

Afdeling Organische Contaminanten/
Bestrijdingsmiddelen 1984-06-25
RAPPORT 84.66 Pr.nr. 404.0441

Onderwerp: De mate van besmetting met
zearalenon van Nederlandse
snijmais.

Verzendlijst: directeur, direktie VKA, sektorhoofd, afdeling OCON (4x),
afdeling Normalisatie (Humme), projektbeheer, projekt-
leider, ing. L. Sibma (CABO, Wageningen), ing. H.H.G.
van der Werf (PAGV, Lelystad).

Project: Inventariserend onderzoek naar het voorkomen van zearalenon.

Onderwerp: De mate van besmetting met zearalenon van Nederlandse
snijmais in 1983.

Doel:

Nagaan hoe groot de besmetting met zearalenon is van Nederlandse snij-
mais afkomstig van diverse proefvelden en welke invloeden de diverse
manieren van monsteropslag hebben op het uiteindelijke analyse-
resultaat.

Samenvatting/Conclusie:

Zearalenon, een mycotoxine met estrogene werking, wordt geproduceerd
door diverse *Fusarium* schimmels. Deze schimmels gedijen onder gunstige
omstandigheden goed op o.a. mais.

Omdat uit de literatuur bekend is dat mais regelmatig besmet kan wor-
den met *Fusarium* species is een inventariserend onderzoek uitgevoerd
naar het voorkomen van zearalenon bij Nederlandse snijmais in 1983.

De analyseresultaten duiden op een nauwelijks aanwezige besmetting met
zearalenon. Tien monsters hebben een gehalte tussen 0,01-1 mg/kg met
een gemiddelde van 0,2 mg/kg; twee monsters tussen 0,01 en 0,005 mg/kg
met een gemiddelde van 0,007 mg/kg en drieëndertig monsters met een
gehalte kleiner dan 0,005 mg/kg.

De in de literatuur beschreven gehalten zijn ongeveer een faktor tien
hoger dan de door ons gevonden waarden.

Aangezien overdracht vanuit voer naar melk over het algemeen op een
niveau van $<<0,01$ ligt (verhouding zearalenongehalte in voer/
zearalenongehalte in melk) worden derhalve geen problemen voor humane
consumptie verwacht.

De monsters zijn tevens gebruikt om eventuele opslageffekten na te
gaan die van invloed kunnen zijn op het te bepalen gehalte.

Uit het onderzoek bleek dat de monsters of direkt opgewerkt moeten
worden of bij opslag gevriesdroogd moeten worden.

Verantwoordelijk: ir L.G.M.Th. Tuinstra

Medewerker/samensteller: J.M.P. van Trijp

Projectleider: A.H. Roos

Inleiding

Diverse schimmelsoorten zijn in staat mycotoxinen te produceren, één daarvan is Fusarium. Een mycotoxine wat voornamelijk door Fusarium roseum (Gibberella zeae) maar ook door bijvoorbeeld F. culmorum en F. moniliforme geproduceerd wordt is zearalenon.

De schimmel Fusarium roseum wordt gevonden op granen en is zowel een "veld"schimmel als een "bewaar"schimmel. Zearalenon werd volgens de literatuur aangetoond in graanprodukten in de meeste delen van de wereld, gehalten varieerden van 0 tot 600 mg/kg. In mengvoeders werden volgens de literatuur gehalten gevonden tussen 0,06 en 2900 mg/kg (1). De optimale produktie van zearalenon vindt in de meeste gevallen plaats bij 10-14°C (2).

Zearalenon veroorzaakt estrogene effecten, vooral bij varkens. Deze zijn veel gevoeliger voor het mycotoxine dan bijvoorbeeld pluimvee. Veevoeder met 25, 50 en 100 mg/kg zearalenon veroorzaakte bij varkens afwijkingen in de voortplanting, verminderde vruchtbaarheid of onvruchtbaarheid, schijnzwangerschap, kleinere worpen, misvormingen en jeugdhyperestrogenisme. Verder traden er epitheelveranderingen op in baarmoeder, baarmoederhals, vagina en borstklieren. Als gevolg van zearalenon toediening werden vaginale verzakkingen, opzwellling van de vulva, opzwellling van de anus, anale verzakkingen, het uitteren van de eierstokken en abnormale follikelaktiviteit waargenomen. Bij mannelijke varkens trad uittering van de testes op, evenals zwellling van de voorhuid en vergroting van de borstklieren (3,4).

Snijmais is een essentieël onderdeel in het voederrantsoen van rundvee. In het verleden zijn echter door diverse auteurs besmettingen gemeld van mais met zearalenon.

Balzer et al. (5) melden uit Joegoslavië over 1974 bij een nat oogstjaar vijftig positieve monsters per honderd analyses met een maximum gehalte van 200 mg/kg. In 1975, een droog oogstjaar, echter vijf positieve uit 191 monsters met een gemiddeld gehalte van 5,1 mg/kg.

Andrews et al. (6) geven een overzicht van positieve maismonsters zoals gevonden in Canada van 1972 tot 1977. Twee tot vijftien procent van de onderzochte monsters bleek positief te zijn.

Er werd een gemiddelde waarde vastgesteld van 3,85 mg/kg met een range van 0,01-141 mg/kg. Twintig procent had een gehalte tussen 1-10 mg/kg, drie procent tussen de 10-100 mg/kg.

In Italië werden door Bottalico (7) 41 monsters import mais en 66 monsters inlandse mais onderzocht. In slechts drie (geïmporteerde mais) monsters werd zearalenon aangetroffen (0,1-2 mg/kg).

Mede gezien het feit dat in het buitenland regelmatig besmettingen geregistreerd zijn van mais met zearalenon, leek het noodzakelijk om een aantal monsters Nederlandse snijmais te onderzoeken.

Deze snijmais is afkomstig van proefvelden van het Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek (CABO) te Wageningen en het Proefstation voor de Akkerbouw en de Groenteteelt in de Vollegrond (PAGV) te Lelystad.

Monsters, monstermateriaal

Van de CABO monsters is de voorgeschiedenis exakt bekend. De monsters maken deel uit van een onderzoek in het kader van een project

"teeltsystemen ruwvoedergewassen" (CABO 315). Hierin is de invloed bestudeerd van de stikstofgift en het soort gewas wat per perceel verbouwd is (Minderhoudhoeve). Tevens zijn enige monsters afkomstig van proefvelden uit Wageningen (CABO 641), alle verkregen van de zgn.

"0-3"-oogst (10 oktober 1983), zie bijlagen 1 t/m 3.

Van het proefveld in Wageningen werden 8 monsters en van de Minderhoudhoeve 142 monsters snijmais incl. blad ontvangen. Uit deze laatste partij zijn 24 monsters geselecteerd (zie bijlage 2).

De volgende criteria lagen hieraan ten grondslag: Er moet een verscheidenheid aan gewassen op het veldje gegroeid hebben. Van elke uitgezochte combinatie is een "nihil"-stikstofgift (N_1) en een "maximum"-stikstofgift (N_4) onderzocht (zie codetabel bijlage 3).

De PAGV monsters bestonden uit verschillende rassen die op eenzelfde sterk verdroogd perceel zijn aangezet en laat geoogst werden.

Er werden dertien monsters ingestuurd: zes monsters maiskolven (zonder blad), één monster maiskolf in schutblad (niet rijp) en zes monsters maiskorrels (zie bijlage 4 en 5).

Monstervoorbewerking

RIKILT-nummers 45418 t/m 45425.

De reeds gehakselde mais werd opgeslagen bij -20°C. Zo snel mogelijk hierna zijn de monsters gehomogeniseerd in een cutter m.b.v. vloeibare stikstof. De monsters werden verdeeld in drie gelijke porties over plastic salade bakjes (ca. 70-100 g). De bakjes werden als volgt bewaard:

één deel: droogvriezen,

één deel: permanent bewaren bij -20°C,

één deel: in eerste instantie als analysemonster gebruiken en bewaren bij -20°C.

RIKILT-nummers 46711 t/m 46717.

De komplette kolven inclusief blad werden gehakseld op het CABO. Verdere opwerking was identiek aan die met de nummers 45418 t/m 45425.

RIKILT-nummers 46879 t/m 46884.

De al gemalen maismonsters direkt verdeeld over salade bakjes; verder procedure zoals bij 45418 t/m 45425.

Methoden van onderzoek

De maismonsters zijn onderzocht volgens intern analysevoorschrift A 226 (1e oplage d.d. 1983-03-15). Zearalenon wordt geëxtraheerd met een mengsel van chloroform/0,1 M fosforzuur.

Na filtratie wordt een bekende hoeveelheid van het chloroformextract gezuiverd met behulp van een zuurbase-extractie, drooggedampt en opgenomen in methanol. Hiervan wordt 10 µl geïnjecteerd in de vloeistofchromatograaf. De vloeistofchromatograaf is voorzien van een "heartcut-backflush" opstelling welke extern gestuurd wordt door een personal computer (zie figuren 1 en 2).

Detektie vindt plaats m.b.v. fluorescentiedetektie. De detektiengrens onder de toegepaste analyseomstandigheden bedraagt 1 ng en is voor mais ca. 0,005 mg/kg op produktbasis.

De recovery bedraagt gemiddeld 83% (n=22) op een niveau van 0,03-0,15 mg/kg. De variatiecoëfficiënt berekend uit de herhalingen van recovery experimenten verricht op verschillende tijdstippen bedraagt 13%.

De resultaten zijn niet gecorrigeerd voor de recovery. Totale chromatografietijd per monster bedraagt door de "heartcut/backflush" slechts twintig minuten. Enkele fracties van positieve monsters zijn uitgevangen en met behulp van GCMS geconfirmeerd. Het droge stofgehalte is bepaald door droging tot constant gewicht bij 105°C.

Resultaten/discussie

Zearalenonanalyses

Voor de analyse werd uitgegaan van diepgevroren deelmonsters. De gevonden zearalenon en droge stof gehalten zijn vermeld in tabel 1. De zearalenon gehalten zijn gegeven in mg/kg vers produkt.

Tussen de monsters onderling blijkt een grote variatie in gehalten aan zearalenon te bestaan. Dit zou verklaard kunnen worden uit een onregelmatige besmetting van mais op één perceel. Tevens is er een aanzienlijke spreiding tussen duplo-analyses (zie tabel 1). Deze spreiding kan verschillende oorzaken hebben: of het monster was onvoldoende homogeen of de wijze van opslag en de bewaartijd is van grote invloed op het gehalte.

De monsters betrokken van de Minderhoudhoeve (RIKILT nrs. 47204 t/m 47227) tonen op één uitschieter na (RIKILT nr. 47210, veldje 128) geen besmetting met zearalenon ($< 0,005$ mg/kg).

De overige onderzochte monsters (RIKILT nrs 45418 t/m 45425, 46711 t/m 46717 en 46879 t/m 46884) blijken grote variaties te vertonen voor wat betreft het zearalenongehalte. Dit kan bewerkstelligd zijn door de conditie van de maisplanten. Mirocha et al. (8) constateerden dat bij nat weer de wortels van de maisplant niet diep genoeg konden wortelen. Bij daaropvolgend droog weer stierven de planten af waarna diverse *Fusarium* species konden aanslaan.

Van het PAGV perceel is bekend dat het ten tijde van de te late oogst sterk verdroogd was. Aangezien het voorjaar van 1983 uitzonderlijk nat was, gevolgd door een droge zomer, kan hier de basis zijn gelegd van een *Fusarium* aantasting met een enkele zearalenonbesmetting tot gevolg.

Het zij echter opgemerkt dat de wortelconditie tijdens de oogst niet bekeken is.

Door Mirocha et al. (9), Hagler et al. (10) en Palyusih et al. (11) zijn overdrachtsproeven uitgevoerd van zearalenon bij resp. koe, schaap en varken.

Palyusik vond voor varken een overdrachtsfaktor van 0,02 (mg/kg in melk/mg/kg in voer), Hagler voor koe en schaap $< 0,01$ en Mirocha $< 0,01$ voor een koe na toediening van 250 mg/kg voer, analyse na één en twee dagen. Bij een toediening van 25 mg/kg werd er echter na zeven dagen een overdrachtsfaktor van 5,4 vastgesteld.

Bij niveau's van enkele tientallen mg/kg is vrijwel uitsluitend een lage overdracht vastgesteld. Gezien het niveau van de door ons gemeten gehalten (< 1 mg/kg) mag er verwacht worden dat bij de toepassing van snijmais als rundveevoeder geen problemen te verwachten zijn bij menselijke consumptie van de melk en/of het vlees. Overigens zijn in de literatuur nauwelijks tot geen gegevens bekend van de effecten van zearalenon op het menselijk lichaam. Op basis van literatuurgegevens waaruit blijkt dat de weersomstandigheden grote invloed kunnen hebben op de zearalenon besmetting is het aan te bevelen in de toekomst het onderzoek te herhalen.

Experimenten

Omdat het mogelijk kan zijn dat het zearalenongehalte kan veranderen tijdens de opslag van maismonsters zijn enige proeven uitgevoerd die nader inzicht moeten verschaffen in de invloed die de gebruikte bewaarstechniek op het laboratorium (diepvriezen, vriesdrogen) heeft op het zearalenongehalte.

Als uitgangspunt is een monster jonge mais in schutblad genomen waarin geen zearalenon werd aangetoond (RIKILT-nummer 46717, zie tabel 1). Met dit monster zijn een aantal recoveryexperimenten uitgevoerd. Tabel 2 geeft de bereikte resultaten weer.

- Indien voor de extractie het diepvriesmonster wordt gevriesdroogd daalt de bereikte recovery (op 150 μ g/kg niveau) van 91% (n=3) naar 80% (n=6). Zie kolommen A en B tabel 2. De invloed van vriesdrogen op de recovery blijkt dus gering te zijn.
- Bij vergelijking van verschillende uitgangsprodukten (diepvries- en vriesdroogmonster) blijkt, na toevoegen en extractie van zearalenon op 150 μ g/kg niveau, dat de recovery van het vriesdroogmonster lager is (76%, n=3) dan de recovery van het diepvriesmonster (91%, n=3). Zie kolommen B en D, tabel 2.

Blijkbaar is de extractie van toegevoegd zearalenon uit de al gevriesdroogde matrix niet optimaal; het watergehalte lijkt invloed te hebben op de recovery.

- Een duidelijke vermindering van de recovery treedt echter op na het bewaren van het monster gedurende 10 weken bij -20°C ($15\text{ }\mu\text{g/kg}$ niveau). De recovery daalt van 91% ($n=3$) naar 35% ($n=6$), zie kolommen B en C tabel 2.

De hier gesignaleerde tendenzen worden bevestigd door de analyseresultaten van een natuurlijk gecontamineerd monster snijmais (RIKILT-nr. 45421). In dit monster was bij de directe extractie van een diepvriesprodukt een gehalte van $65\text{ }\mu\text{g/kg}$ aangetoond (tabel 1). Tien weken later is hetzelfde diepvriesmonster nogmaals bepaald in 6-voud, het gehalte bedraagt nu $38\text{ }\mu\text{g/kg}$ (tabel 3). Tegelijkertijd is een gevriesdroogd monster geanalyseerd (gevriesdroogd direct na ontvangst), in 6-voud met als resultaat een gehalte van $51\text{ }\mu\text{g/kg}$ (tabel 3).

Ook nu wordt na vriesdrogen een geringere opbrengst gevonden en een sterke daling van de opbrengst na bewaren in de diepvries.

Op basis van vorenstaande resultaten is het zinvol om maismonsters voor onderzoek op zearalenon direct op te werken en niet voor de analyse gedurende lange tijd in de diepvries op te slaan.

Vriesdrogen geeft wel de mogelijkheid het monster gedurende langere tijd voor de analyse te bewaren maar dan zal de extractie verbeterd moeten worden.

Voor het feit dat na diepvriesopslag te lage gehalten worden gevonden zijn twee verklaringen mogelijk:

- In de tijd wordt zearalenon zodanig in de mais geincorporeerd dat de extraktie volgens Intern Analysevoorschrift A 226 (30 min schudden met een chloroform/fosforzuur-mengsel) onvoldoende is. Debet hieraan kan zijn dat de monsters, vanuit praktisch oogpunt, slechts verkleind zijn tot deeltjes ter grootte van een maiskorrel.
 - Zearalenon wordt onder invloed van de matrix afgebroken.
- Aanwijzingen uit de literatuur die op dit verschijnsel zouden duiden zijn echter niet voorhanden.

Van de twee genoemde mogelijkheden lijkt de eerste het meest waarschijnlijk. Daarbij dient in de toekomst dan ook de invloed nagegaan te worden van de fijnheid van het monster op het analyseresultaat.

Conclusies:

Zearalenon, een mycotoxine met estrogene werking, wordt geproduceerd door diverse Fusarium schimmels. Deze schimmels gedijen onder gunstige omstandigheden goed op o.a. mais.

Omdat uit de literatuur bekend is dat mais regelmatig besmet kan worden met Fusarium species is een inventariserend onderzoek uitgevoerd naar het voorkomen van zearalenon bij Nederlandse snijmais in 1983. De analyseresultaten duiden op een nauwelijks aanwezige besmetting met zearalenon. Tien monsters hebben een gehalte tussen 0,01-1 mg/kg met een gemiddelde van 0,2 mg/kg; twee monsters tussen 0,01 en 0,005 mg/kg met een gemiddelde van 0,007 mg/kg en drieëndertig monsters met een gehalte kleiner dan 0,005 mg/kg.

De in de literatuur beschreven gehalten zijn ongeveer een faktor tien hoger dan de door ons gevonden waarden.

Aangezien overdracht vanuit voer naar melk over het algemeen op een niveau van $\ll 0,01$ ligt (verhouding zearalenongehalte in voer/ zearalenongehalte in melk) worden derhalve geen problemen voor humane consumptie verwacht.

De monsters zijn tevens gebruikt om eventuele opslageffekten na te gaan die van invloed kunnen zijn op het te bepalen gehalte.

Uit het onderzoek bleek dat de monsters of direkt opgewerkt moeten worden of bij opslag gevriesdroogd moeten worden.

Literatuur

1. L.G.M.Th. Tuinstra en W. Haasnoot, RIKILT verslag nr. 81.17 (1981).
2. C.J. Mirocha et al., J. Food Prot.: 42 (10), 821-824 (1979).
3. K. Chang et al., Am. J. Vet. Res.: 40 (9), 1260-1267 (1979).
4. E.R. Farnworth et al., Abstract 64.
5. I. Balzer et al., Ann. Nutr. Alim.; 31, 425-430 (1977).
6. R.I. Andrews et al., J.A.O.C.S.; 989A-991A, december 1981.
7. A. Bottalico, Mycopathologia; 67 (2), 119-121 (1979).
8. C.J. Mirocha et al., Appl. Environ. Microb.; 38 (3), 557-558 (1979).
9. C.J. Mirocha et al., Fd Cosmet. Toxicol.; 19, 25-30 (1981).
10. W.M. Hagler et al., Act. Vet. Ac. Scient. Hun.; 28 (2), 209-216 (1980).
11. M. Palyusik et al., Act. Vet. Ac. Scient. Hun.; 28 (2), 217-222 (1980).

Tabel 1. Overzicht zearalenongehalte en droge stofgehalte van Nederlandse snijmais

RIKILT nummer	HPLC (mg/kg)	GCMS confirmatie	% droge stof
45418	<0,005		27,6
45419	0,016-0,019		22,7
45420	<0,005		26,5
45421	0,065	+	31,3
45422	<0,005		21,8
45423	0,015-0,028		32,8
45424	0,37-3,0	+	27,9
45425	0,024-0,039		24,9
46711	<0,005		58,1
46712	<0,005		59,0
46713	0,029-0,50	+	56,2
46714	<0,005		62,2
46715	0,90		63,6
46716	0,013-0,027	+	57,7
46717	<0,005		33,9
46879	<0,005		60,1
46880	<0,005		59,8
46881	<0,005		61,5
46882	0,20		58,2
46883	<0,005		60,7
46884	<0,005		64,0
47204	<0,005		28,8
47205	<0,005		31,3
47206	<0,005		29,1
47207	<0,005		26,3
47208	<0,005		26,8
47209	<0,005		29,4
47210	0,052-0,35	+	34,2
47211	<0,005		28,8
47212	<0,005		33,2
47213	<0,005		32,4
47214	0,007-0,008		32,1
47215	<0,005		27,5
47216	<0,005		28,1
47217	<0,005		29,6
47218	<0,005		29,1
47219	<0,005		31,5
47220	<0,005		28,7
47221	<0,005		29,3
47222	<0,005-0,007		29,6
47223	<0,005		27,8
47224	<0,005		27,7
47225	<0,005		31,2
47226	<0,005		29,9
47227	<0,005		28,5

+ : confirmatie positief

Tabel 2. Recoveryresultaten van zearalenon toegevoegd aan snijmais (%)

RIKILT nr.: 46717

	A	B	C	D
	93	87	35	80
	73	87	35	80
	73	100	35	67
	73		38	
	80		35	
	87		32	
$\bar{x}$	80	91	35	76
s	8,5	7,5	1,9	7,5
VC	11	8	5	10

A = 10 g diepvriesmonster + 1500 ng zearalenon, direkt vriesdrogen, extraheren

B = 10 g diepvriesmonster + 1500 ng zearalenon, direkt extraheren

C = 10 g diepvriesmonster + 1500 ng zearalenon, 10 weken opslag bij -20°C, extraheren

D = 3,4 g gevriesdroogd monster + 1500 ng zearalenon, direkt extraheren

Tabel 3. Invloed van de bewaarmethode op het zearalenongehalte van een gevriesdroogd en een diepvriesmonster (snijmais)

RIKILT nr.: 45421

Diepvries (-20°C) µg/kg vers produkt	Vriesdrogen µg/kg vers produkt
44	62
36	40
52	46
42	50
34	54
22	52
$\bar{x}$ 38 µg/kg	51 µg/kg
s 10 µg/kg	7,4 µg/kg
VC 26%	15%

Bijlage 1. Identificatie CABO-monsters snijmais (proefveld Wageningen)

CABO: 641, objekt 03.

Veld	RIKILT
	<u>nummer</u>
2	45418
5	45419
10	45420
14	45421
18	45422
24	45423
26	45424
31	45425

Bijlage 2. Identificatie CABO-monsters snijmais (Minderhoudhoeve)

CABO, Minderhoudhoeve, Perceel 315.

Veldje	Code	RIKILT
		<u>nummer</u>
13	S ₁ GN ₁ (I)	47204
14	S ₃ GN ₄ (II)	47205
112	S ₃ GN ₁ (IV)	47206
11	S ₇ MN ₄ (I)	47207
33	S ₉ MN ₁ (I)	47208
137	S ₆ LN ₁ (IV)	47209
128	S ₆ LN ₄ (IV)	47210
125	S ₇ MN ₄ (IV)	47211
4	S ₁ GN ₄ (I)	47212
130	S ₃ GN ₄ (IV)	47213
7	S ₆ LN ₄ (I)	47214
124	S ₉ MN ₁ (IV)	47215
19	S ₄ LN ₁ (I)	47216
133	S ₉ MN ₄ (IV)	47217
20	S ₇ MN ₁ (I)	47218
15	S ₉ MN ₄ (I)	47219
116	S ₇ MN ₁ (IV)	47220
10	S ₄ LN ₄ (I)	47221
117	S ₁ GN ₄ (IV)	47222
111	S ₄ LN ₄ (IV)	47223
120	S ₄ LN ₁ (IV)	47224
126	S ₁ GN ₁ (IV)	47225
25	S ₆ LN ₁ (I)	47226
32	S ₃ GN ₁ (I)	47227

Bijlage 3. Code-tabel monsters Minderhoudhoeve

Systemen	1980	1981	1982	1983	
S ₁	G	G	G	T	
S ₂	Wt	G	G	O	
S ₃	M	Zt	G	E	
				T	
S ₄	L	L	L	S	
S ₅	Wt	L	L	G	op alle N-giften
S ₆	M	Zt	L	E	
				W	G = gras
S ₇	L/G	M	M	A	L = luzerne
S ₈	Wt	L/G	M	S	Wt = wintertarwe
S ₉	M	Zt	M		Zt = zomertarwe
					M = mais

N-TOEDIENINGEN

	kg ha ¹ jaar ⁻¹				Verd. in % over de sneden/stadia					
	N1	N2	N3	N4	1e	2e	3e	4e	5e	6e
S ₁ = gras	0	150	300	450	20	20	20	20	10	10
S ₂ = gras	0	150	300	450	20	20	20	20	10	10
S ₈ * = L/G			300	450	20	20	20	20	10	10
S ₄ = luzerne	0	150	300	450	33	33	33			
S ₅ = luzerne	0	150	300	450	33	33	33			
S ₈ * = L/G	0	150			33	33	33			
S ₇ = mais	0	75	150	225	100					
S ₃ , S ₆ , S ₉ = Zt	0	50	100	150	50 in het vj + 50 in stad 6 à 7					

* Frequentie van maaien en bemesten bij hoog N als bij gras,
bij laag N als bij luzerne

Bijlage 4. Identificatie PAGV-monsters snijmais

PAGV

			Ras	RIKILT
				<u>nummer</u>
1043	27	1983	LG-11	46711
1043	28	1983	Sanora	46712
1043	29	1983	Splenda	46713
1043	30	1983	LG-5	46714
1043	31	1983	Leader	46715
1043	32	1983	Anko	46716
Objekt P3, veldje 17-4				46717

- nrs. 46711 t/m 46716: hele maiskolven
- nr 46717: onrijpe kolf in schutblad
- nr 46715: perceel sterk omgewoeld, kolven lagen op de grond,
korrels begonnen te kiemen
- nr. 46717: grond gewoeld.

Algemeen ten aanzien van perceel: sterk verdroogd, laat geoogst.

Bijlage 5. Identificatie PAGV-monsters snijmais

PAGV

		Ras	RIKILT
			<u>nummer</u>
1044	- 1983	Splenda	46879
1044	- 1983	Anko	46880
1044	- 1983	LG-11*	46881
1044	- 1983	LG-11*	46882
1044	- 1983	Sanora	46883
1044	- 1983	Leader	46884

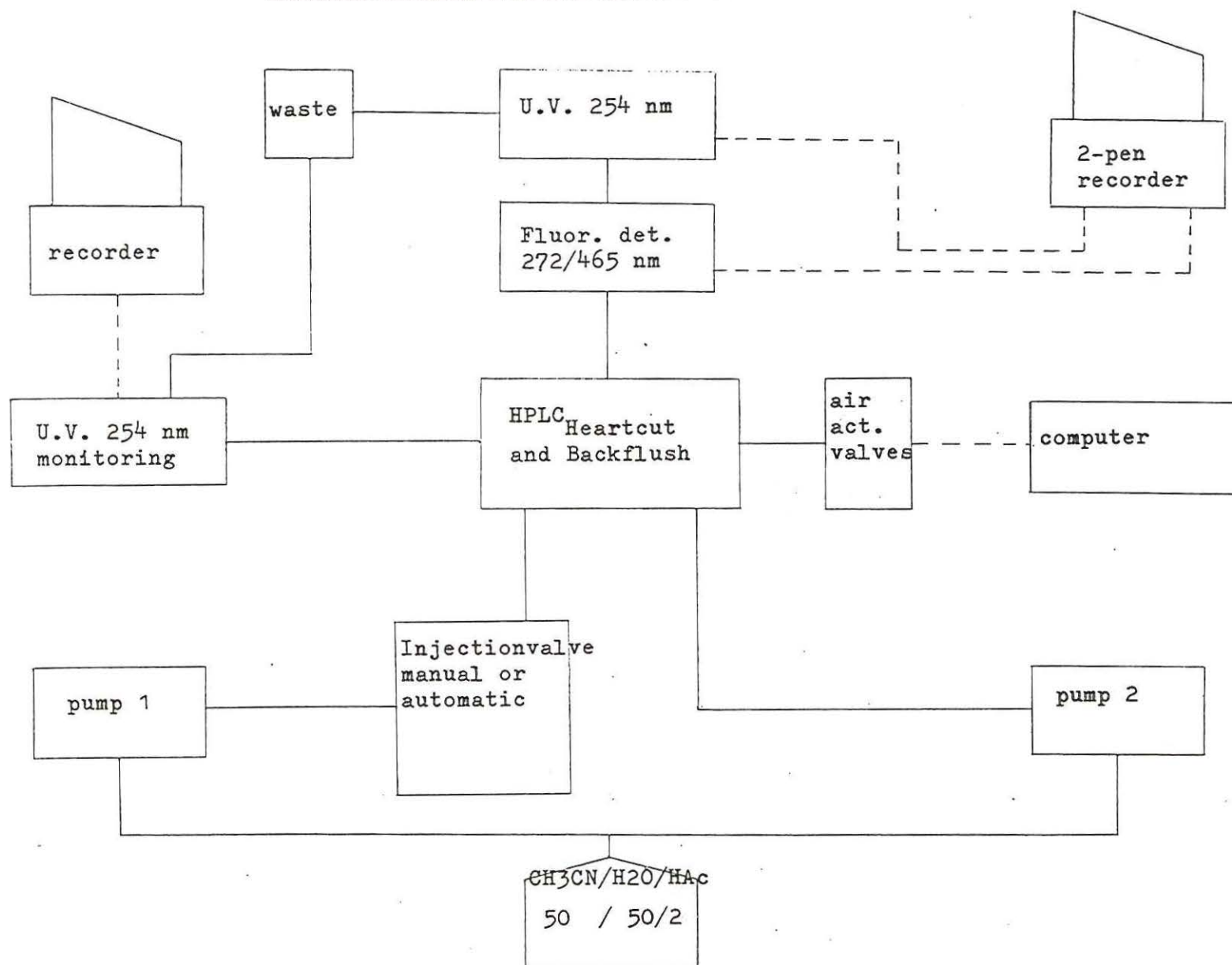
* Een van de LG-11 bleek later het ras LG-5 te zijn.

Door foutief opschrift op de monsterzak was dit niet te achterhalen.

De monsters werden aangevoerd in plastic zakjes à ca. 150 g op mais-
korrelgrootte.

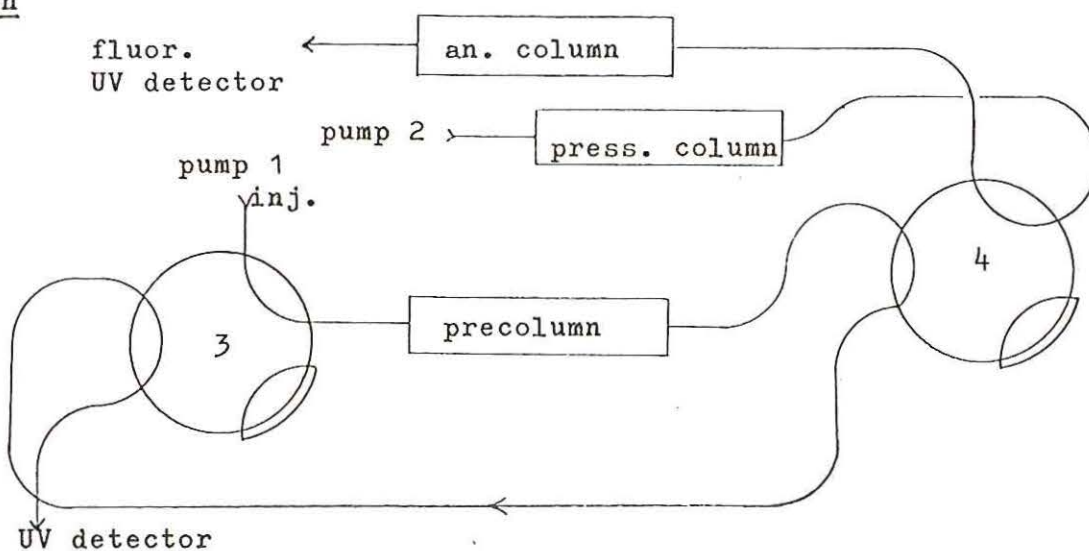
FLOWCHART ZEARALENONE HPLC/SYSTEM

figuur 1

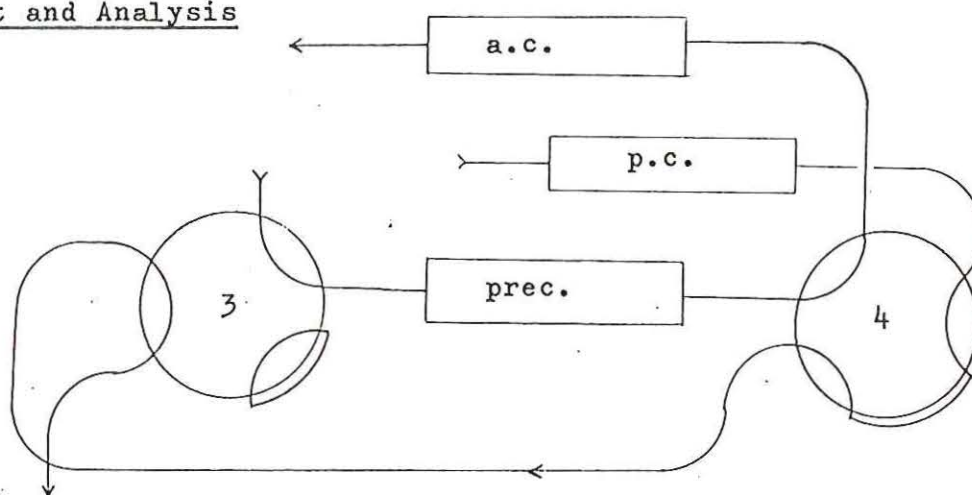


ZEARALENONE COLUMN SWITCHING
=====

figuur 2

Injection

Heartcut and Analysis



Backflush and Analysis

