

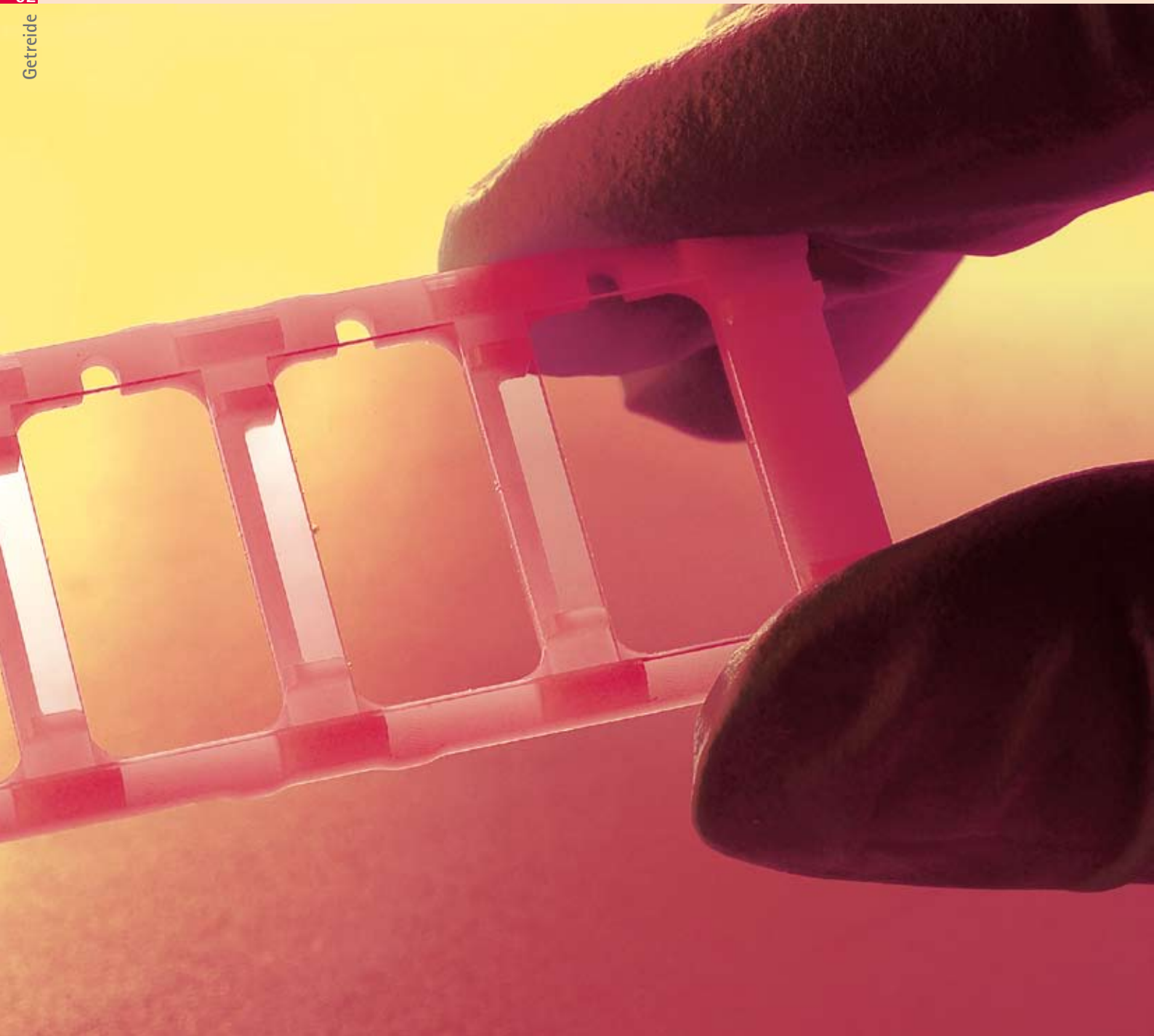


Hochpräziser Schnelltest für die Getreide-Diagnose entwickelt

Der **Pilzgift**-Detektiv

92

Getreide



Schimmelpilze hinterlassen in Lebensmitteln oft gesundheitsgefährdende Stoffe. Ein interdisziplinäres Team aus Physikern, Biochemikern, Chemikern und Informatikern von Bayer CropScience und Bayer Technology Services entwickelt ein Messgerät, das die Belastung von Getreide mit den fünf häufigsten Schimmelpilzgiften (Mykotoxinen) schon an der Getreideannahmestelle präzise und innerhalb von nur 20 Minuten erfassen kann.



Gift-Diagnose: Auf gläsernen Biochips (I.) kann innerhalb weniger Minuten bestimmt werden, wie stark eine Getreidecharge mit Pilzgiften belastet ist – bevor sie in Vorratssilos mit anderen Chargen vermischt wird (recht o.).

Die gefährlichen Auswirkungen von Mykotoxinen waren schon bekannt, bevor es das Wort für die Giftstoffe überhaupt gab: So wurde der Ergotismus, eine Krankheit, die nach dem Verzehr von Mutterkorn auftritt, schon in der Bibel beschrieben. Heute ist Mykotoxin der Sammelbegriff für verschiedene Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen, wie zum Beispiel Fusarien. Einige Mykotoxine können bei Mensch und Tier akute Vergiftungsercheinungen, Nervenschädigungen und Immunstörungen auslösen oder krebserregend wirken.

Auch Getreide kann mit Fusarientoxinen belastet sein. Es kann schon direkt auf dem Feld oder aber bei der Lagerung befallen werden. Aus diesem Grund hat die Europäische Union zum 1. Juli 2006 Grenzwerte für bestimmte Toxine in unverarbeitetem Getreide erlassen, darunter beispielsweise die Fusarientoxine Deoxynivalenol (DON) und Zearalenon (ZEA).

Zurzeit wird die Belastung von Getreide in erster Linie über den Augenschein ermittelt. „Wenn Getreide mit Fusarium-Pilzen befallen ist, führt das zu einer Rotfärbung der Körner,“ erläutert der Pilzexperte Dr. Friedrich Kerz-Möhlendick von Bayer CropScience. „Von dieser Rotfärbung wird in der Regel der Mykotoxingehalt abgeleitet. Auf dem freien Markt gibt es zwar verschiedene Nachweismethoden für Mykotoxine, und es existieren auch

Schnelltests. Die aber werden von vielen Anwendern als zu ungenau eingeschätzt, weil sie eher qualitative als quantitative Aussagen zulassen.“

Zur exakten Bestimmung des Mykotoxingehalts müssen daher Stichproben des angelieferten Getreides entnommen und in spezialisierten Labors aufwändig untersucht werden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind erst nach Tagen erhältlich. Dann aber sind einzelne Getreidelieferungen in den bis zu 4.000 Tonnen großen Lagereinheiten nicht mehr zu identifizieren – Getreide, das sogar höchsten Anforderungen genügen würde, kann bereits unter belastetem Getreide liegen.

Statt Tagen benötigt das Getreide-Testgerät Minuten

Hier setzt die von Bayer entwickelte Diagnostik an: „Ziel ist es, den genauen Mykotoxingehalt des Getreides vor der Einlagerung in die Silos zu ermitteln“, erläutert Projektleiter Dr. Jens Burmeister von Bayer Technology Services. „Dafür entwickeln wir ein Testgerät, das exakte Ergebnisse vor Ort in gerade einmal 20 Minuten liefern kann.“ Die gesamte Diagnostik findet auf einem wenige Quadratzentimeter großem Biochip statt, der präzise mithilfe eines Lasers ausgelesen wird. Hier kommt eine Technik zum Einsatz – die planare Wellenleitertechnologie von Zeptosens – die aus der medizinischen Diagnostik stammt



94 Bildanalyse: Mit dem Prototyp des Auslesegeräts wertet Viktoria Bazilyanska die Mykotoxinbestimmung mit dem Biochip aus. Jeder der blauen Punkte auf dem Bildschirm zeigt die Leuchtintensität eines Messpunkts auf dem Chip an.

Leuchten außer Konkurrenz

Zur Bestimmung des Mykotoxingehalts werden die Pilzgifte aus dem Getreide extrahiert, mit Fluoreszenz-Antikörpern gemischt und auf den Biochip gegeben. Die Mykotoxine auf dem Biochip konkurrieren mit den Mykotoxinen der Probe um die Bindung der Antikörper: Je mehr Mykotoxine in der Probe sind, desto weniger Antikörper binden an den Chip. Nur diese Antikörper werden dann bei der Auswertung des Chips durch den Laser angestrahlt – die Schicht aus Tantalpentoxid bewirkt, dass das Laserlicht nur bis zu einer geringen Höhe strahlt.

Antikörper mit Fluoreszenzfarbstoff

Mykotoxin aus der Getreideprobe

Laserlicht strahlt bis ca. 100 Nanometer Höhe

Mykotoxin auf dem Chip

Tantalpentoxid-Schicht

Glasträger

Gitterstruktur fängt den Laser ein

Laser

und durch ihre Genauigkeit und Schnelligkeit besticht (s. research 16).

Das Grundprinzip ist simpel: Die Mykotoxine werden mit Methanol aus dem Getreidekorn gelöst. Dieser Getreideextrakt wird mit Antikörpern gegen das gesuchte Mykotoxin gemischt, die mit einem fluoreszenten Leuchtstoff markiert sind. Ein winziger Tropfen des Mix wird auf den Biochip gegeben.

Auf dem Chip sind an definierten Punkten (Spots) ebenfalls Mykotoxinmoleküle befestigt, so genannte Fänger-moleküle. Jetzt kommt es zu einer Konkurrenzsituation: Die markierten Antikörper können entweder an die Fänger-moleküle auf dem Chip oder an das freie Mykotoxin in dem Getreideextrakt binden. Je mehr Mykotoxin im Extrakt ist – je belasteter also das Getreide – desto weniger Antikörper binden an die Mykotoxinspots auf dem Chip. Die Forscher sprechen von einem indirekt kompetitiven Immuno-Assay.

Wird der Chip anschließend mit Laserlicht bestrahlt, werfen die fluoreszierenden Antikörper ein spezifisches Lichtsignal zurück, das mit einer Spezialkamera aufgenommen und ausgewertet wird. Referenzspots auf dem Chip ermöglichen es, die Fluoreszenzsignale zu quantifizieren. Je mehr Mykotoxin sich in dem Getreideextrakt befindet, desto schwächer leuchtet der Chip.

Die Umsetzung dieser Reaktion erfordert Hightech auf kleinstem Raum: Die Präparation des nur einen Quadratzentimeter großen Biochips verlangt höchste Präzision. Und die Auslesesituation ist kompliziert, denn: Wie können Fluoreszenzsignale vom Chip von solchen aus dem Getreideextrakt unter-

Biochip-Herstellung: Ein Pipettierroboter (r.) tropft vollautomatisch genau dosierte Mengen verschiedener Mykotoxine auf einen Chip. Die Mykotoxine haften über ein weiteres Protein an der Chipoberfläche.

schieden werden, ohne vorher das Extrakt in mehreren fehlerträchtigen Schritten abzuwaschen? Hier kommt die planare Wellenleitertechnologie zum Einsatz. Sie misst die Fluoreszenz nur in einer hauchdünnen Schicht direkt über dem Chip.

Auf dem Chip befindet sich eine Gitterstruktur, die Laserlicht einfangen kann. Zum Auslesen wird nun ein Laserstrahl auf den Chip gelenkt, und die Gitterstruktur leitet das Laserlicht in eine transparente, hochbrechende Schicht, die das Licht wie ein Glasfaserkabel transportiert. Der Clou: Die Lichtintensität fällt exponentiell mit der Entfernung von der Oberfläche ab. So kommt es bis zu einer Höhe von rund 100 Nanometern über dem Chip zu einem starken Lichtsignal, darüber zu fast gar keinem mehr.

Genau innerhalb dieser Schicht von rund 100 Nanometern über dem Chip findet auch die Bindung der fluoreszenzmarkierten Antikörper an die Spots auf dem Chip statt. So können nur die markierten Antikörper, die an die Fängermoleküle auf dem Chip gebunden haben, überhaupt ein Fluoreszenzsignal aussenden. Denn der Fluoreszenzfarbstoff der Antikörper in der Lösung wird praktisch gar nicht angestrahlt.

Ein weiterer Vorteil: Auf dem Chip ist Platz für mehrere hundert Spots, sodass – geeignete Antikörper voraus-

gesetzt – in einem Arbeitsschritt bis zu 20 verschiedene Mykotoxine gleichzeitig gemessen werden können.

Mini-Hightech erfordert verschiedene Kompetenzen

„Bei Bayer CropScience und Bayer Technology Services arbeiten wir in vielen Teams: Eine Gruppe befasst sich mit der biochemischen Reaktion und der Beschaffung geeigneter Antikörper, eine andere optimiert die wenige Mikroliter große Messkammer, eine weitere feilt an der Exaktheit des Spotters, der die Fängermoleküle aufbringt“, erläutert Burmeister den komplexen Entwicklungsprozess. „Wieder andere Kollegen beschäftigen sich nur mit dem Auslesegerät oder mit den notwendigen Produktionsprozessen. Ein Team misst die Mykotoxinkonzentrationen zum Vergleich mit Standard-Laborverfahren, und nicht zuletzt bereitet eine Gruppe die Markteinführung vor.“

Ist das System einmal standardisiert, muss der Anwender nur noch eine einfache Getreideextraktion und das Befüllen der Messkammer vornehmen. Der Ausleseprozess erfolgt dann automatisiert. In wenigen Jahren soll das Produkt bereits auf den Markt kommen. Der Projektleiter ist überzeugt: „Es handelt sich um eine echte Plattformtechnologie, deren Nutzen in der Lebensmitteldiagnostik noch lange nicht ausgeschöpft ist.“



www.mykotoxin.de

Die Seite der Gesellschaft für Mykotoxinforschung gibt eine Übersicht zum Thema Schimmelpilzgifte.



Nachgefragt:
Heiner Klasen, Nörvenich



Die Qualitätsanforderungen steigen ständig

Heiner Klasen ist Abteilungsleiter Getreide bei der Buir-Bliesheimer Agrargenossenschaft eG im rheinländischen Nörvenich und Fachmann für Getreidelagerung und -logistik. „research“ sprach mit ihm über die Bedeutung von Mykotoxinen.

Herr Klasen, sind Mykotoxine ein Thema für den Agrarhandel?

Das Thema Mykotoxine steht vor jeder neuen Ernte immer wieder im Vordergrund aller Gespräche und Verhandlungen. Getreide mit einem zu hohen Deoxynivalenol-Gehalt (DON) hat zurzeit fast keine Absatzchancen. Mit der EU-Verordnung 856/2005, die seit dem 1. Juli 2006 in Kraft ist, haben wir erstmals gültige Grenzwerte für DON- und Zearalenongehalt (ZEA) in Getreide. Es ist davon auszugehen, dass die Mühlen und Kraftfutterwerke versuchen werden, bei ihren Einkäufen diese Grenzwerte noch deutlich zu unterschreiten. Schon heute wird für bestimmte Segmente wie Müsli Getreide mit noch niedrigeren Werten gesucht.

Wie gewährleisten Sie momentan die Einhaltung der Grenzwerte?

Zum einen ziehen wir vor der Ernte Stichproben, die anschließend untersucht werden, um einen Anhaltspunkt für den Grad eines Schimmelpilzbefalls zu bekommen. Weitere Kontrollen finden dann bei der Erfassung statt, intensivere Labortests erst zu einem späteren Zeitpunkt. Wir sind im Moment nicht in der Lage, die Vermischung von belastetem und unbelastetem Getreide bei der Einlagerung effektiv zu verhindern.

Welches Interesse hätten Sie an einer Mykotoxin-Diagnostik?

Wir sind sehr interessiert an einer neuen, sicheren und schnellen Mykotoxin-Diagnostik, denn die Qualitätsanforderungen unserer Kunden steigen ständig. Auch im Sinne der Produkthaftung benötigen wir dringend bessere Kontrollen und mehr Sicherheit.