

Bildungsbedingungen einiger carcinogener Mykotoxine

Reinhard Orth

Mitteilung aus der Bundesforschungsanstalt für Lebensmittelfrischhaltung, Karlsruhe* (BRD)

Eingegangen am 14. Dezember 1972

Conditions for the Production of some Carcinogenic Mycotoxins

Summary. The influences of temperature, humidity, time of cultivation, effects of pH-value, controlled atmospheric conditions, nutritional sources and the biological factors on the production of some carcinogenic mycotoxins as aflatoxin, sterigmatocystin, patulin and luteoskyrin are reported in a summary. The knowledge of these factors which influence the formation of toxic fungal metabolites, offers possibilities to avoid the growth of molds in food and feed or if there is no success, to create at least such conditions which do not allow the formation of mycotoxins. Processes to remove mycotoxins from food and feed and thereby to use them again, have little prospect to be successful in the future.

Zusammenfassung. Es wird in einer Übersicht dargestellt, welche Einflüsse (Temperatur, Feuchtigkeit, Kulturzeit, pH-Wert, kontrollierte atmosphärische Bedingungen, Nährstoffangebot und biologische Faktoren) auf die Bildung einiger carcinogener Mykotoxine wie Aflatoxin, Sterigmatocystin, Patulin und Luteoskyrin haben. Die Kenntnis dieser Faktoren, die die Mykotoxinbildung beeinflussen, bietet Möglichkeiten, das Schimmelpilzwachstum in Lebens- und Futtermitteln zu verhindern, oder wenn dies nicht gelingt, zumindest solche Bedingungen zu schaffen, bei denen keine Toxine entstehen können. Verfahren, Mykotoxine aus Lebens- und Futtermitteln zu entfernen und sie dadurch wieder verwertbar zu machen, hatten in der Praxis bisher wenig Aussicht auf Erfolg.

Einleitung

Durch zahlreiche Arbeiten wissen wir, daß das Vorkommen von Mykotoxinen in landwirtschaftlichen Produkten aufgrund ihrer toxischen und zusätzlich oft carcinogenen Wirkung eine potentielle Gefahr für die Gesundheit von Mensch und Tier darstellt. Damit man solche durch Schimmelbefall kontaminierten Produkte nicht immer vernichten muß, hat man zahlreiche Verfahren zur Entgiftung, besonders aflatoxinhaltiger Lebensmittel, entwickelt. Bisher hat keines praktische Bedeutung erlangt, da die Wirksamkeit oft nicht ausreichte. Erhielt man ein toxinfreies Endprodukt, so war die sensorische und physiologische Qualität des Ausgangsproduktes so beeinträchtigt worden, daß es die Marktfähigkeit verlor. Deshalb muß man versuchen, Pilzwachstum und damit eine mögliche Entstehung von Mykotoxinen zu verhindern, indem man die Ökologie der einzelnen Pilze erforscht.

Es soll hier daher der Einfluß der ökologischen Faktoren auf die Bildung einiger krebsregender Mykotoxine wie Aflatoxin, Sterigmatocystin, Patulin und Luteoskyrin näher erläutert werden. Zu diesen carcinogenen Mykotoxinen sind in neuester Zeit noch vier weitere hinzugekommen, die hier der Vollständigkeit wegen erwähnt werden: Penicillinsäure, Cyclopiazonsäure und zwei noch unbekannte Substanzen von *Penicillium camemberti* [4] und *Fusarium sporotrichioides* [5] (Tab. 1).

Die Bildungsbedingungen für Aflatoxin sind schon gut untersucht [6—9]. Für die übrigen erwähnten Mykotoxine liegen nur wenig Angaben vor. Da jedes der vier hier angesprochenen carcinogenen Mykotoxine von verschiedenen Schimmelpilzarten bzw. einer Vielzahl von Pilzstämmen gebildet werden kann, sind die Bildungsbedingungen eines bestimmten Toxins oft nicht pauschal für die einzelnen ökologischen Faktoren anzugeben.

I. Temperaturabhängigkeit

Aflatoxinbildner wachsen im allgemeinen in einem Temperaturbereich von 10 bis 42° C. Jedoch gibt es Stämme, die auch bei 4° C und 50° C noch schwaches Wachstum zeigen. Die untere Grenze für die Aflatoxinbildung liegt bei 5—12° C, die obere je nach Pilzstamm bei 37—40° C (Tab. 2). Wie Tab. 2 zeigt, wird bis 30° C mehr Aflatoxin G₁ als B₁ gebildet, während über 30° C die B₁-Komponente überwiegt.

Sterigmatocystinbildner entwickeln sich bei Temperaturen von 4—40° C und bilden zwischen 15° und 30° C Toxin [11].

* Wir danken der DFG für Unterstützung der Arbeiten über Bildungsbedingungen von Mykotoxinen.

Die *Patulin-* und *Luteoskyrinbildner* entwickeln sich in der Regel in einem weiten Temperaturbereich, ohne besondere Ansprüche an das Substrat zu stellen. Unter ihnen können sich auch ausgesprochen psychrotolerante Stämme befinden, die zur normalen Kühlschrankflora zu rechnen sind. Patulinbildner wachsen zwischen 3° und 42° C und können aufgrund eigener Untersuchungen zwischen 15° und 32° C Toxin bilden. In Apfelsaft konnte auch noch nach Lagerung bei 37° und 40° C Patulin nachgewiesen werden. Für das Wachstum von *P. islandicum* (Luteoskyrin) liegen Temperaturangaben zwischen 10° und 38° C vor. Bisher wurde gute Toxinbildung nur bei Zimmertemperatur beschrieben [15].

Tabelle 1. Bisher bekannte carcinogene Mykotoxine

Mykotoxin	Pilz	Lit.
Aflatoxin	<i>Aspergillus flavus</i> <i>A. parasiticus</i>	[1]
Patulin	<i>Penicillium expansum</i> <i>P. urticae</i> <i>Byssosclamyces fulva</i> <i>B. nivea</i> u. a.	[1]
Sterigmatocystin	<i>A. versicolor</i> , <i>A. nidulans</i> <i>Bipolaris</i> sp. = (<i>Helminthosporium</i>)	[1]
Luteoskyrin	<i>P. islandicum</i>	[1]
Penicillinsäure	<i>P. cyclopium</i> , <i>P. puberulum</i>	[2]
Cyclopiazonsäure	<i>P. cyclopium</i>	[3]
?	<i>P. camemberti</i> var. <i>candidum</i> III C 3	[4]
?	<i>Fusarium sporotrichioides</i>	[5]

Tabelle 2. Aflatoxinbildung von *Aspergillus flavus* in sterilen, reifen Erdnüssen bei 99% rel. Feuchtigkeit nach 21 Tagen (nach Davis u. Diener [10])

Temperatur °C	Aflatoxine in µg/g		Verhältnis B ₁ :G ₁
	B ₁	G ₁	
12	0	0	—
14	1,7	1,4	1,2
15	6,9	17,6	0,4
20	84,2	213,3	0,4
25	83,3	159,9	0,5
30	94,9	106,6	0,9
35	126,6	53,3	2,4
40	2,5	1,0	2,5
43	a	a	a

a Spuren oder weniger als 1 µg/kg.

Tabelle 3. Feuchtigkeitsansprüche einiger Mykotoxinbildner (nach H. K. Frank 1973 [19])

Art	Substrat	% Feuchte	Lit.
<i>Aspergillus flavus</i>	Getreide	18	[12]
<i>A. terreus</i>	Mais	15	[12]
<i>versicolor</i>	Futtermittel		
<i>tamaritii</i>			
<i>fumigatus</i>			
<i>Penicillium islandicum</i>	Reis	22	[8]

II. Feuchtigkeit

Der Wassergehalt des Substrates ist ein weiterer bedeutender Faktor für das Pilzwachstum und die Toxinproduktion. Dabei ist die Feuchtigkeit direkt an der Oberfläche des Gutes, an der die Pilzsporen in einem Mikroklima leben ausschlaggebend. Dieser Wassergehalt läßt sich sinnvoll nur durch den a_w -Wert ausdrücken, was allerdings die Kenntnis der Sorptionsisothermen der einzelnen Substrate (besonders für Schüttgüter) voraussetzt. Für *A. flavus* liegen die Optimums- und Grenzwerte für Wachstum zwischen 0,98 und 0,78 a_w , für den Luteoskyrinbildner zwischen 0,79 und 0,83 a_w [8]. Der a_w -Grenzwert für die Aflatoxinbildung in unreif geernteten Erdnüssen wird mit 0,83 angegeben [8].

Wenn man über die Feuchtigkeitsansprüche von Pilzen Angaben machen will, muß zwischen dem Substratwassergehalt, der zur Keimung der Sporen oder Konidien nötig ist und demjenigen, der für das Mycelwachstum erforderlich ist, unterschieden werden. Bisher wurden in dieser Hinsicht selten differenzierte Angaben zusammengestellt, sondern nur pauschale Aussagen in Form der prozentualen Feuchtigkeit oder des a_w -Wertes gemacht, was vielfach zu ungenau ist.

In Tab. 3 sind die Feuchtigkeitsansprüche der Aflatoxin-, Sterigmatocystin- und Luteoskyrin-Bildner an das Substrat aufgeführt. Für die Aflatoxinbildung auf Erdnüssen wird ein relativer Feuchtigkeitsbereich von 84–99% bei einem Substratwassergehalt >10% [10] angegeben. Für die übrigen hier angesprochenen Mykotoxine, werden sich sicher ähnliche Werte ergeben. Einzelwerte sind noch nicht verfügbar.

III. Zeitfaktor der Toxinbildung

Die Toxinbildung in Abhängigkeit von der Zeit variiert stark je nach Pilzstamm, Nährboden und Temperatur. Wird *Aflatoxin* im Fermenter produziert, so kann nach Ciegler [13] der Toxingehalt bei 30° C schon nach 3–4 Tagen optimal sein. Bei ab-sinkenden Temperaturen dauert die optimale Toxinbildung länger: bei 24° C 4 bis 7 Tage, oder bei 20° C beispielsweise 15 Tage. Außerdem spielt hierbei der verwertbare Kohlenhydratanteil in einem Substrat eine wesentliche Rolle.

Bei *A. flavus*-Stämmen kann die Aflatoxinbildung, wie sie in Abb. 1 [14] auf Erdnüssen und Kokosnüssen dargestellt ist, in einem bestimmten Zeitraum in mehreren Phasen verlaufen, d. h. sie kann in einem Produkt mehrere Höhepunkte erreichen und

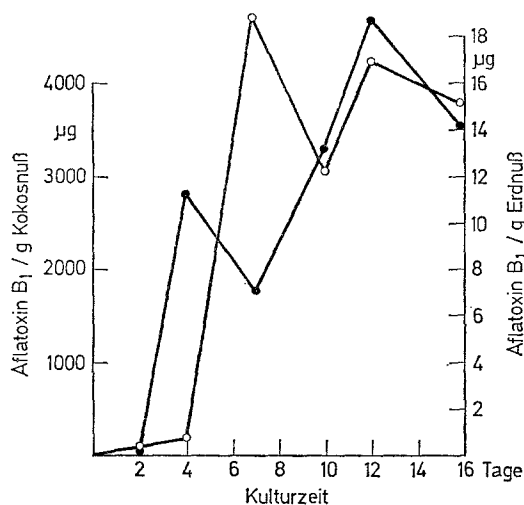


Abb. 1. Änderung des Aflatoxingehaltes von *A. flavus*-Kulturen (24° C) auf Erdnüssen (●) und Kokosnüssen (○) in Abhängigkeit von der Zeit (nach Arseculeratne u. a. [14])

nach jedem Toxinmaximum in kurzer Zeit mehr oder weniger stark abnehmen, um dann wieder anzusteigen. Diese abnehmenden und zunehmenden Aflatoxinbildungsphasen scheinen nach Ciegler [13] keine Eigenschaften der Pilzstämmen zu sein, sondern vielmehr vom Nährmedium, den Kulturbedingungen und der Größe des Inoculums abzuhängen. Zum Beispiel gibt es Stämme, die auf festen Substraten biphasisch und in Nährlösungen monophasisch Aflatoxin bilden. Ebenso können *A. flavus*-Stämme unterschiedliche Aflatoxin B₁ und G₁ Bildungsphasen zeigen. Dabei verläuft die Bildung von Aflatoxin B₁ und G₁ entweder in gleichen Phasen und Mengen, oder die B₁-Komponente weist eine monophasische und G₁ eine biphasische Toxinbildung während einer bestimmten Kulturzeit auf. Diese Tatsachen spielen sicher für den Zeitpunkt der Probenentnahme zur Toxinbestimmung eine wesentliche Rolle, da aufgrund der mehrphasischen Aflatoxinbildung je nach der Dauer der Pilzentwicklung der Toxingehalt recht unterschiedlich ausfallen kann.

Die *Sterigmatocystin*-Bildung auf Mais ist nach 4–7 Tagen bei der Optimaltemperatur von 26° C nachweisbar und erreicht nach 14–21 Tagen ein Maximum, das nach bisherigen Untersuchungen längere Zeit konstant bleibt [11]. Es konnte im Gegensatz zu Patulin und Aflatoxin nie eine Diffusion des Toxins in das Substrat beobachtet werden. Das Toxin blieb auch nach 3 Wochen noch im Mycel als Endotoxin gespeichert.

Zur *Patulin*-Bildung reichen bei 25° C schon 6–8 Tage aus, um im Fermenter Maximalmengen anzureichern. Auf Obst und Obstprodukten wurden nach 14 Tagen beachtliche Mengen Patulin nachgewiesen.

Für *Luteoskyrin* liegt die Zeit für das Erreichen eines Toxinoptimums auf Fruchtsäften bei 21–28 Tagen [15].

IV. Einfluß des pH-Wertes

Aflatoxinbildung ist in einem pH-Bereich von 2,5–8 beschrieben worden [16]. Im Verlauf der Toxinbildung kann es zunächst zu einem leichten pH-Abfall (Säurebildung) kommen, der dann allmählich wieder ansteigt. Ein unmittelbarer und wesentlicher Einfluß von pH-Schwankungen auf die Aflatoxinbildung ist nicht gegeben. Nach eigenen Untersuchungen ist die Patulinbildung in einem pH-Bereich von 3–6,5 in Obstprodukten möglich. In Czapek-Nährlösung konnte eine *Sterigmatocystin*-bildung im pH-Bereich von 2,9–8 beobachtet werden.

V. Ansprüche an die Atmosphäre

Über den O₂-Bedarf für die Bildung von Mykotoxinen liegen bisher noch wenig Erfahrungen vor. Bei folienverpacktem Schnittbrot konnte bei intakter Verpackung nur geringes Wachstum von *A. flavus* beobachtet werden, ohne daß Aflatoxine gebildet worden wären. Nach Sauerstoffzutritt wurde aber schon 4 Std später ein gut nachweisbarer Aflatoxingehalt festgestellt. Diener u. Davis [10] haben für die Lagerung von Erdnüssen in kontrollierter Atmosphäre wertvolle Daten für die Aflatoxinbildung erarbeitet. Sie konnten bei 30° C bemerkenswerte Aflatoxinabnahmen beobachten, wenn die CO₂-Konzentration in der Luft auf 20% anstieg. Wurde die Temperatur gesenkt, so genügten bei 15° C schon 20% CO₂ und 5% O₂, um die Aflatoxinbildung auf Erdnüssen zu verhindern. Augenblicklich wird in eigenen Untersuchungen das Verhalten von *Sterigmatocystin*- und *Patulin*bildnern unter dem Einfluß der kontrollierten Atmosphäre studiert. *P. expansum*, ein auf Kern- und Steinobst verbreiteter *Patulin*bildner, läßt sich aufgrund von Erfahrungen, die wir hier gemacht haben, ziemlich sicher bei 2–3% O₂ und 2–5% CO₂ auf Äpfeln und Birnen vermeiden.

VI. Einfluß des Nährstoffangebotes

Die verschiedenartigen Komponenten, aus denen sich Lebens- und Futtermittel zusammensetzen können, bewirken, daß der Gesamtingehalt in einem Substrat zwischen sehr weiten Grenzen schwanken kann.

In Getreideprodukten, Futtermitteln und Samen ist sehr häufig Aflatoxin-, aber auch Sterigmatocystin- und Patulinbildung festzustellen.

Hohe Aflatoxinkonzentrationen können auch in tierischen Produkten (Fleisch- und Wurstwaren) vorkommen. Patulinbildung war hier bisher nur in geringen Mengen nachgewiesen worden, da Patulin in diesen Substraten durch SH-Gruppen-haltige Substanzen entgiftet wird [30]. Über Sterigmatocystin liegen diesbezüglich noch keine Angaben vor.

Auf Substraten mit hohem osmotischen Wert (>60% Zucker), wie Haushaltsmarmeladen, wuchsen Aflatoxin-, Sterigmatocystin-, Luteoskyrin- und Patulinbildner nicht. Bei Saccharosegehalten von 50% im Substrat war eine Aflatoxinbildung noch möglich.

Aus Versuchen mit halbsynthetischen Nährmedien weiß man, daß sich verschiedene C- und N-Quellen sowie einige Spurenelemente fördernd bzw. hemmend auf die Toxinbildung auswirken können [6, 8, 17]. Von den C-Quellen stimulieren Glucose, Fructose und Saccharose die Aflatoxinbildung, während sich Lactose hemmend auswirkt. Für die Patulinbildung wirken sich Glucose und Maltose fördernd aus. Von den N-Quellen begünstigen NH_4^+ -Ionen, Pepton, Hefeextrakt, Corn steep Lösung sowie Glycin und Glutaminsäure die Aflatoxinbildung, dagegen können NO_3^- -Ionen, Alanin, Leucin, Methionin die Toxinbildung stark herabsetzen. Mg und Zn sind als Spurenelemente notwendig für eine Aflatoxin- und Sterigmatocystinbildung; Fe und Mo verstärken die Aflatoxinbildung und Cu, Mn und Ba verringern sie.

Shih u. Marth [29] konnten in einer Nährlösung, der 1–3% NaCl zugesetzt wurde nach 7 Tagen bei 21° C, 28° C und 35° C eine Erhöhung des Aflatoxingehaltes bei *A. flavus*- und *A. parasiticus*-Kulturen beobachten. Bei dem Zusatz von 1% NaCl war die Aflatoxinbildung optimal und besser als bei 0%. Höhere NaCl-Konzentrationen reduzierten die Toxinbildung. Ab 14% NaCl-Zusatz wurde das Wachstum und die Toxinbildung beider Pilzspecies verhindert. Niedrige NaCl-Konzentrationen bewirkten eine verstärkte Toxinabgabe aus dem Pilzmycel in die Nährlösung, während hohe Konzentrationen die Toxinabgabe unterdrückten.

Die Aflatoxine B_1 und G_1 werden auf verschiedenen Lebensmitteln je nach Pilzstamm und Substrat in stark unterschiedlichen Verhältnissen gebildet [18]. So wurde beispielsweise auf Paprikapulver, Landjäger, Kartoffelmehl und Kork nur Aflatoxin G_1 von einem sonst B_1 und G_1 bildenden *A. flavus*-Stamm produziert. Auf schwarzem Tee, Gelatine, Puddingpulver war trotz Wachstum verschiedener toxischer Stämme kein Aflatoxin nachweisbar.

Gute Patulinbildung kann auf Äpfeln und Birnen, sowie Apfelsaft und verschiedenen Kompottsorten erfolgen. Luteoskyrinbildung wurde von Rehm [15] vorwiegend in Apfel- und Traubensaft beobachtet und weniger in fetthaltigen Lebensmitteln.

VII. Biologische Faktoren

Die Verbreitung von toxinogenen und nicht-toxinogenen *A. flavus*-, *A. versicolor*- und *P. expansum*-Stämmen ist je nach Herkunft der Proben unterschiedlich (Tab. 4). Die Übersicht in Tab. 4 zeigt, daß toxinogene *A. flavus*-Stämme häufiger auf Produkten aus warmen Klimazonen anzutreffen sind.

Die Toxinbildung hängt nicht nur von den bisher erwähnten ökologischen Faktoren ab, sondern auch von der genetisch bedingten Verschiedenartigkeit jeder Pilzart und jedes Pilzstammes. Es kommen „Hochleistungsstämme“ vor und solche, deren gebildete Toxinmenge gerade die Nachweisgrenze erreicht. Es gibt also einen gleitenden Übergang von Toxin-positiven zu -negativen Stämmen. Nicht jeder potentielle Toxinbildner ist zur Toxinsynthese fähig. Bei den Aflatoxinbildnern gibt es Stämme, die ihr eigenes Toxin biologisch abbauen können und solche, die zwar nicht toxisch sind, aber dieselbe Fähigkeit besitzen [8]. Die Bildung der einzelnen Aflatoxin-komponenten B, G, M ist ebenfalls außer vom Substrat und der Temperatur, primär

Tabelle 4. Verteilung von toxinogenen und nicht-toxinogenen Mykotoxinbildnern (Aflatoxin, Sterigmatocystin, Patulin) in verschiedenen Gegenden (verändert nach H. K. Frank 1973 [19])

Art	Herkunft	toxisch	nicht toxisch	Lit.
<i>Aspergillus flavus</i> (Aflatoxin)	Reis (USA)	auf Reis kultiviert 268 (94%)	16	[20]
		auf Erdnüssen kultiviert 259 (91%)	25	
	Erdnüsse u. Böden in Erdnußfeldern (Israel)	1457 (90%)	169	[21]
	schwarzer Pfeffer	6 (60%)	4	[22]
	Paprika (USA)	3 (60%)	2	[22]
	Mais (USA)	26 (60%)	17	[23]
	Sojabohnen (USA)	6 (55%)	5	[24]
	Mais (USA)	10 (37%)	17	[25]
	QM-Sammlung	26 (28%)	67	[26]
	schwarzer Pfeffer	1 (10%)	9	[22]
	<i>A. parasiticus</i> (Aflatoxin)	Weizen (BRD)	1 (9%)	10
QM-Sammlung		4 (100%)	0	[26]
<i>A. versicolor</i> (Sterigmatocystin)	Mischgewürz (tropisch)	37 (59%)	26	Orth, unver- öffentlicht
	Haustierkot (BRD)	4 (40%)	6	Orth, unver- öffentlicht
	Fleisch und Wurstwaren (BRD)	4 (29%)	10	Orth, unver- öffentlicht
	Reis (Japan)	18 (31%)	40	[28]
<i>Penicillium expansum</i> (Patulin)	Äpfel	11 (50%)	11	Frank, pers. Mitteilung

vom jeweiligen Pilzstamm abhängig. Es können 4 verschiedene Typen von Aflatoxinbildnern unterschieden werden. Solche, die B-G-M-, B-G-, B-M- oder nur B-Aflatoxine bilden.

Bei gemeinsamem Wachstum mehrerer Schimmelpilze auf dem gleichen Substrat, kann es zu Wechselwirkungen der Pilze untereinander kommen. So ist eine synergistische Steigerung des Aflatoxingehaltes in einem Substrat möglich, da 2 oder mehr Aflatoxinbildner zusammen mehr Toxin bilden können als jeder Stamm allein. Andererseits kann solches kompetitives Wachstum auch zu geringeren Ausbeuten in einer *A. flavus*-Kultur führen, wenn Pilze wie beispielsweise *Scopulariopsis brevicaulis* oder *Rhizopus oryzae* anwesend sind. Sie bauen entweder Aflatoxin ab, so daß das Substrat detoxifiziert wird, oder sie hemmen die Toxinbildung [8].

Schlußbetrachtung

Erst wenn mehr über die Ökologie toxinogener Pilze bekannt ist, wird es möglich sein, gezielte Maßnahmen zu treffen, um das Wachstum der Mykotoxinbildner und damit eine Toxinbildung auf Lebens- und Futtermittel zu verhindern. Unabhängig davon hat man heute durch Trockeneinrichtungen, Läger mit kontrollierter Atmosphäre, wärmeisolierte Futtersilos und durch ein hohes Maß an Betriebshygiene bei Verarbeitung und Transport erfolgversprechende Präventivmaßnahmen zur Hand, um die Kontamination der verschiedenen Produkte möglichst gering zu halten [19]. Hierbei spielt auch die Vernichtung von Lagerschädlingen unter den Insekten eine wesentliche Rolle, weil sie mit dazu beitragen, Pilzsporen auf dem Lagergut zu verbreiten und durch ihre Fraßgänge Getreide durch Verletzung der Samenschale für eine Pilzentwicklung empfänglicher zu machen.

Literatur

1. Schmähl, D.: Maligne Tumoren. Aulendorf: Editio Cantor KG, 1970.
2. Turner, W. B.: Fungal metabolites. London and New York: Academic Press 1971.
3. Purchase, I. F. H.: Toxicol. Appl. Pharmacol. 18, 114 (1972).
4. Gibel, W., Wegner, K., Wildner, G. P.: Arch. Geschulstforsch. 38, 1 (1971).

5. Akhmeteli, M. A., Linnik, A. B., Cernov, K. S., Voronin, V. M., Sabad, L. M., Vortrag: IUPAC-Symposium "Control of Mycotoxins", Kungälv (Göteborg), Sweden, Aug. 21—22, 1972.
6. Davis, N. D., Diener, U. L., Agnihotri, V. P.: *Mycopathol. Mycol. Appl.* **31**, 251 (1967).
7. Frank, H. K.: *Planta Medica, Suppl.*, 64 (1968).
8. Jarvis, B.: *J. Appl. Bacteriol.* **34**, 199 (1971).
9. Moreau, Cl.: *Moisissures toxiques dans l'alimentation*. Paris: L. Lechevalier, 1968.
10. Davis, N. D., Diener, U. L.: In: Herzberg, M., *Proceedings of the first U.S.-Japan conference on toxic micro-organisms, mycotoxins, botulism*; Honolulu, Hawaii, October 7—10, 1968. Washington, D.C.: U.S. Dep. of the Interior 1970. S. 43.
11. Orth, R.: *Untersuchungen über die Bildung von Sterigmatocystin bei Aspergillus versicolor (Vuillemin) Tiraboschi*. Diplomarbeit Univ. Heidelberg 1971.
12. Christensen, C. M.: *Getreide Mehl* **12**, 78 (1962).
13. Ciegler, A., Peterson, R. E., Lagoda, A. A., Hall, H. H.: *Appl. Microbiol.* **14**, 934 (1966).
14. Arseculeratne, S. N., Bandunatha, C. H. S. R.: *J. Appl. Bacteriol.* **35**, 43 (1972).
15. Rehm, H.-J., Schmidt, J.: *Zentr. Bakteriол. Parasitenk. Abt. II* **126**, 382 (1971).
16. Goldblatt, L. A.: *Aflatoxin*. London and New York: Academic Press 1969.
17. Senser, F.: *Lebensmittelchem. gerichtl. Chem.* **23**, 210 (1969).
18. Frank, H. K.: *Arch. Lebensmittelhyg.* **17**, 237 (1966).
19. — *Dermatol. Wochschr. im Druck* (1973).
20. Schroeder, H. W.: In: Herzberg, M., *Proceedings of the first U.S.-Japan conference on toxic micro-organisms, mycotoxins, botulism*; Honolulu, Hawaii, October 7—10, 1968. Washington, D.C.: U.S. Dep. of the Interior 1970. S. 56.
21. Joffe, A. Z.: *Nature* **221**, 492 (1969).
22. Christensen, C. M., Fansie, H. A., Nelson, G. H., Bates, F., Mirocha, C. J.: *Appl. Microbiol.* **15**, 622 (1967).
23. Kulik, M. M., Holaday, Ch. E.: *Mycopathol. Mycol. Appl.* **30**, 137 (1967).
24. Howell, R. W.: In: Herzberg, M., *Siehe Lit.-Zit. Nr. 20*, S. 61.
25. Trenk, H. L., Hartmann, P. A.: *Bacteriol. Proc.* 1968, ASM, Detroit.
26. Parrish, F. W., Wiley, B. J., Simmons, E. G., Long, jr. L.: *Appl. Microbiol.* **14**, 139 (1966).
27. Frank, H. K.: *Therapiewoche* **18**, 1172 (1968).
28. Miyaki, K., Yamazaki, M., Horie, Y., Udagawa, S.: *J. Food Hyg. Soc. Japan* **11**, 373 (1970).
29. Shih, C. N., Marth, E. H.: *J. Dairy Sci.* **55**, 1415 (1972).
30. Hofmann, K., Mintzlaff, H.-J., Alperden, I., Leistner, L.: *Fleischwirtschaft* **51**, 1534 (1971).

Dipl. Biol. Reinhard Orth
 Bundesforschungsanstalt für
 Lebensmittelrisikohaltung
 D-7500 Karlsruhe 1
 Engesserstr. 20
 Bundesrepublik Deutschland