne 7725i mit 125 µl Loop, Dosierung mit Mikroliterspritze

*Detektor:* Fluoreszenzdetektor Merck-Hitachi F1050 mit 12 µl Zelle;  
λ<sub>EX</sub> 335 nm; λ<sub>EM</sub> 440 nm

*Integrator:* Merck-Hitachi D2000

*Eluenten:* A = Methanol/Phosphatpuffer pH 3,35 1 + 1 (v/v)  
B = Methanol  
C = 1-Propanol

Alle Eluenten filtriert durch Filter mit 0,45 µm Porengröße.

*Fluss:* 2 ml/min

Gradientenprogramm bei 23 °C (linearer Gradient zwischen den Datenpunkten):

Zeit (min)	% A	% B	% C
0	76	21	3
6	63	34	3
16	53	44	3
23	46	51	3

anschliessend sofort auf Zustand bei Start, 5 min äquilibrieren

## Extraktion und Extraktreinigung

Mindestens 60 g Probe werden in der Zentrifugalmühle zu Mehl gemahlen (ausgenommen Süßmais, Snacks und flüssige Proben). 15 g Probe werden mit 30 ml Extraktionslösung in einem 70-ml-Zentrifugenglas mit dem Mixer während 3 min homogenisiert. Anschliessend wird 10 min bei ca. 2000 g zentrifugiert. Der Überstand wird mit Natronlauge 0,25 mol/l auf «pH»<sup>1</sup> 5,8 bis 6,5 eingestellt und über Nacht im Kühlschrank gelagert. Es bildet sich ein weisses Sediment, das nicht weiter verwendet wird (enthält kein Fumonisin). (Es kann auch direkt weitergearbeitet werden, wenn die Lösung zusätzlich durch ein Papierfilter filtriert wird. Die Lösung wird jedoch in der Regel nicht so klar wie beim Stehenlassen.) Vom Überstand werden 5–15 ml (5 ml entsprechen 2,5 g Probe) auf eine konditionierte SAX-Säule gegeben (Konditionierung: zuerst 8 ml Methanol, dann 8 ml Waschlösung durchsaugen). Flüssige Proben werden direkt auf die SAX-Säule gegeben. (Die Lösung, die auf die SAX-Säule gegeben wird, darf nicht mehr als 0,1 mol/l Salz enthalten. Sie muss gegebenenfalls verdünnt werden. Siehe auch Diskussion.) Es wird mit 8 ml Waschlösung und anschliessend mit 5 ml Methanol gespült. Nachher wird mit 10 ml Elutionslösung bei einem Fluss von ca. 1 ml/min eluiert. Das Eluat wird bei 65 °C unter Stickstoff zur Trockne eingengt. Der Rückstand wird mit 1–2 ml Methanol in ein 2-ml-Vial transferiert und dort unter Stickstoff bei derselben Temperatur zur Trockne gebracht. Der Rückstand wird in 250 µl Methanol/Boratpuffer pH 10,4 1 + 1 (v/v) gelöst. (Für eine Lagerung von 1–2 Wochen wird der Rückstand in 250 µl Methanol gelöst und erst vor der Derivatisierung mit 250 µl Puffer versetzt.) 50 µl der Lösung (entsprechend 0,5–1,5 g Probe) werden mit 450 µl OPA-Reagenz gemischt. Nach genau 1 min (bei 23 °C) werden 15–50 µl (entsprechend 15–150 mg Probe) davon injiziert. Die Quantifizierung erfolgt mit Hilfe der Peakflächen. Es wird extern kalibriert.

## Resultate und Diskussion

### Analytik

Verschiedene Parameter, welche die *Extraktion* und die Aufarbeitung beeinflussen können, wurden eingehend untersucht. Bisher extrahierten die meisten Autoren ihre Proben mit Methanol/Wasser 3 + 1 (13, 29, 30, 32–36, 39) oder Acetonitril/Wasser 1 + 1 (15, 31, 37). In dieser Arbeit wurden die relativen Extraktionsausbeuten an einer natürlich kontaminierten Probe (FB<sub>1</sub> etwa 2000 ng/g, FB<sub>2</sub> etwa 600 ng/g) mit vier unterschiedlichen Extraktionsmitteln bestimmt: Methanol/Salzsäure 0,1 mol/l 3 + 1 (v/v) (sauer), Methanol/Wasser 3 + 1 (v/v) (neutral), Methanol/Natronlauge 0,1 mol/l 3 + 1 (v/v) (alkalisch) und Acetonitril/Wasser 1 + 1 (v/v)

<sup>1</sup> «pH» = pH-Messung in nicht rein wässrigem Medium (pH-Meter normal kalibriert).



(neutral). Bei saurer methanolischer Extraktion wurden 60% mehr Fumonisine gefunden als bei Extraktion mit neutraler oder alkalischer methanolischer Lösung. Im Vergleich zur Extraktion mit Acetonitril/Wasser ergab die saure methanolische Extraktion etwa 30% höhere Werte. Die Dauer des Dispergierens wurde ebenfalls variiert: 5 min Homogenisieren brachte keine Verbesserung gegenüber 3 min. Eine mehrfache Extraktion brachte keine Vorteile gegenüber einer einfachen Extraktion.

Der Einfluss von Öl oder Fett wurde auch untersucht. Es wurde kein nachteiliger Einfluss beobachtet. Nach Zugabe von 6% Maiskeimöl zu einer Probe wurde diese nochmals analysiert. Es wurde dasselbe Resultat erhalten wie ohne Ölzugabe. Die Wiederfindung aus Öl war vergleichbar mit derjenigen aus anderen Proben (Zusatzversuch mit Maiskeimöl). Bei sehr fettigen Chips kann es vorkommen, dass sich nach der Extraktion eine Fettphase abscheidet. Diese muss nicht weiter verwendet werden, da sie konzentrationsmässig höchstens gleich viel oder weniger Fumonisine enthält wie die Methanol-Wasser-Phase. Hingegen ist es wichtig, auf den Salzgehalt der Probe zu achten. Es dürfen nur Lösungen mit einem kleineren Salzgehalt als ca. 0,1 mol/l auf die SAX-Säule aufgetragen werden, da sonst die Fumonisine nicht genügend zurückgehalten werden. Im Zweifelsfalle sind die Lösungen also zu verdünnen. Von verdünnten Lösungen können durchaus 25 ml oder sogar 100 ml auf die SAX-Säule gegeben werden.

Die *Derivatisierung* mit OPA ist sehr selektiv und gibt einen sehr sauberen Reagenzienblindwert im Bereich, wo die Fumonisine eluieren (siehe Abbildung 3). Das höchste Signal erhält man nach 1 bis 2 Minuten Reaktionszeit. Bei den beschriebenen Bedingungen wurde kein Unterschied zwischen 1 und 2 Minuten festgestellt und deshalb nach 1 Minute injiziert. Die Unstabilität der OPA-Derivate ist eigentlich nur dann ein gravierender Nachteil, wenn ein einfacher Autosampler benützt werden soll. Bei manueller Einspritzung ist die Derivatisierung kein Problem, und mit einem modernen Autosampler lässt sich auch die Derivatisierung automatisieren.

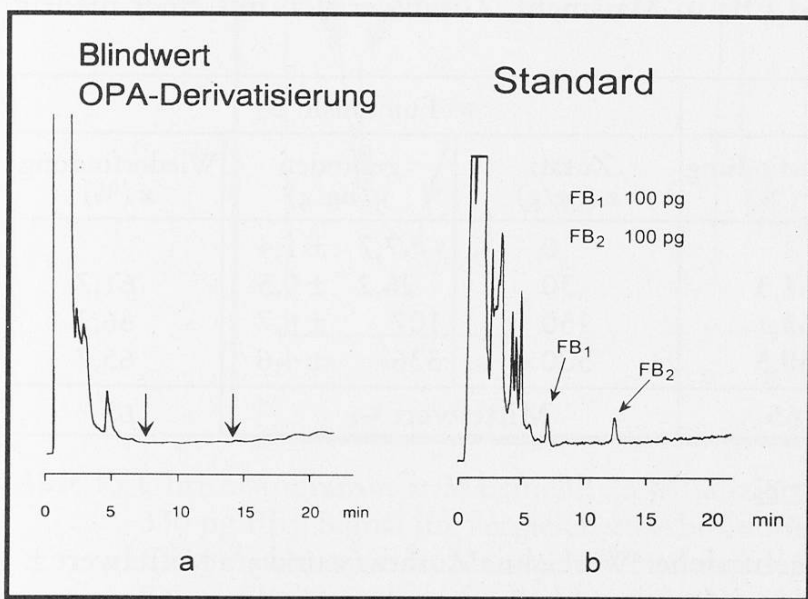


Abb. 3. Chromatogramm a: Blindwert der Derivatisierung; 25 µl injiziert. Chromatogramm b: Standardlösung; 5 µl injiziert; entspricht je 100 pg FB<sub>1</sub> und FB<sub>2</sub>; Signal im Vergleich zu 3a 8mal verstärkt



Im Gegensatz zu den meisten Autoren, die bei einem pH von etwa 9,3 (0,1 mol/l di-Natriumtetraborat) derivatisieren, wurde bei einem pH von 10,4 umgesetzt. Es wurden etwa 15% höhere Signale erhalten. Das Optimum scheint etwa bei pH 10,4 zu liegen, da auch bei pH 8,3 und 11,3 kleinere Signale erhalten wurden.

Die Kalibrierung erfolgte mit externem Standard. Im Bereich von 0,25–50 ng ist die Standardkurve linear und führt durch den Nullpunkt. Es wurde deshalb in der Regel nur mit einer Konzentration kalibriert und durch den Nullpunkt gerechnet. Bei jeder Serie wurde darauf geachtet, dass zumindest eine Standardlösung mit etwa derselben Konzentration wie die Proben injiziert wurde. Wuch der Mittelwert von 3 Standardinjektionen um mehr als 4% von der letzten Kalibrierung ab, wurde neu kalibriert. Der Variationskoeffizient (VK) für die Wiederholbarkeit bei der Injektion von Standardlösungen unmittelbar hintereinander beträgt etwa 5% ( $n = 9$ , je 12,5 ng, FB<sub>1</sub> VK = 2%, FB<sub>2</sub> VK = 3%;  $n = 5$ , je 0,25 ng, FB<sub>1</sub> VK = 10%, FB<sub>2</sub> VK = 8%). Wird der Wert «Fläche/ng» von Standardinjektionen verschiedener Konzentration über einen längeren Zeitraum verglichen, so beträgt der Variationskoeffizient etwa 11% ( $n = 120$ , Zeitraum 3,5 Monate, 0,25–12,5 ng, FB<sub>1</sub> VK = 10,4%, FB<sub>2</sub> VK = 11,9%).

Für die Gehaltsberechnung wurde angenommen, dass das eingesetzte Volumen (meist 30 ml) an Extraktionslösung der gesamten Probe entspricht. (Das heisst die Berechnung wurde nicht auf das effektiv abpipettierbare Flüssigkeitsvolumen oder auf das Gesamtvolumen [Zentrifugat + Rückstand] bezogen.) Der Variationskoeffizient der Wiederholbarkeit für die Analyse von Proben liegt im Bereich von 5–10% (natürlich kontaminierte Probe mit etwa 2000 ng/g FB<sub>2</sub> und etwa 600 ng/g FB<sub>1</sub>, Bestimmung an verschiedenen Tagen,  $n = 5$ , FB<sub>1</sub> VK 4,3%, FB<sub>2</sub> VK = 3,9%). Die Wiederfindung wurde für FB<sub>1</sub> im Bereich von 80–2000 ng/g und für FB<sub>2</sub> im Bereich von 30–500 ng/g bestimmt und betrug im Mittel 65%. Die Angaben sind in Tabelle 1 detailliert dargestellt. Der Verlust beim Reinigungsschritt mit der SAX-Säule betrug 15%.

Tabelle 1. Wiederfindung von FB<sub>1</sub> und FB<sub>2</sub> in Maismehl, Zusatzversuch mit einer niedrig kontaminierten Probe

Fumonisin B <sub>1</sub>			Fumonisin B <sub>2</sub>		
Zusatz z (ng/g)	gefunden y (ng/g)	Wiederfindung x (%)	Zusatz z (ng/g)	gefunden y (ng/g)	Wiederfindung x (%)
0	17,5 ± 4,4		0	7,7 ± 1,4	
80	66,5 ± 1,6	61,3	30	26,2 ± 0,5	61,7
500	343 ± 3,6	65,1	150	107 ± 6,7	66,2
2000	1408 ± 15	69,5	500	336 ± 4,6	65,7
Mittelwert →		65	Mittelwert →		65

Berechnung der Wiederfindung:  $x = \frac{y - y^0}{z}$

$y$  = gefundener Wert nach Zusatz,  $y^0$  = gefundener Wert ohne Zusatz ( $y$  und  $y^0$ : Mittelwert ± Standardabweichung, jeweils  $n = 3$ ),  $z$  = Zusatz

Die *Retentionszeit* der Derivate verändert sich relativ stark bei nur kleiner Änderung des organischen Anteils im Eluenten oder bei Veränderung der Temperatur. Propanol im Eluenten wurde nur verwendet, um nach *Lynn und Cole* (41) die Äquilibrierungszeit zu verkürzen. Durch diese Massnahme kann pro Einspritzung etwa 10 min eingespart werden.

Der Verlauf der Basislinie hängt stark von der Probenmatrix ab. Maisproben ergeben in der Regel sehr «saubere» Chromatogramme (Abb. 4 und 5), Weizen

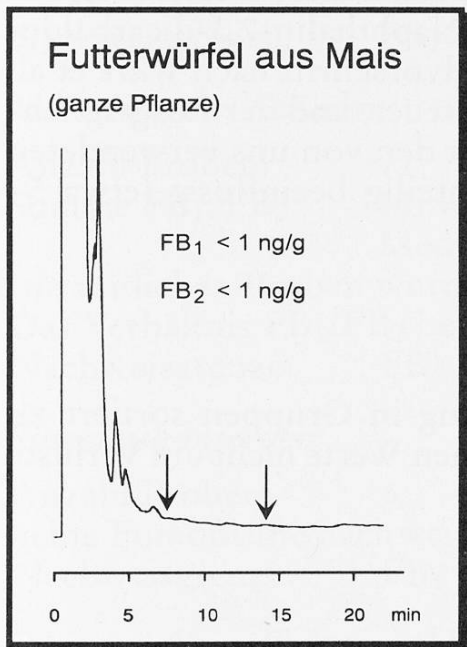


Abb. 4. Chromatogramm von Futterwürfeln aus Mais; 25 µl injiziert, entspricht 38 mg Probe; Signalempfindlichkeit wie bei Abb. 3a

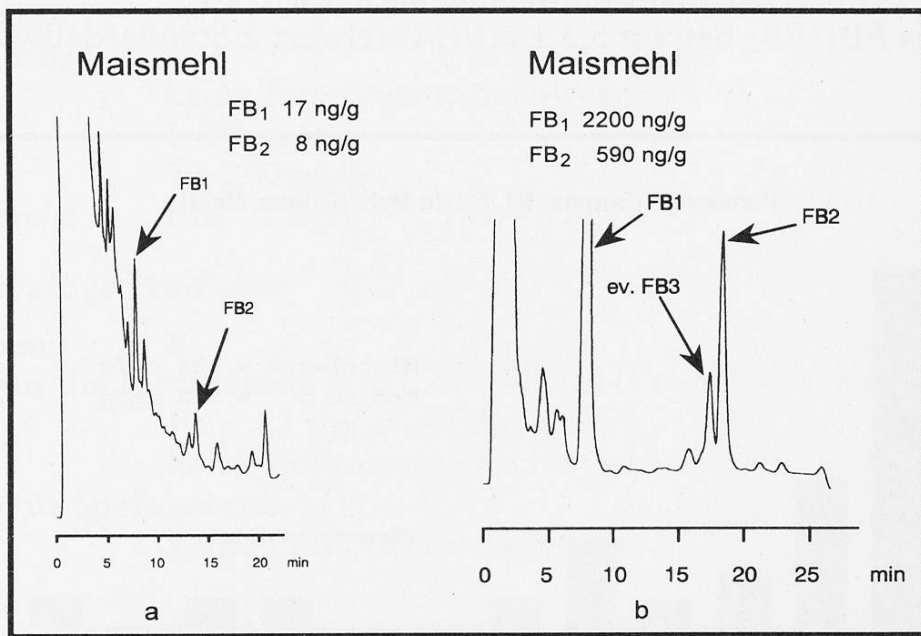


Abb. 5. Chromatogramm a: Maismehl; 25 µl injiziert, entspricht 42 mg Probe; 730 pg FB<sub>1</sub>, 330 pg FB<sub>2</sub>; Signal im Vergleich zu Abbildung 3a 4mal verstärkt  
Chromatogramm b: Maismehl; 25 µl injiziert, entspricht 15 mg Probe; 33 ng FB<sub>1</sub>, 8,8 ng FB<sub>2</sub>; Signalempfindlichkeit wie bei Abb. 3a

führt dagegen oft zu Problemen. Die Methode ermöglicht bei Maisprodukten in jedem Fall eine *Nachweisgrenze* (Signal = 3 x Rauschen) von 5 ng/g für FB<sub>1</sub> als auch für FB<sub>2</sub>. Wird von den standardmässig verwendeten Volumina abgewichen, so liegt die Nachweisgrenze bei etwa 1 ng/g. Insbesondere die Nachweisgrenze von FB<sub>2</sub> konnte durch die Elution mit einem Gradienten wesentlich verbessert werden. Bei Weizen sind im Bereich wo FB<sub>1</sub> eluiert noch weitere Peaks vorhanden. Es konnte dort deshalb nur mit speziellem Aufwand eine Nachweisgrenze von 10 ng/g erreicht werden. Für die Weizenproben wurden auch noch andere Derivatisierungen und andere Gradientenprogramme ausprobiert. Naphthalin-2,3-dicarbaldehyd (NDA) gibt zwar wirklich stabile Derivate (Grundvorschrift nach Ware et al. (38), leicht modifiziert), das Reagenz ist jedoch relativ teuer, und der Reagenzienblindwert ist nicht so gut wie bei OPA (zumindest mit den von uns verwendeten Chemikalien), was die Nachweisgrenze für FB<sub>2</sub> nachteilig beeinflusst (etwa 5–10 ng/g).

### Vorkommen

Die Resultate sind in der nachfolgenden Auflistung in Gruppen sortiert zu sehen. Dabei ist zu berücksichtigen, dass alle angegebenen Werte nicht um Verluste bei der Aufarbeitung (Wiederfindung) korrigiert sind.

#### Maisgriess, Maismehl

Anzahl Proben: 27

Resultate siehe Tabelle 2 und Abbildung 6

In sämtlichen Proben wurden Fumonisine nachgewiesen.

Das Verhältnis FB<sub>1</sub>/FB<sub>2</sub> beträgt  $5,3 \pm 2,1$  (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

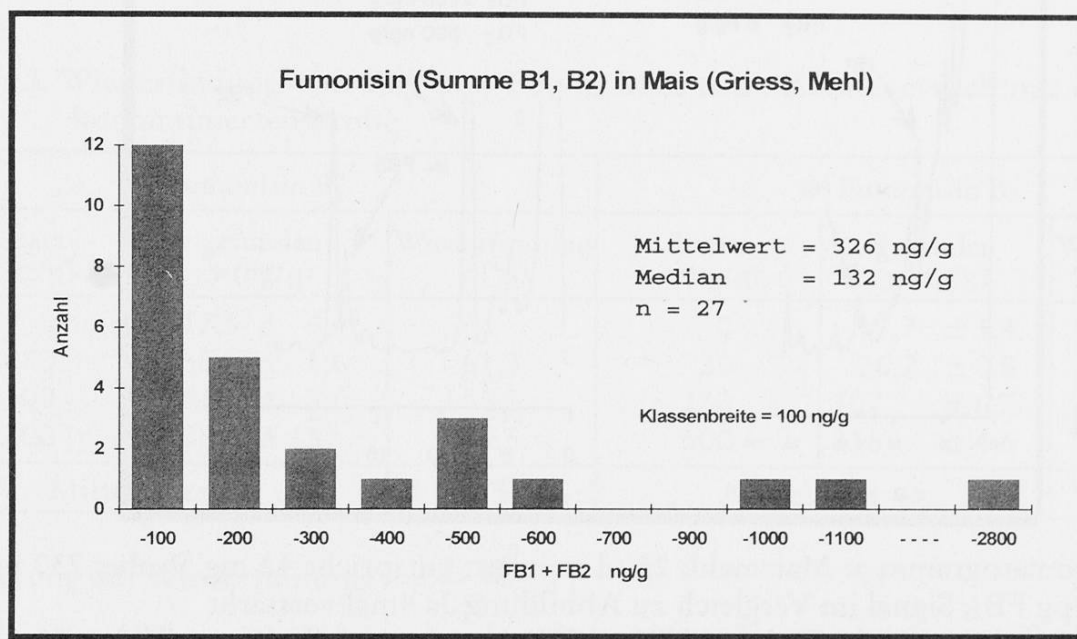


Abb. 6. Fumonisin B<sub>1</sub> + B<sub>2</sub> in Maisgriess und -mehl



Tabelle 2. Fumonisine in Maisgriess und -mehl aus dem schweizerischen Detailhandel,  $n = 27$

Parameter	tiefster Wert	höchster Wert	Mittelwert	Median
FB <sub>1</sub>	9 ng/g	2200 ng/g	264 ng/g	111 ng/g
FB <sub>2</sub>	3 ng/g	590 ng/g	62 ng/g	19 ng/g
Summe FB <sub>1</sub> , FB <sub>2</sub>	12 ng/g	2790 ng/g	326 ng/g	132 ng/g

Nachweisgrenze: FB<sub>1</sub> 1 ng/g FB<sub>2</sub> 1 ng/g

*Maisgriess aus Ecuador*

Anzahl Proben: 11

Summe FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub>: Mittelwert: 1670 ng/g  
Median: 830 ng/g

In sämtlichen Proben wurden Fumonisine nachgewiesen.

Das Verhältnis FB<sub>1</sub>/FB<sub>2</sub> beträgt  $5,6 \pm 4,1$  (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung)

Nachweisgrenze: FB<sub>1</sub> 1 ng/g FB<sub>2</sub> 1 ng/g

*Süssmaiskonserven*

Anzahl Proben: 6

keine Fumonisine nachweisbar

Nachweisgrenze: FB<sub>1</sub> 1 ng/g FB<sub>2</sub> 1 ng/g

*Popcorn, Corn Flakes und Snacks aus Mais*

Anzahl Proben: 13

Summe FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub>

5 Proben keine Fumonisine nachweisbar

4 Proben 5–50 ng/g

4 Proben 50–250 ng/g

Nachweisgrenze: FB<sub>1</sub> 2 ng/g FB<sub>2</sub> 2 ng/g

*Diverse maishaltige Produkte*

Anzahl Proben: 8

Maiskörner für die Herstellung von Corn Flakes (Proben aus der Industrie) (2)

Probe 1: FB<sub>1</sub> 21 ng/g FB<sub>2</sub> 4 ng/g

Probe 2: keine Fumonisine nachweisbar

Maiskörner (für Speisezwecke) (1)

keine Fumonisine nachweisbar

Maisbrot (1)

keine Fumonisine nachweisbar

10-Korn-Brot mit Mais (1)

keine Fumonisine nachweisbar

Maisstärke (2)

keine Fumonisine nachweisbar



### Maiskeimöl (1)

keine Fumonisine nachweisbar  
Nachweisgrenze: FB<sub>1</sub> 3 ng/g      FB<sub>2</sub> 3 ng/g

### Futtermais aus schweizerischem Anbau

Anzahl Proben: 7  
Futterwürfel aus ganzer Pflanze (2 Proben), Körner (5 Proben)  
keine Fumonisine nachweisbar  
Nachweisgrenze: FB<sub>1</sub> 1 ng/g      FB<sub>2</sub> 1 ng/g

### Hülsenfrüchte

Anzahl Proben: 14  
Sojabohnen (3), Weisse Bohnen (2), Borlotti-Bohnen (1), Rote Bohnen (2), Linsen (1), Linsen grün (1), Gelberbsen (1), Kichererbsen (2), Dörrbohnen (1)  
keine Fumonisine nachweisbar  
Nachweisgrenze: FB<sub>1</sub> 1 ng/g      FB<sub>2</sub> 1 ng/g

### Getreide

Anzahl Proben: 25  
Weizenmehl (versch. Typen) (11)\*, Weizenkleie (2), Hartweizengriess (1), Reis (parboiled) (2), Vollreis (2)\*\*, Rollgerste (2)\*\*\*, Goldhirse (2), Haferflocken (2)\*, Haferkleie (1)  
keine Fumonisine nachweisbar  
Nachweisgrenze: FB<sub>1</sub> 3 ng/g      FB<sub>2</sub> 3 ng/g  
\*Nachweisgrenze: FB<sub>1</sub> 10 ng/g      FB<sub>2</sub> 4 ng/g  
\*\*Nachweisgrenze: FB<sub>1</sub> 20 ng/g      FB<sub>2</sub> 2 ng/g  
\*\*\*Nachweisgrenze: FB<sub>1</sub> 2 ng/g      FB<sub>2</sub> 50 ng/g

### Diverse Proben (ohne Mais)

Anzahl Proben: 13  
Mandeln (2)\*, Haselnüsse (2)\*, Eierteigwaren (2), Kartoffelvollmehl (1)\*\*\*, Vollkornmehl mit Soja (1), Kastanienmehl (1), Dörrkastanien (1), Vogelfutter (1)\*\*\*, Meerschweinchenfutter (1)\*, Sojasauce (1)  
keine Fumonisine nachweisbar  
Nachweisgrenze: FB<sub>1</sub> 1 ng/g      FB<sub>2</sub> 1 ng/g  
\*Nachweisgrenze: FB<sub>1</sub> 5 ng/g      FB<sub>2</sub> 1 ng/g  
\*\*Nachweisgrenze: FB<sub>1</sub> 4 ng/g      FB<sub>2</sub> 4 ng/g

Offenbar scheint wirklich nur Mais Fumonisine zu enthalten. Bisher haben wir in keinem anderen Lebensmittel Fumonisine nachweisen können. Bei den maishaltigen Proben haben wir in etwa dasselbe Verteilungsmuster wie *Pittet et al.* (30) erhalten. In keiner der 6 Süßmaisproben (sweet corn, Zuckermis) waren Fumonisine nachweisbar.

Maisgriess und -mehl sind somit wahrscheinlich die wichtigsten Quellen für Fumonisine. Bemerkenswert ist die Tatsache, dass wir, im Gegensatz zu anderen Autoren, in sämtlichen Proben von Griess und Mehl Fumonisine nachweisen konnten. Dies ist einerseits auf die wesentlich verbesserte Nachweisgrenze der Methode zurückzuführen (bisher meist ca. 50 ng/g), deutet aber darauf hin, dass Fumonisine im Mais ubiquitär vorkommen. Das Verhältnis von FB<sub>1</sub>/FB<sub>2</sub>, das wir in unseren Proben gefunden haben, stimmt in etwa mit publizierten Werten überein (11). In Popcorn, Corn Flakes und Chips wurden geringere Gehalte an Fumonisinen gefunden als in Griess und Mehl. Obwohl meist nur eine relativ kleine Anzahl von Proben untersucht wurde, stellten dies andere Autoren ebenfalls fest (30, 35, 36).

### Schlussfolgerungen

Es ist bekannt, dass *Fusarium moniliforme* unter den schweizerischen klimatischen Bedingungen nicht besonders gut gedeiht (46). Ein wärmeres Klima ist dem Gedeihen des Pilzes förderlicher. Unsere Resultate unterstützen diese Ansicht, da wir in den Futterproben aus einheimischem Anbau keine Fumonisine nachweisen konnten. In Speisemais, der hauptsächlich aus Argentinien importiert wird (42, 45), fanden wir jedoch zum Teil beträchtliche Gehalte. Dies ist nicht erstaunlich, da in Proben aus argentinischen Feldversuchen aus dem Jahre 1991 ebenfalls hohe Gehalte (1,6–10 µg/g) an Fumonisinen gefunden wurden (43).

Es ergaben sich keine Hinweise, dass Fumonisine in anderen Lebensmitteln als Mais und maishaltigen Produkten, wie z. B. in Weizen, in nennenswerten Mengen (> 20 ng/g) vorkommen. Das Ergebnis eines orientierenden Kochversuchs mit Mais (Polenta, Mais 20 min gekocht) deutet darauf hin, dass bei der Zubereitung von Speisen keine nennenswerten Mengen der Fumonisine verlorengehen oder zerstört werden.

Da der Mais zu Speisezwecken zum allergrössten Teil importiert wird, kann der Verbrauch mit Hilfe der Aussenhandelsstatistik (42, 45) abgeschätzt werden. Dieser Wert beträgt 1,3 kg/Kopf/Jahr (ca. 4 g/Kopf/Tag). Dabei werden 83% aus Argentinien und 8% aus Österreich importiert. Mais für Popcorn wird 0,1 kg/Kopf/Jahr importiert, wobei 96% aus den USA stammen. Süssmais wird 1,0 kg/Kopf/Jahr importiert (Konserven, frisch, Essigkonserven), aus schweizerischer Produktion stammt wohl nur wenig frischer Süssmais.

Wird für die Schweiz von einer mittleren Einnahme von 4 g Mais pro Person und Tag mit einem mittleren Fumonisingehalt (FB<sub>1</sub> + FB<sub>2</sub>) von 500 ng/g ausgegangen, ergibt dies eine tägliche Fumonisinzufuhr von 2 µg/Person, entsprechend etwa 30 ng/kg KG. Als mögliche Extremzufuhr ist vorstellbar, dass eine Person täglich 100 g Mais (1 Portion Polenta) mit 4 µg/g Fumonisinen konsumiert. Dies würde einer täglichen Zufuhr von 6 µg/kg KG entsprechen. Die wenigen Daten über Mais aus Ecuador lassen vermuten, dass die mittleren Fumonisingehalte in Mais etwa fünfmal höher sind als in der Schweiz. Da Mais in Ecuador ein Grundnahrungs-

mittel ist, dürfte die mittlere Zufuhr von Fumonisinen etwa rund 50mal höher als in der Schweiz sein, d. h. etwa 2 µg/kg KG/Tag.

Eine definitive Risikoabschätzung der Gesundheitsgefährdung des Menschen durch geringe Mengen von Fumonisinen in der Nahrung ist infolge mangelnder toxikologischer Unterlagen noch nicht möglich. Über die Empfindlichkeit des Menschen sind nur wenige Daten aus der Transkei verfügbar. Die Toxizität der verschiedenen Fumonisine vom Typ FB<sub>1</sub>, bis FB<sub>4</sub> wird derzeit als etwa vergleichbar eingestuft (19, 24, 44). Die acetylierten Fumonisine werden zurzeit als weniger toxisch betrachtet (24, 44). Die toxikologische Bedeutung der Polyolamingerüste, insbesondere von hydrolisiertem FB<sub>1</sub>, scheint weniger klar. Einige Autoren stufen sie als deutlich weniger toxisch ein (19, 24, 44), andere gehen hingegen davon aus, dass sie gleich toxisch oder sogar toxischer als FB<sub>1</sub> sind (2). Zur durchschnittlichen Aufnahme von Fumonisinen in der Schweiz scheinen nur FB<sub>1</sub> und FB<sub>2</sub> wesentliche Anteile beizutragen. Zur Risikoabschätzung wird daher im Moment die Summe von FB<sub>1</sub> und FB<sub>2</sub> verwendet.

Soweit bekannt, greifen die Fumonisine in die Regulation der Zellproliferation ein und sind nicht genotoxisch, d.h. dass für die im Rattenversuch beobachtete Kanzerogenität ein Schwellenwert existiert. Tatsächlich zeigten sämtliche Tiere Leberschädigungen (27). Wird trotzdem angenommen, dass kein Schwellenwert existiert und werden die Ergebnisse des Rattenversuchs mit Fumonisin B<sub>1</sub> linear extrapoliert, so ergibt sich für ein zugrundegelegtes akzeptierbares Krebsrisiko von 10<sup>-6</sup> eine «virtuell sichere Dosis» von rund 5 ng/kg KG/Tag. Diese Dosis liegt im Bereich der geschätzten mittleren schweizerischen Fumonisinzufuhr. Die mögliche Kanzerogenität der Fumonisine scheint somit für schweizerische Verhältnisse keine wichtige potentielle Gesundheitsgefährdung darzustellen.

Orale Fumonisinosen im Bereich von 0,4–4 mg/kg KG scheinen bei verschiedenen Tieren innerhalb von Tagen bis Wochen zu toxischen Effekten zu führen. In Extremfällen kann die Fumonisinzufuhr in der Schweiz auf 6 µg/kg KG/Tag ansteigen. Diese Dosis ist zwar nur ca. 60mal geringer als jene, die bei Tieren innerhalb von Tagen bis Wochen zu toxischen Effekten führen kann, jedoch vermutlich etwa vergleichbar mit jener, denen Bevölkerungen in tropischen Gebieten langfristig ausgesetzt sind, falls Mais als Grundnahrungsmittel dient. Aus solchen Ländern wurde bisher nicht über akute oder subakute toxische Effekte beim Menschen in Zusammenhang mit Mais berichtet. Andererseits sind viele Beispiele von natürlicherweise in Lebensmitteln vorkommenden Stoffen bekannt, bei denen die Spanne zwischen üblicher täglicher Zufuhr und akut toxischer Dosis in einer vergleichbaren Grössenordnung liegt (47).

Eine unmittelbare Gesundheitsgefährdung der Schweizer Bevölkerung durch Fumonisine in Mais scheint nicht gegeben. Trotzdem könnte die Einleitung lebensmittelrechtlicher Massnahmen für Fumonisine in Mais im Hinblick auf die Gesundheitsvorsorge geprüft werden. Die Festlegung eines provisorischen Toleranzwertes von z. B. 1000 ng/g für die Summe von FB<sub>1</sub> und FB<sub>2</sub> würde dazu führen, dass etwa 10% der Maisgriess/-mehlproben beanstandet werden müssten. In der Folge würde die maximale Fumonisinzufuhr, die allein durch importierten Mais bedingt ist, von



6 µg/kg KG/Tag auf etwa 1 µg/kg KG/Tag und die mittlere Zufuhr auf etwa die Hälfte des momentanen Wertes gesenkt.

### *Dank*

Herrn *Dr. Josef Schlatter*, Leiter der Fachstelle Toxikologie der Abteilung Lebensmittelwissenschaft unseres Amtes, danken wir für wertvolle Hinweise zur gesundheitlichen Bewertung der Fumonisine.

### *Zusammenfassung*

104 Lebensmittelproben aus dem schweizerischen Detailhandel wurden mittels HPLC und Fluoreszenzdetektion (Phthaldialdehyd [OPA]) auf das Vorkommen von Fumonisin B<sub>1</sub> und B<sub>2</sub> (FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub>) untersucht. Die Extraktion von natürlich kontaminierten Proben in saurem Milieu ergab im Vergleich zu bisher beschriebenen Verfahren 30–60% höhere Werte. In den 52 maisfreien Proben konnten keine Fumonisine (< 2 bis < 20 ng/g) nachgewiesen werden. In 42 von 52 maishaltigen Proben wurden Fumonisine nachgewiesen. In Maisgriess und -mehl wurden höhere Gehalte gefunden als in Popcorn, Corn Flakes und Snacks. Der Mittelwert (Bereich) für den Gehalt an FB<sub>1</sub> und FB<sub>2</sub> in Maisgriess und -mehl betrug 406 ng/g (14–3400 ng/g) und 95 ng/g (5–900 ng/g) (*n* = 27, Wiederfindung berücksichtigt). 11 Proben Maisgriess aus Ecuador enthielten im Mittel 5mal mehr Fumonisine als die Proben aus dem schweizerischen Markt. Die durchschnittliche tägliche Aufnahme von Fumonisin in der Schweiz wird auf 2 µg/Person geschätzt. Die Fumonisinzufuhr wird praktisch ausschliesslich durch importierten Mais verursacht. Eine unmittelbare Gesundheitsgefährdung kann nicht abgeleitet werden. Trotzdem wird für die Summe FB<sub>1</sub> und FB<sub>2</sub> ein provisorischer Toleranzwert von 1000 ng/g vorgeschlagen.

### *Résumé*

Dans le présent travail, la teneur en fumonisines B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub> (FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub>) de 104 échantillons de denrées alimentaires provenant du commerce de détail suisse a été déterminée par HPLC et détection de la fluorescence (dialdéhyde phtalique [OPA]). Lors de l'analyse d'échantillons naturellement contaminés, l'extraction à un pH acide donne des valeurs étant 30–60% plus élevées que celles obtenues par des méthodes publiées. Aucune fumonisine ne pouvait être décelée dans les échantillons exempts de maïs. Des fumonisines ont été décelées dans 42 des 52 échantillons contenant du maïs. Les teneurs en fumonisines sont plus élevées dans la semoule et la farine de maïs que dans le popcorn, les corn flakes et les snacks. Les valeurs moyennes (gamme) des teneurs en FB<sub>1</sub> et FB<sub>2</sub> sont 406 ng/g (14–3400 ng/g) et 95 ng/g (5–900 ng/g) (*n* = 27, en tenant compte du taux de récupération). Les valeurs moyennes des teneurs en fumonisines de 11 échantillons de semoule de maïs provenant de l'Équateur sont 5 fois plus élevées par rapport aux valeurs suisses. En Suisse, l'absorption journalière moyenne de fumonisines par la consommation de denrées alimentaires est estimée à 2 µg par personne. La seule source importante de cette absorption est le maïs d'importation. Les fumonisines ne représentent pas un risque immédiat pour la santé. Une limite provisoire de 1000 ng/g pour la somme de FB<sub>1</sub> et FB<sub>2</sub> est tout de même proposée.



## Summary

104 food products purchased from retail outlets in Switzerland were analysed for fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> (FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub>) by HPLC with fluorescence detection (phthalic dicarboxaldehyde [OPA]). Analysing naturally contaminated samples, the extraction procedure at an acidic pH gave 30–60% higher fumonisin values compared with published methods. In 52 corn-free products no detectable levels of fumonisins (< 2 to < 20 ng/g) were found. 42 of 52 corn-based products were found positive for fumonisins. Corn grits and meal contained higher levels of fumonisins than popcorn, corn flakes and snacks. The mean level (range) of FB<sub>1</sub> and FB<sub>2</sub> in corn grits and meal was estimated 406 ng/g (14–3400 ng/g) and 95 ng/g (5–900 ng/g) ( $n = 27$ , values recovery corrected). The mean fumonisin content of 11 samples of corn grits from Ecuador was about 5 times the value of the Swiss samples. The mean daily intake of fumonisins in Switzerland is estimated to be 2 µg/person. Imported corn seems to be the only important source of fumonisins. At the moment fumonisins seem not to be an immediate health risk. Nevertheless a provisional limit of 1000 ng/g for the sum of FB<sub>1</sub> and FB<sub>2</sub> is proposed.

## Literatur

1. Ross, P.F., Nelson, P.E., Richard, J.L., Osweiler, G.D., Rice, L.G., Plattner, R.D. and Wilson, T.M.: Production of fumonisins by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* isolates associated with equine leukoencephalomalacia and a pulmonary edema syndrome in swine. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**, 3225–3226 (1990).
2. Hendrich, S., Miller, K.A., Wilson, T.M. and Murphy, P.A.: Toxicity of *Fusarium proliferatum*-fermented nixtamalized corn-based diets fed to rats: Effect of nutritional status. *J. Agric. Food Chem.* **41**, 1649–1654 (1993).
3. Gelderblom, W.C.A., Jaskiewicz, K., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Horak, R.M., Vleggaar, R. and Kriek, N.P.J.: Fumonisins – Novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.* **54**, 1806–1811 (1988).
4. Bezuidenhout, S.C., Gelderblom, W.C.A., Gorst-Allman, C.P., Horak, R.M., Marasas, W.F.O., Spiteller, G. and Vleggaar, R.: Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 743–745 (1988).
5. Bottini, A.T., Bowen, J.R. and Gilchrist, D.G.: Phytotoxins. II. Characterization of a phytotoxic fraction from *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Tetrahedron Lett.* **22**, 2723–2726 (1981).
6. Gilchrist, D.G. and Siler, D.J.: Determination of host-selective phytotoxins from *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* as their maleyl derivatives by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* **238**, 167–173 (1982).
7. Mirocha, C.J., Gilchrist, D.G., Shier, W.T., Abbas, H.K., Wen, Y. and Vesonder, R.F.: AAL Toxins, fumonisins (biology and chemistry) and host-specificity concepts. *Mycopathologia* **117**, 47–56 (1992).
8. Chen, J., Mirocha, C.J., Xie, W., Hogge, L. and Olson, D.: Production of the mycotoxin fumonisin B<sub>1</sub> by *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**, 3928–3931 (1992).
9. Wilson, T.M., Ross, P.F., Owens, D.L., Rice, L.G., Green, S.A., Jenkins, S.J. and Nelson, H.A.: Experimental reproduction of ELEM. *Mycopathologia* **117**, 115–120 (1992)

10. Thiel, P.G., Marasas, W.F.O., Sydenham, E.W., Shephard, G.S. and Gelderblom, W.C.A.: The implications of naturally occurring levels of fumonisins in corn for human and animal health. *Mycopathologia* **117**, 3-9 (1992)
11. Ross, P.F., Rice, L.G., Osweiler, G.D., Nelson, P.E., Richard, J.L. and Wilson, T.M.: A review and update of animal toxicoses associated with fumonisin-contaminated feeds and production of fumonisins by *Fusarium* isolates. *Mycopathologia* **117**, 109-114 (1992).
12. Ross, P.F., Rice, L.G., Plattner, R.D., Osweiler, G.D., Wilson, T.M., Owens, D.L., Nelson, H.A. and Richard, J.L.: Concentrations of fumonisin B<sub>1</sub> in feeds associated with animal health problems. *Mycopathologia* **114**, 129-135 (1991).
13. Thiel, P.G., Shephard, G.S., Sydenham, E.W., Marasas, W.F.O., Nelson, P.E. and Wilson, T.M.: Levels of fumonisins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in feeds associated with confirmed cases of equine leukoencephalomalacia. *J. Agric. Food Chem.* **39**, 109-111 (1991).
14. Sydenham, E.W., Marasas, W.F.O., Shephard, G.S., Thiel, P.G. and Hirooka, E.Y.: Fumonisin concentrations in Brazilian feeds associated with field outbreaks of confirmed and suspected animal mycotoxicoses. *J. Agric. Food Chem.* **40**, 994-997 (1992).
15. Wilson, T.M., Ross, P.F., Rice, L.G., Osweiler, G.D., Nelson, H.A., Owens, D.L., Plattner, R.D., Reggiardo, C. Noon, T.H. and Pickrell, J.W.: Fumonisin B<sub>1</sub> levels associated with an epizootic of equine leukoencephalomalacia. *J. Vet. Diagn. Invest.* **2**, 213-216 (1990).
16. Haschek, W.M., Motelin, G., Ness, D.K., Harlin, K.S., Hall, W.F., Vesonder, R.F., Peterson, R.E. and Beasley, V.R.: Characterization of fumonisin toxicity in orally and intravenously dosed swine. *Mycopathologia* **117**, 83-96 (1992).
17. Bane, D.P., Neumann, E.J., Hall, W.F., Harlin, K.S. and Slife, R.L.N.: Relationship between fumonisin contamination of feed and mystery swine disease. *Mycopathologia* **117**, 121-124 (1992).
18. Colvin, B.M. and Harrison, L.R.: Fumonisin-induced pulmonary edema and hydrothorax in swine. *Mycopathologia* **117**, 79-82 (1992).
19. Norred, W.P., Wang, E., Yoo, H., Riley, R.T. and Merrill, A.H.: In vitro toxicology of fumonisins and the mechanistic implications. *Mycopathologia* **117**, 73-78 (1992).
20. Riley, R.T., An, N.-H., Showker, J.L., Yoo, H.-S., Norred, W.P., Chamberlain, W.J., Wang, E., Merrill, A.H., Motelin, G., Beasley, V.R. and Haschek, W.M.: Alteration of tissue and serum sphinganine to sphingosine ratio: An early biomarker of exposure to fumonisin containing feeds in pigs. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **118**, 105-112 (1993).
21. Wang, E., Ross, P.F., Wilson, T.M., Riley, R.T. and Merrill, A.H.: Increases in serum sphingosine and sphinganine and decreases in complex sphingolipids in ponies given feed containing fumonisins, mycotoxins produced by *Fusarium moniliforme*. *J. Nutr.* **122**, 1706-1716 (1992).
22. Yoo, H.-S., Norred, W.P., Wang, E., Merrill, A.H. and Riley, R.T.: Fumonisin inhibition of *de novo* sphingolipid biosynthesis and cytotoxicity are correlated in LLC-PK<sub>1</sub> cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **114**, 9-15 (1992).
23. Wang, E., Norred, W.P., Bacon, C.W., Riley, R.T. and Merrill, A.H.: Inhibition of sphingolipid biosynthesis by fumonisins: Implications for diseases associated with *Fusarium moniliforme*. *J. Biol. Chem.* **266**, 14486-14490 (1991).
24. Gelderblom, W.C.A., Marasas, W.F.O., Vleggaar, R., Thiel, P.G. and Carwood, M.E.: Fumonisin: Isolation, chemical characterization and biological effects. *Mycopathologia* **117**, 11-16 (1992).
25. Sydenham, E.W., Thiel, P.G., Marasas, W.F.O., Shephard, G.S., Van Schalkwyk, D.J. and Koch, K.R.: Natural occurrence of some *Fusarium* mycotoxins in corn from low and high

- esophageal cancer prevalence areas of the Transkei, Southern Africa. *J. Agric. Food Chem.* **38**, 1900–1903 (1990).
26. *Rheeder, J.P., Marasas, W.F.O., Thiel, P.G., Sydenham, E.W., Shephard, G.S. and Van Schalkwyk, D.J.*: *Fusarium moniliforme* and fumonisins in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei. *Phytopathology* **82**, 353–357 (1992).
  27. *Gelderblom, W.C.A., Kriek, N.P.J., Marasas, W.F.O. and Thiel, P.G.*: Toxicity and carcinogenicity of the *Fusarium moniliforme* metabolite, fumonisin B<sub>1</sub>, in rats. *Carcinogenesis* **12**, 1247–1251 (1991).
  28. *International Agency for Research on Cancer (IARC)*: Toxins derived from *Fusarium moniliforme*: Fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> and fusarin C. In: *IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins*. Lyon, 9–16 June 1992, Volume 56, p. 445–466. World Health Organization, 1993.
  29. *Sydenham, E.W., Gelderblom, W.C.A., Thiel, P.G. and Marasas, W.F.O.*: Evidence for the natural occurrence of fumonisin B<sub>1</sub>, a mycotoxin produced by *Fusarium moniliforme*, in corn. *J. Agric. Food Chem.* **38**, 285–290 (1990).
  30. *Pittet, A., Parisod, V. and Schellenberg, M.*: Occurrence of fumonisins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in corn-based products from the Swiss market. *J. Agric. Food Chem.* **40**, 1352–1354 (1992).
  31. *Holcomb, M., Sutherland, J.B., Chiarelli, M.P., Korfmacher, W.A., Thompson, H.C., Lay, J.O., Hankins, L.J. and Cerniglia C.E.*: HPLC and FAB mass spectrometry analysis of fumonisins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> produced by *Fusarium moniliforme* on food substrates. *J. Agric. Food Chem.* **41**, 357–360 (1993).
  32. *Shephard, G.S., Sydenham, E.W., Thiel, P.G. and Gelderblom, W.C.A.*: Quantitative determination of fumonisins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> by HPLC with fluorescence detection. *J. Liq. Chromatogr.* **13**, 2077–2087 (1990).
  33. *Thiel, P.G., Sydenham, E.W., Shephard, G.S. and Van Schalkwyk, D.J.*: Study of the reproducibility characteristics of a liquid chromatographic method for the determination of fumonisins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in corn: IUPAC collaborative study. *J. AOAC Internat.* **76**, 361–366 (1993).
  34. *Sydenham, E.W., Shephard, G.S. and Thiel, P.G.*: Liquid chromatographic determination of fumonisins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> and B<sub>3</sub> in foods and feeds. *J. AOAC Internat.* **75**, 313–318 (1992).
  35. *Stack, M.E. and Eppley, R.M.*: Liquid chromatographic determination of fumonisins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in corn and corn products. *J. AOAC Internat.* **75**, 834–837 (1992).
  36. *Sydenham, E.W., Shephard, G.S., Thiel, P.G., Marasas, W.F.O. and Stockenström, S.*: Fumonisin contamination of commercial corn-based human foodstuffs. *J. Agric. Food Chem.* **39**, 2014–2018 (1991).
  37. *Hopmans, E.C. and Murphy, P.A.*: Detection of fumonisins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> and B<sub>3</sub> and hydrolyzed fumonisin B<sub>1</sub> in corn-containing foods. *J. Agric. Food Chem.* **41**, 1655–1658 (1993).
  38. *Ware, G.M., Francis, O., Kuan, S.S., Umrigar, P., Carman, A., Carter, L. and Bennett, G.A.*: Determination of fumonisin B<sub>1</sub> in corn by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Anal. Lett.* **26**, 1751–1770 (1993).
  39. *Scott, P.M. and Lawrence, G.A.*: Liquid chromatographic determination of fumonisins with 4-fluoro-7-nitrobenzofurazan. *J. AOAC Internat.* **75**, 829–834 (1992).
  40. *Holcomb, M., Thompson, H.C. and Hankins, L.J.*: Analysis of fumonisin B<sub>1</sub> in rodent feed by gradient elution HPLC using precolumn derivatization with FMOC and fluorescence detection. *J. Agric. Food Chem.* **41**, 764–767 (1993).
  41. *Cole, L.A. and Dorsey, J.G.*: Reduction of reequilibration time following gradient elution reversed-phase liquid chromatography. *Anal. Chem.* **62**, 16–21 (1990).



42. Schweizerische Aussenhandelsstatistik, Jahresstatistik, erster Band. Eidg. Oberzolldirektion, Bern 1992 (enthält nicht alle Detailzahlen direkt).
43. Sydenham, E.W., Shephard, G.S., Thiel, P.G., Marasas, W.F.O., Rheeder, J.P., Peralta Sanhueza, C.E., González, H.H.L. and Resnik, S.L.: Fumonisin in Argentinian field-trial corn. *J. Agric. Food Chem.* **41**, 891–895 (1993).
44. Gelderblom, W.C.A., Carwood, M.E, Snyman, S.D., Vleggaar, R. and Marasas, W.F.O.: Structure-activity relationships of fumonisins in short-term carcinogenesis and cytotoxicity assays. *Fd Chem. Toxic.* **31**, 407–414 (1993).
45. Schweizerische Genossenschaft für Getreide und Futtermittel, Bern: persönliche Mitteilung (1993).
46. Winter, W., *Forschungsanstalt für landwirtschaftlichen Pflanzenbau, Zürich-Reckenholz*: persönliche Mitteilung (1993).
47. Lindner, E.: *Toxikologie der Nahrungsmittel*. 3., überarbeitete und erweiterte Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1986.

Dr. Otmar Zoller  
Fritz Sager  
Dr. Bernhard Zimmerli  
Abteilung Lebensmittelwissenschaft  
Sektion Lebensmittelchemie  
Postfach  
CH-3000 Bern 14