

Ansätze zum mikrobiellen Abbau von Mykotoxinen

P. Färber, R. Geisen, D. Teniola, P. Addo, W. H. Holzapfel¹

Als Produkte des Sekundärmetabolismus filamentöser Pilze sind Mykotoxine in Form von Rückständen auf verschiedenen Produktgruppen von Lebens- und Futtermitteln zu finden. Je nach Mykotoxin und Konzentration der Belastung können sie zu unterschiedlichen toxischen Wirkungen bei Mensch und Tier führen, diese reichen von allgemeintoxischen bis hin zu hormonähnlichen und immunsuppressiven Effekten, sowie auch von genotoxischen bis hin zu kanzerogenen Wirkungen. Sind Mykotoxine wie Ochratoxin A (OTA), Deoxynivalenol (DON) und Zearalenon (ZEA) eher typisch für die gemäßigten Klimazonen Europas und Nordamerikas, so sind für die Tropen und Subtropen vor allem die Aflatoxine (besonders Aflatoxin B₁; AFB₁) und die Fumonisine von Bedeutung. Dennoch wird OTA auch in den Tropen und Subtropen gefunden, hier wird es jedoch von anderen Schimmelpilz-Arten, nämlich Spezies der Gattung *Aspergillus* (im Gegensatz zu Spezies der Gattung *Penicillium* in den gemäßigten Klimazonen) gebildet.

Aflatoxin B₁ (AFB₁) ist eines der potentesten, natürlich vorkommenden Mutagene und Kanzerogene; es wird häufig in Lebens- und Futtermitteln aus tropischen und subtropischen Gebieten gefunden. Häufig belastete Lebensmittel sind z.B. Erdnüsse und Erdnussbutter, Mehle verschiedenen Ursprungs, Sojabohnen, Mehl aus Baumwollsamens, Sorghum, Hirse, Mais, sowie auch Gewürze (Ciegler et al., 1966; Nwokolo and Okonkwo, 1978; Salifu, 1981; Hao and Brackett, 1988; Hudson et al., 1992). Die Belastung von Lebensmitteln mit AFB₁ ist in Afrika keine Seltenheit, sie stellt für Mensch und Tier ein erhebliches Gesundheitsrisiko dar. In den vorliegenden Untersuchungen wurden daher Möglichkeiten zum biologischen Abbau bzw. zur Detoxifizierung unter Einsatz ausgewählter Bakterienstämme gesucht. Dabei wurden Mykotoxine wie AFB₁, OTA, ZEA und Patulin, die sowohl für Europa als auch die Entwicklungsländer von Bedeutung sind, einbezogen. Ein wesentlicher Ansatzpunkt bei diesen Untersuchungen war eine unter sensorischen Aspekten akzeptable, schonende Methode zu finden, die eine sichere Detoxifizierung ermöglicht und gleichzeitig ein für den Verbraucher noch genießbares Erzeugnis liefert. Dazu bieten die traditionellen Lebensmittelfermentationen, wie sie seit Jahrhunderten in Afrika praktiziert werden, interessante und auch praktikable Lösungsansätze (Holzapfel, 1997; 2002).

Eine Detoxifizierung von AFB₁ und anderen Mykotoxinen ist entweder über physikalische oder chemische Verfahren möglich, jedoch mit solch drastischen Effekten auf die Sensorik der Lebensmittel, dass das Produkt meist für den Menschen nicht mehr genießbar ist. Daher wird heute der Akzent eher auf die Möglichkeiten eines biologischen Abbaus gesetzt (Nkana, 1987; Park, 1993; Samarajeewa et al., 1990; Philips et al., 1994). Bisherige mikrobiologische Untersuchungen haben recht wenig Aussicht auf Erfolg gezeigt. Die in Versuchen von El-Nezami et al. (1998) erkannte Reduktion der AFB₁-Konzentration ist jedoch nach heutigem Kenntnisstand eher auf eine Adsorption und/oder Desorption sowohl an die Zellwände der in diesen Versuchen eingesetzten Bakterien als auch den Inhaltsstoffen der Lebensmittel selber (z.B. Zellulose, Proteine u.a.) zurückzuführen. Für einen bisher in der Literatur als *Flavobacterium aurantiacum* bezeichneten Stamm konnte jedoch die deutliche Fähigkeit zum Abbau von AFB₁ bestätigt, und der Stamm als *Nocardia corynebacterioides* reklassifiziert und mittlerweile unter der DSM-Nr. 12606 hinterlegt werden (Holzapfel et al., Manuskript in Vorbereitung). Die einem entsprechenden EU-Projekt (Titel: „Biological degradation of AFB₁ in fermented maize and sorghum products“) zugrunde liegenden Arbeiten wurden durchgeführt, um für vier Bakterien-Stämme, einschließlich *Rhodococcus erythropolis* und die neue Spezies *Mycobacterium fluoranthenicum* sp. nov. (Manuskript in Vorbereitung), Informationen über den Abbau von AFB₁ zu gewinnen. Zu diesem Zweck wurden von diesen Stämmen mit Hilfe einer Zelmühle (French Press) und sich daran anschließenden Aufarbeitungsschritten zellfreie Protein-Rohextrakte hergestellt. Das Ziel dabei war es, für die unter standardisierten Bedingungen gewachsenen Bakterien die Fähigkeit zum Abbau von AFB₁ und anderen Mykotoxinen nachzuweisen. Darüber hinaus wurde die optimale Temperatur und die Reaktionskinetik der Abbaureaktion untersucht und bestimmt. Das letztendliche Ziel dieser Forschungen ist es, einen Beitrag zur Erhöhung der Sicherheit afrikanischer Lebens- und Futtermittel zu leisten. Dazu soll der biologische Abbau der Mykotoxine an den traditionellen Prozeß der Lebensmittel-Fermentation angepasst werden.

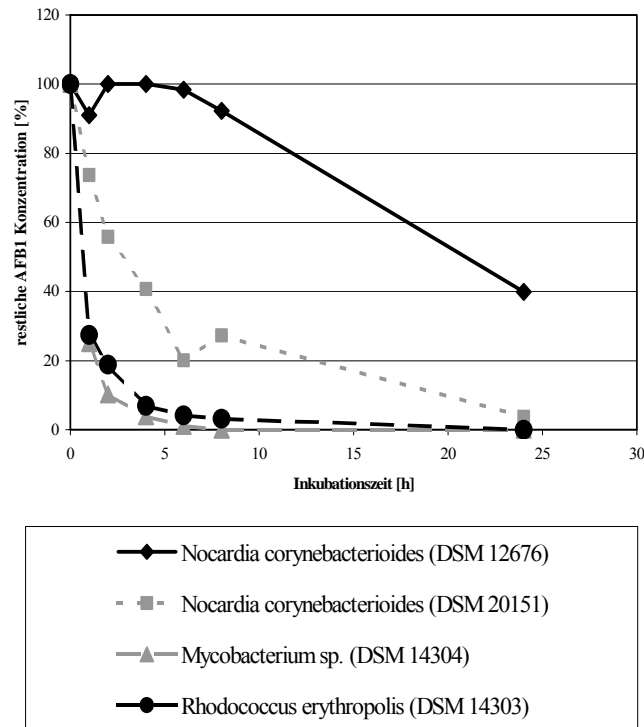
In Abbildung 1 wird die Abbaukinetik von AFB₁ für zellfreie Extrakte von 4 Stämmen dargestellt. Im Vergleich zu dem bisher in der Literatur zitierten „*Flavobacterium aurantiacum*“-Stamm (jetzt *Nocardia corynebacterioides* DSM 12676) und einem authentischen *Nocardia corynebacterioides*-Stamm (DSM 20151), zeigten die zwei neuen Stämme (*Rhodococcus erythropolis* DSM 14303 und *Mycobacterium* sp. DSM 14304) einen sehr raschen > 95%igen Abbau innerhalb von 3-5 Stunden. Die letzteren zwei Stämme sind bei der DSM

¹ Institut für Hygiene und Toxikologie, Bundesforschungsanstalt für Ernährung, Haid-und-Neu-Str. 9, 76131 Karlsruhe (im Forschungsverbund Produkt- und Ernährungsforschung), E-Mail: wilhelm.holzapfel@bfe.uni-karlsruhe.de

hinterlegt, und diese Erfindung als Patent unter dem Titel: „Actinomyceten zum Abbau von Aflatoxin B₁, Ochratoxin A und/oder Zearalenon“ angemeldet (Offenlegungsschrift DE 101 30 024 A1; Internationale Patentanmeldung Nr. PCT/EP02/05966). Wie im Titel angedeutet, wurde ein Abbau auch für Zearalenon und (bedingt) auch für OTA festgestellt.

Eine Herausforderung besteht jetzt darin, die Möglichkeiten, die die beiden hinterlegten Stämme (*Rhodococcus erythropolis* DSM 14303 und *Mycobacterium* sp. DSM 14304) bieten, weiter zu entwickeln und auf die *in situ*-Situation anzuwenden.

Abbildung 1: Kinetik des Aflatoxin B₁-Abbaus durch vier verschiedene ausgewählte Bakterien-Stämme. Zur Durchführung der Abbauprobe wurden zellfreie Protein-Rohextrakte benutzt.



Literatur

- Ciegler A, Lillehoj EB, Peterson RE, Hall HH (1966). Microbial detoxification of Aflatoxin. *Appl. Microbiol.* 14 (6): 934-938
- El-Nezami H, Kankaanpää P, Salminen S, Ahokas J (1998). Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, Aflatoxin B₁. *Food and Chemical Toxicology* 36: 361-326
- Hao, YY, Brackett RE (1988). Removal of aflatoxin B₁ from peanut milk inoculated with *Flavobacterium aurantiacum*. *J. Food Sci.* 53: 1384-1386.
- Holzappel WH (1997) Use of starter cultures in fermentation on a household scale. *Food Control* 8: 241-258.
- Holzappel WH (2002) Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *International Journal of Food Microbiology* 75: 197-212.
- Hudson GJ, Wild CP, Zarbra A, Groopman JD (1992) Aflatoxins isolated by immunoaffinity chromatography from foods consumed in Gambia, West Africa. *Nat. Toxins* 1: 100-105.
- Nkana I (1987) Review: Prevention, elimination and detoxification of aflatoxins in foods and agricultural commodities. *Nigerian Food J.* 5: 90-100.
- Nwokolo C, Okonkwo P (1978). Aflatoxin load of common food in savanna and forest regions of Nigeria. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 72 (4): 329-332.
- Park DL, (1993) Controlling aflatoxin in food and feeds. *Food Technology* 47 (10): 92-96.
- Philips TD, Clement BV, Park DL (1994) Approaches to reduction of aflatoxins in foods and feeds. In the toxicology of aflatoxin: human and health, veterinary and agricultural significance. Edited by D.L. Eaton and J.D. Groopman. Pp 383-406. *Academic Press*, London.
- Salifu A (1981) Mycotoxins in short season sorghums in Northern Nigeria. *Samaru J. Agric. Res.* 1 (1): 83-88
- Samarajeewa U, Sen AC, Cohen MD, Wei CI (1990) Detoxification of aflatoxins in foods and feeds by physical and chemical methods. *J. Food Prot.* 53: 489-501. Sicherung der Pflanzenproduktion durch

Quarantänemaßnahmen gegen die Einschleppung von gebietsfremden Schadorganismen

J.-G. Unger¹, P. Müller

Die Pflanzenproduktion wird weltweit durch die Verschleppung von Schadorganismen bedroht. Allein für die USA (für andere Staaten liegen keine entsprechenden Daten vor) belaufen sich die jährlichen Schäden durch eingeschleppte invasive Arten auf 138 Milliarden US Dollar (Pimentel et al., 2000). Diese Schäden sind um so schwerwiegender, wenn, wie in vielen Entwicklungsländern, Pflanzenschutzmittel nur eingeschränkt verfügbar sind. Die Nachhaltigkeit der Pflanzenproduktion wird durch eingeschleppte Schadorganismen teilweise in Frage gestellt; bestimmte Anbauverfahren und Produktionsausrichtungen können durch eingeschleppte Schadorganismen unmöglich gemacht werden. Auch können andere Ressourcen, die für die Ernährungssicherheit von Bedeutung sind, erheblich durch eingeschleppte Schadorganismen beeinträchtigt werden. Beispielsweise verbrauchen in Südafrika invasive gebietsfremde Pflanzenarten 3.3 Milliarden Kubikmeter Wasser mehr als die heimischen Pflanzen. Im Projekt „Working for Water“ zur Bekämpfung dieser gebietsfremden Arten sind in Südafrika insgesamt 40 000 Personen engagiert.

Um die Einschleppung zu minimieren, werden in vielen Staaten Quarantänemaßnahmen für Pflanzen und Pflanzenprodukte, wie Einfuhrverbote, Behandlungsaufgaben oder besondere Anforderungen an die Produkte, ergriffen. In der Europäischen Union sind in der Richtlinie 2000/29/EG die Anforderungen und Maßnahmen zur Pflanzengesundheit geregelt.

Die internationale Kooperation und internationale pflanzengesundheitliche Standards sind in diesem Zusammenhang von besonderer Bedeutung. Zum einen ist weiterhin eine gezielte technische Hilfe zum Aufbau und der Fortentwicklung der Quarantänedienste in den Entwicklungsländern erforderlich, zum anderen ist eine Kooperation beim Handel mit Pflanzen und Pflanzenprodukten zur Gewährleistung der Einhaltung der erforderlichen Schutzvorschriften unerlässlich. Das Internationale Pflanzenschutzabkommen (IPPC), in der 1997 revidierten Fassung, leistet hierzu einen zentralen Beitrag. Hervorzuheben sind die hier entwickelten Standards, die auch dazu beitragen, ungerechtfertigte Handelsbeschränkungen für Produkte aus Drittländern zu minimieren.

Die Abteilung für nationale und internationale Angelegenheiten der Pflanzengesundheit der BBA leistet als zentrale Stelle für Information und Koordination einen Hauptbeitrag für die Bundesrepublik Deutschland vor diesem Hintergrund.

Im Einzelnen sind hervorzuheben:

- Schaffung, Aufbereitung und Bereitstellung der phytosanitären Schutzvorschriften, die bei der Ausfuhr von Produkten aus Deutschland in ein Drittland zu berücksichtigen sind. Derzeit liegen Daten aus 178 Ländern vor, sie werden ständig aktualisiert und, unter Berücksichtigung des sich bildenden internationalen Netzwerks (IPPC Informationssystem) auch für Exporteure und die verantwortlichen Pflanzenschutzdienste in den Bundesländern in Deutschland, im Internet entsprechend aufbereitet bereitgestellt. (<http://www.bba.de/ag/gesund/internat/internat.htm>)
- Erhebung, Aufbereitung und Bereitstellung von Daten über Schadorganismen in Deutschland, die u.a. auch für die Handelspartner, d.h. die Einfuhrländer, gefährlich werden könnten. Hintergrund hierfür ist der IPPC-Standard „Pest Reporting“. Hiermit wird der deutsche Beitrag zum Internationalen Frühwarnsystem im Bereich der Pflanzengesundheit geleistet, allerdings ist noch viel Entwicklungsarbeit erforderlich.
- Internationaler Erfahrungsaustausch zu dem Problem invasiver Schadorganismen und den erforderlichen Gegenmaßnahmen (FAO/IPPC-Workshop in Braunschweig im September 2003).
- Intensive Mitarbeit bei der Entwicklung der Internationalen Standards des IPPC (Mitarbeit in vielen Expertengruppen, Kommentierung und Überarbeitung von Entwürfen, Vertretung der EU-Mitgliedstaaten im IPPC-Standardsetzungskomitee ab 2004).
- Regelmäßige Betreuung von Delegationen aus Entwicklungsländern, die sich über das deutsche/das EU-Pflanzengesundheitssystem informieren, um ihre jeweiligen Schutzsysteme entsprechend anpassen zu können.

¹ Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin und Braunschweig, Abteilung für nationale und internationale Angelegenheiten der Pflanzengesundheit J.G.Unger@bba.de

- Regelmäßige Bearbeitung von Anfragen von Drittländern zum Auftreten von Schadorganismen an bestimmten Produkten in Deutschland, die in das Drittland ausgeführt werden sollen. Diese Informationen werden von dem entsprechenden Drittland zur Durchführung einer pflanzengesundheitlichen Risikobewertung verwendet, die in die Einrichtung konkreter Schutzvorschriften des Drittlandes mündet.

Literatur

- Pimentel D, Lach L, Zuniga R, Morrison D (2000) Environmental and economic costs of non-indigenous species in the United States. *BioScience, American Institute of Biological Sciences* 50 (1):53-65
- Richtlinie 2000/29/EG des Rates vom 8. Mai 2000 über Maßnahmen zum Schutz der Gemeinschaft gegen die Einschleppung und Ausbreitung von Schadorganismen der Pflanzen und Pflanzenerzeugnisse. *Abl. L 169 vom 10.7.2000: 1-112*
- IPPC (1997): Internationales Pflanzenschutzübereinkommen, neuer revidierter Text, FAO, Rom