

Zeitschrift: Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit
Band: 98 (2007)
Heft: 1

Artikel: Auftreten von Mykotoxinen und Phytoöstrogenen in Drainage- und Flusswasser
Autor: Wettstein, Felix E. / Hörger, Corinne C. / Hartmann, Niccolo
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-981704>

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: 15.05.2025

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

Auftreten von Mykotoxinen und Phytoöstrogenen in Drainage- und Flusswasser*

Felix E. Wettstein, Corinne C. Hörger, Niccolo Hartmann, Susanne Vogelgsang und Thomas D. Bucheli

Agroscope Reckenholz-Tänikon ART, Organische Spurenanalytik, 8046 Zürich,

e-mail: thomas.bucheli@art.admin.ch

Einleitung

Die Forschungsanstalt Agroscope Reckenholz-Tänikon ART untersucht seit mehreren Jahren das Auftreten von Fusarienpilzen auf Getreide (1, 2). Viele Publikationen beschreiben die Kontamination von Weizen (3), Mais (4) und Tierfutter (5) mit *Fusarium*-Toxinen. Jedoch ist uns bis heute keine Publikation bekannt, in welcher Deoxynivalenol (DON) in der aquatischen Umwelt untersucht wurde. Wir haben bereits früher die Möglichkeit der Gegenwart von Mykotoxinen in der Umwelt erläutert (6). Die positiven Befunde von Zearalenon (ZON) in Drainagewasser (7) ermutigten uns, in der Umwelt nach weiteren Mykotoxinen zu suchen. Deshalb wurde die bereits bestehende Analytik für den Nachweis von ZON in Drainage- und Flusswasser auf DON erweitert (8).

Im vergangenen Jahr haben wir zudem eine Methode für den Nachweis von Isoflavonen (Formononetin (FOR), Biochanin A, Daidzein, Genistein und Equol), sowie des Coumestans Coumestrol in wässrigen Proben entwickelt (9). Diese östrogen wirkenden Verbindungen (10, 11) sind unter anderem in Rotklee mit einer Gesamtkonzentration von bis zu 10 g/kg Trockengewicht enthalten (12, 13). In der Schweiz wird auf 70% der landwirtschaftlichen Fläche Kunst- (11%) oder Naturwiese (59%) angebaut (Bundesamt für Statistik, Schweiz). Von den darin vertretenen Leguminosearten dürfte der Rotklee die bedeutendste Quelle für Phytoöstrogene darstellen, wobei der Anteil in Kunstwiesen höher ist als in Naturwiesen. Die produzierten Phytoöstrogene werden durch den Klee nicht direkt in die Umwelt abgegeben. Bei der Verletzung der Pflanze durch Schnitt, Befahren oder Weidegang ist jedoch eine Auswaschung in die Umwelt denkbar. Deshalb haben wir das Drainagewasser einer Kunstwiese, sowie ausgewählte Messstationen von

* Vortrag gehalten an der 119. Jahresversammlung der SGLUC vom 27.-28. September 2007 in Genf

Fliessgewässern mit der entwickelten Analytik auf die erwähnten Isoflavone und Coumestrol untersucht.

Methoden

Als Versuchsfeld diente eine Parzelle der Agroscope Reckenholz-Tänikon ART. Auf dem unteren Teilfeld wurde eine in der Schweiz gängige Italienisch Raigras - Rotkleemischung angesät (Standardmischung CH200) und auf dem oberen Teilfeld die Winterweizensorte Levis. Der Weizen wurde während der Blütezeit mit einer Sporensuspension von *Fusarium graminearum* infiziert. Beide Teilfelder sind getrennt drainiert und das abfliessende Drainagewasser wurde mittels durchflussproportional-gesteuerten Automaten gesammelt. Im gleichen Zeitraum wurden Flussproben aus dem Messnetz des „Amts für Wasser, Energie und Luft des Kantons Zürich“ (AWEL) (Glatt, Töss) und aus dem Messnetz der „Nationalen Daueruntersuchung der schweizerischen Fliessgewässer“ (NADUF) (Aare, Rhein, Saane, Thur) mit den zwei Methoden für den Nachweis von DON (8) und der Phytoöstrogene (9) untersucht. Beide Methoden sind sich ähnlich und werden im Folgenden kurz beschrieben. Zu einem Liter gefilterter Probe (Glasfaserfilter, 1.2 µm) wurden die ¹³C-markierten internen Standards ¹³C₁₅-DON (Biopure, Austria) sowie ¹³C₃-Biochanin A, -Daidzein, -Equol, -FOR und -Genistein (University of St. Andrews, Scotland) zugegeben. Mittels Festphasenextraktion (Oasis HLB, 250 mg, 6cc) wurden die Analyten aufkonzentriert, das gereinigte SPE-Extrakt über HPLC getrennt und mit zwei Massenübergängen pro Analyt im Massenspektrometer detektiert. Die Quantifizierung der einzelnen Analyten erfolgte über die Methode des internen Standards. Die vollständige Beschreibung der Methoden inklusive Validierung kann aus der zitierten Literatur entnommen werden.

Resultate

In Drainage- wie auch in Flusswasser konnten die gesuchten Analyten nachgewiesen werden. Im Rotklee werden verschiedene Isoflavone gebildet, wobei FOR mengenmässig dominiert und stellvertretend für die anderen Isoflavone steht. Die detektierten Mengen an FOR werden mit DON verglichen (Tabelle 1).

Diskussion

In allen Proben des Drainagewassers konnte DON und FOR nachgewiesen werden. Obwohl die auf dem Feld produzierte Menge an FOR etwa siebenhundert Mal grösser war als diejenige von DON, wiesen beide Verbindungen ähnliche Durchschnittskonzentrationen im Drainagewasser auf (Tabelle 1). Die unterschiedlichen Verhältnisse von auf

dem Feld produzierter zu aus dem Feld ausgewaschener Menge Analyt (Tabelle 1) könnte mit der unterschiedlichen Bildung und Verteilung von DON und FOR in den Pflanzen oder mit der ungleichen Sorption bei der Bodenpassage erklärt werden.

Tabelle 1: Auftreten von Deoxynivalenol und Formononetin im Drainagewasser des ART-Versuchsfeldes sowie in Proben verschiedener Schweizer Flüsse im Jahr 2007

	Deoxynivalenol	Formononetin
Drainagewasser		
	2007	2007
Zeitraum Untersuchung	Juli bis August	März bis September
Auf dem Feld produzierte Menge	50 g / ha	35 kg / ha
Anzahl Analysen / Anzahl detektierte Proben	47 / 47	58 / 58
Aus dem Feld ausgewaschene Menge	650 mg	40 mg
Konzentration Drainage (Mittelwert*)	560 ng/L	189 ng/L
Konzentration Drainage (Median*)	161 ng/L	137 ng/L
Konzentration Drainage (Maximum)	4900 ng/L	1700 ng/L
Flusswasser		
Zeitraum Untersuchung	2007 Juli, August	2007 März bis September
Anzahl Analysen / Anzahl detektierte Proben	52 / 31	262 / 259
Konzentration Fluss (Mittelwert*)	8 ng/L	10 ng/L
Konzentration Fluss (Median*)	6 ng/L	6 ng/L
Konzentration Fluss (Maximum)	22 ng/L	132 ng/L

* Median und Mittelwert wurden aus der Summe der detektierten Proben gebildet

Phytoöstrogene werden vom Klee in den Zellen der Pflanzenorgane gebildet. Die Mykotoxine werden von Pilzen auf lebenden Pflanzen und verrottendem Pflanzenmaterial produziert. Es ist bekannt, dass Fusarien-Pilze Zearalenon abgeben und dadurch das Wachstum konkurrierender Pilze hemmen oder gar unterbinden (14). Bei Regen durchläuft das Regenwasser die Bodenpassage, bevor es im Drainagesystem wieder

gefasst wird. Der Anteil der ausgewaschenen Menge Analyt, welcher die Passage des Bodens bis ins Drainagerohr durchläuft, wird von den chemischen Wechselwirkungen des Analyten mit dem Boden bestimmt. Dieses Sorptionsverhalten wurde bis jetzt noch nicht genauer betrachtet. Jedoch wird es Gegenstand weiterer Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe sein. Bei Regenereignissen konnte nach dem Anspringen der Drainage für beide Analyten eine Konzentrationsspitze gemessen werden. Anschliessend pendelten sich die Konzentrationen auf Werte unter 100 ng/L ein. Die höchste Konzentration für DON im Drainagewasser (4900 ng/L, Tabelle 1) wurde zu Beginn eines Regenereignisses nach der Ernte detektiert. Wahrscheinlich konnte DON von nach der Ernte auf dem Feld verbliebenen zerkleinerten Pflanzenresten durch den Regen effizienter ausgewaschen werden als von intakten Pflanzen. Die höchste Konzentration an FOR wurde mit 1700 ng/L (Tabelle 1) nach einem Grasschnitt detektiert. Da es sich um erstmalige Untersuchungen handelt, können die gefundenen Werte nicht mit der Literatur verglichen werden.

Im Flusswasser wurde FOR und DON im Mittel in der gleichen Grössenordnung nachgewiesen. Jedoch konnte DON nur in der Hälfte aller Proben detektiert werden, FOR hingegen in nahezu allen (Tabelle 1). Der Anteil an Wiesen oder Kunstwiesen im Einzugsgebiet der Flüsse ist beträchtlich. Aus diesen Wiesenflächen werden die untersuchten Isoflavone wahrscheinlich mehr oder weniger permanent in die aquatische Umwelt abgegeben. Im Gegensatz dazu ist das Auftreten von DON in Fliessgewässern vom Anbau der Wirtspflanze (Weizen, Mais), deren Vegetationsperiode und dem Fusarienbefall abhängig. Des Weiteren ist – abhängig von der jeweiligen Witterung - nicht jedes Jahr optimal für die Infektion und Mykotoxinbildung durch Fusarien. Laut dem Informationssystem zur Risikobeurteilung von Fusarienbefall und DON-Belastung im Getreide der Agroscope Reckenholz-Tänikon (www.fusaprog.ch, (2)) waren die klimatischen Bedingungen für Fusarien im Jahr 2007 eher günstig.

Schlussfolgerungen

Die entwickelten Methoden für den Nachweis von DON und FOR in Drainage- und Flusswasser haben im Laufe des Sommers 2007 ihre Praxistauglichkeit bewiesen. Die Untersuchungen werden weitergeführt und nach Möglichkeit auf weitere Mykotoxine ausgedehnt. Ob die ermittelten Konzentrationen auf die aquatische Umwelt relevante Auswirkungen haben ist unklar, weil keine toxikologischen Daten für Wasserlebewesen existieren. Aus diesem Grund streben wir die Zusammenarbeit mit Arbeitsgruppen aus dem Bereich der Umwelttoxikologie an.

Zusammenfassung

Mittels Festphasenextraktion und LC-MS/MS-Methoden konnten in Drainage- und Flusswasser das Mykotoxin Deoxynivalenol (DON) sowie verschiedene Phytoöstrogene aus der Gruppe der Isoflavone nachgewiesen werden. Dabei wurden erstmals $^{13}\text{C}_{15}$ -markiertes Deoxynivalenol und $^{13}\text{C}_3$ -markierte Isoflavone als interne Standards eingesetzt. In den Drainageproben wurde jeweils zu Beginn eines Regenereignisses für beide Substanzklassen eine Konzentrationsspitze beobachtet. Die Durchschnittswerte für DON und für das Phytoöstrogen Formononetin (FOR) in Drainagewasser betrugen 161 und 137 ng/L. In über der Hälfte aller untersuchten Flusswasserproben wurde DON mit einer Konzentration von bis zu 22 ng/L detektiert. Die Isoflavone waren in nahezu allen Flusswasserproben mit Konzentrationen von bis zu 132 ng/L nachweisbar. Unsere Messungen legen den Schluss nahe, dass diese natürlich gebildeten Toxine als Mikroverunreinigungen unserer Gewässer zu betrachten sind.

Résumé

Il a été possible de vérifier la présence du trichothécène déoxynivalénol (DON) et des différents phytoœstrogènes du groupe des isoflavones dans des eaux de drainage et fluviales au moyen de méthodes chromatographiques couplées à un spectromètre de masse (LC-MS/MS). Pour la première fois des standards internes marqués par ^{13}C ont été utilisés ($^{13}\text{C}_{15}$ -déoxynivalénol, $^{13}\text{C}_3$ -isoflavones). Dans les échantillons provenant de drainages nous avons pu observer une pointe de concentration au début d'un événement pluvieux pour les deux classes mentionnées. Les valeurs moyennes pour DON et pour la phytoœstrogène formomonétine (FOR) dans des eaux de drainage ont été 161 et 137 ng/L. En plus que la moitié des échantillons fluviaux il a été possible à détecter DON, jusqu'à une concentration de 22 ng/L. En presque tous les échantillons fluviaux les isoflavones ont été détectables et les concentrations allaient jusqu'à 132 ng/L. Cette investigation indique que ces toxines d'origine naturel doivent être classées comme micropolluants des nos eaux.

Summary "Occurrence of mycotoxins and phytoestrogens in drainage and river water"

The occurrence of the mycotoxin deoxynivalenol (DON) and of different isoflavones in drainage and river water was demonstrated by the use of solid phase extraction and tandem mass spectrometry. For this approach and for the first time, $^{13}\text{C}_{15}$ -labelled deoxynivalenol and several $^{13}\text{C}_3$ -labelled isoflavones were used as internal standards. Both classes of the investigated substances were detected in drainage water samples, with peak concentrations at the beginning of a rain event. The average concentration for

DON and the isoflavone formononetin (FOR) was 161 and 137 ng/L, respectively. DON was detectable in Swiss river waters in more than half of the samples at concentrations up to 22 ng/L. FOR was permanently present at concentrations up to 132 ng/L. The frequency of detection and the concentration levels of the investigated substances in drainage and river waters suggest that these substances naturally released should be considered as micropollutants in our waters.

Danksagung

Diese Arbeit war Teil des Projektes „Hormonaktive Pilzgifte in der Umwelt“ innerhalb des Nationalen Forschungsprogramms NFP50 – Hormonaktive Stoffe: Bedeutung für Menschen, Tiere und Ökosysteme. Den Mitarbeitenden folgender Gruppen von Agroscope Reckenholz-Tänikon ART danken wir für die Beratung und Unterstützung unseres Projekts: Feldgruppe, Forschungsgruppe Ökologischer Pflanzenschutz Schad- und Nutzorganismen, Forschungsgruppe Futterbau/Graslandsysteme und der Forschungsgruppe Futterpflanzenzüchtung. Die Flusswasserproben erhielten wir freundlicherweise vom Amt für Abfall, Wasser, Energie und Luft des Kantons Zürich (AWEL) und vom der Nationalen Daueruntersuchung der schweizerischen Fließgewässer (NADUF). Beim Bundesamt für Umwelt (BAFU) bedanken wir uns für die finanzielle Unterstützung des Phytoöstrogen-Projekts.

Keywords: *Deoxynivalenol, formononetin, isoflavonoids, isotope labeled internal standards, phytoestrogens, river water*

Literatur

- 1 Hecker A., Bänziger I., Jenny E., Forrer H.R., Vogelgsang S. and Schachermayr G.: Weniger Fusarien-Toxin durch geeignete Sortenwahl. Agrarforschung, **11**(9), p.384-389 (2004)
- 2 Musa T., Hecker A., Vogelgsang S. and Forrer H.R.: Forecasting of fusarium head blight and deoxynivalenol content in winter wheat with FusaProg. EPPO Bulletin, **37**(2), p.283-289 (2007)
- 3 Dall'Asta C., Sforza S., Galaverna G., Dossena A. and Marchelli R.: Simultaneous detection of type A and type B trichothecenes in cereals by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry using NaCl as cationization agent. Journal of Chromatography A, **1054**(1-2), p.389-395 (2004)
- 4 Berthiller F., Schuhmacher R., Buttinger G. and Krska R.: Rapid simultaneous determination of major type A- and B-trichothecenes as well as zearalenone in maize by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, **1062**(2), p.209-216 (2004)

- 5 *Biselli S., Hartig L., Wegner H. and Hummert C.*: Analysis of *Fusarium* toxins using LC-MS/MS: Application to various food and feed matrices. *Spectroscopy*, **20**(2), p.20-30 (2005)
- 6 *Bucheli T.D., Erbs M., Hartmann N., Vogelgsang S., Wettstein F.E. and Forrer H.-R.*: Estrogenic mycotoxins in the environment. *Mitteilung aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, **96**, p.386-403 (2005)
- 7 *Hartmann N., Erbs M., Wettstein F.E., Schwarzenbach R.P. and Bucheli T.D.*: Quantification of estrogenic mycotoxins at the ng/L level in aqueous environmental samples using deuterated internal standards. *Journal of Chromatography A*, **1138**(1-2), p.132-140 (2006)
- 8 *Bucheli T.D., Wettstein F.E., Hartmann N., Erbs M., Vogelgsang S., Forrer H.R., and Schwarzenbach R.P.*: *Fusarium* mycotoxins: overlooked aquatic micropollutants? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**(3), p.1029-1034 (2008)
- 9 *Erbs M., Hoerger C.C., Hartmann N. and Bucheli T.D.*: Quantification of six phytoestrogens at the nanogram per liter level in aqueous environmental samples using ¹³C₃-labeled internal standards. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**(21), p.8839-8345 (2007)
- 10 *Clotfelter E.D. and Rodriguez A.C.*: Behavioral changes in fish exposed to phytoestrogens. *Environmental Pollution*, **144**(3), p.833-839 (2006)
- 11 *Gutendorf B. and Westendorf J.*: Comparison of an array of in vitro assays for the assessment of the estrogenic potential of natural and synthetic estrogens, phytoestrogens and xenoestrogens. *Toxicology*, **166**(1-2), p.79-89 (2001)
- 12 *Boller B.*: Formica, ein Mattenklee mit reduziertem Östrogengehalt. *Agrarforschung*, **3**(10), p.486-488 (1996)
- 13 *Sivesind E. and Seguin P.*: Effects of the environment, cultivar, maturity, and preservation method on red clover isoflavone concentration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**(16), p.6397-6402 (2005)
- 14 *Utermark J. and Karlovsky P.*: Detoxification of zearalenone by *Gliocladium roseum*: biological function and regulation of zearalenone lactonase synthesis. in 29th Mycotoxin Workshop. 2007. Fellbach, Stuttgart, Germany: Gesellschaft für Mykotoxinforschung e. V.