

3.2 Aflatoxin B₁ (H. Valenta)

3.2.1 Vorkommen und Bedeutung

Aflatoxine sind Mykotoxine, die von Schimmelpilzen der Gattung *Aspergillus*, vor allem von *A. flavus* und *A. parasiticus*, in tropischen und subtropischen Ländern produziert werden. Die wichtigsten Aflatoxine in pflanzlichen Produkten sind Aflatoxin B₁ (AFB₁), Aflatoxin B₂ (AFB₂), Aflatoxin G₁ (AFG₁) sowie Aflatoxin G₂ (AFG₂). AFB₁ (Abb. 3.6.) kommt am häufigsten vor. Aflatoxine werden vor allem bei unsachgemäßer Lagerung produziert, eine Bildung bereits auf dem Feld ist jedoch ebenfalls möglich. Zu den Produkten mit höchstem Risiko für eine Aflatoxin-Kontamination zählen Mais, Erdnüsse, Baumwollsaat, Palmkerne, Pistazien und Kokosnussskerne; ein niedrigeres Risiko haben Feigen, Mandeln, Pecannüsse, Walnüsse, Sultaninen und Gewürze. Sojabohnen und weitere Hülsenfrüchte, Maniok, Hirse, Weizen, Hafer, Gerste und Reis gelten als wenig anfällig gegenüber einer Aflatoxin-Kontamination auf dem Feld, aber die Toxine können bei ungünstigen Lagerungsbedingungen (hohe Feuchtigkeit und Temperatur) gebildet werden. Vereinzelt wurden Aflatoxine u. a. in Kakaobohnen, Leinsaat, Sesamsaat, Sonnenblumenkernen und Oliven nachgewiesen (Pittet, 1998, EC, 2004). Nach der Verarbeitung von Ölsaaten zu Öl verbleiben Aflatoxine sowohl im Öl als auch im – als Futtermittel eingesetzten – Presskuchen.

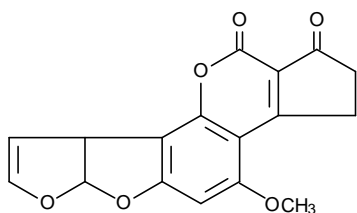


Abb. 3.6.
Aflatoxin B₁ (AFB₁)

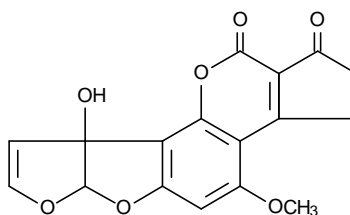


Abb. 3.7.
Aflatoxin M₁ (AFM₁)

Übersichten zum Vorkommen von Aflatoxinen in Lebens- und Futtermitteln finden sich u. a. bei Strange (1991), Yoshizawa (1991), Pittet (1998), Spahr et al. (1999) und EC (2004). In Schleswig-Holstein wurden z.B. im Jahr 2000 insgesamt 90 Einzelfuttermittel und 53 Mischfuttermittel für Milchvieh auf AFB₁ analysiert; die Einzelfuttermittel enthielten AFB₁ in einer Konzentration von <0,3-3,4 µg/kg, die Mischfuttermittel von 0,1-1,4 µg/kg (Blüthgen und Ubben, 2000). Extrahierte Kokosnussskerne, Erdnussschrot, Sonnenblumenkerne und Maisgluten wurden als Haupteintragsquellen für AFB₁ in Futtermitteln angesehen. Bis vor kurzem ging man davon aus, dass Aflatoxine unter europäischen klimatischen Bedingungen nicht gebildet werden können, und somit die Aflatoxinbelastung von Futtermitteln in Europa ausschließlich aus importierten Einzelfuttermitteln aus tropischen und subtropischen Ländern stammt. In jüngster Zeit wurde jedoch über die Bildung von AFB₁ in Mais aus der Po-Ebene in Italien berichtet; außerdem kann sich AFB₁ unter bestimmten Bedingungen, z.B. bei Zusatz von Ameisensäure, in Silage bilden (zitiert in EC, 2004).

Aflatoxine können aus Futtermitteln über die Nahrungskette in Form des Metaboliten Aflatoxin M₁ (AFM₁) (Abb. 3.7.) in die Milch von Kühen gelangen (siehe auch Abschnitt

3.2.2.). Die AFM₁-Konzentration in Rohmilch liegt in Europa in der Regel unter 100 ng/l, kann aber in manchen Dritte-Welt-Ländern (z.B. Indien, Ecuador) über 1000 ng/l betragen (Pittet, 1998). In einer deutschen Studie (Blüthgen und Ubben, 2000) enthielten von 3614 untersuchten Milchproben nur 4 Proben AFB₁ in einer Konzentration von über 10 ng/kg, davon lag keine über dem EU-Höchstgehalt für Milch von 50 ng/kg. Übersichten zu AFM₁ in Milch und Milchprodukten finden sich bei Galvano et al. (1996a) und EC (2004).

Aflatoxine, insbesondere AFB₁, sind genotoxische, karzinogene, hepatotoxische und immunsuppressive Stoffe. Nach der Verordnung (EG) Nr. 472/2002 kann für diese Art von Stoffen keine zulässige tägliche Aufnahmemenge festgesetzt werden; „es sollten deshalb Grenzwerte in Lebensmitteln festgesetzt werden, die so niedrig sind, wie sie vernünftigerweise eingehalten werden können“. Van Egmond und Jonker (2004) geben eine aktuelle Übersicht über die Regelungen von Mykotoxinen, besonders Aflatoxinen, weltweit. In der EU gelten besonders niedrige Höchstwerte für Aflatoxine in Lebensmitteln: 2 µg/kg für AFB₁ sowie 4 µg/kg für die Summe von AFB₁, AFB₂, AFG₁ und AFG₂ in Erdnüssen, Nüssen, getrockneten Früchten und Getreide, 0,05 µg/kg für AFM₁ in Milch, außerdem werden bestimmte Gewürze geregelt. Für Babynahrung gelten noch niedrigere Höchstgehalte. Höchstgehalte für AFB₁ in Futtermitteln nach deutschem Futtermittelgesetz sind in Tabelle 3.7. aufgeführt.

Tabelle 3.7. Zulässige Höchstgehalte von AFB₁ in Futtermitteln (nach Anlage 5 der Futtermittelverordnung, BGBL, 2006)

Futtermittel	mg/kg ¹⁾
Einzelfuttermittel	0,02
Alleinfuttermittel für Rinder, Schafe und Ziegen, ausgenommen:	0,02
- Alleinfuttermittel für Milchvieh	0,005
- Alleinfuttermittel für Kälber und Lämmer	0,01
Alleinfuttermittel für Schweine und Geflügel (ausgenommen Jungtiere)	0,02
Andere Alleinfuttermittel	0,01
Ergänzungsfuttermittel für Rinder, Schafe und Ziegen (ausgenommen	0,02
Ergänzungsfuttermittel für Milchvieh, Kälber und Lämmer)	
Ergänzungsfuttermittel für Schweine und Geflügel (ausgenommen	0,02
Jungtiere)	
Andere Ergänzungsfuttermittel	0,005

¹⁾ bezogen auf 88% Trockenmasse

3.2.2 Effekte beim Tier, Metabolismus, Carry over

Bei Schweinen werden unzureichende Gewichtszunahmen und Kümern ab einer Aflatoxin-Konzentration im Futter von 0,2 mg/kg beobachtet, akute Intoxikationserscheinungen (vor allem Leberschäden) ab 0,4 mg/kg. Geflügel reagiert ähnlich empfindlich auf eine Aflatoxin-Kontamination des Futters; Leistungsrückgang und Leberschäden stehen auch hier im Vordergrund (Bauer, 2000). Wiederkäuer sind weniger empfindlich, da der Hauptanteil des mit dem Futter aufgenommenen AFB₁ im Pansen abgebaut wird; erst bei einer Aflatoxin-

Konzentration im Futter von 1,5 – 2,23 mg/kg treten bei Rindern klinische Symptome auf (EC, 2004). Bei Berücksichtigung der AFB₁-Höchstgehalte im Futter (Tab. 3.7.) kann davon ausgegangen werden, dass in Deutschland keine durch Aflatoxine hervorgerufenen gesundheitlichen Störungen bei landwirtschaftlichen Nutztieren auftreten,

AFB₁ wird in der Leber zu verschiedenen Metaboliten umgewandelt, dazu gehören Endo- und Exo-Epoxide, die Hydroxymetaboliten Aflatoxin M₁ (Abb. 3.7.), Aflatoxin M₂ und Aflatoxin M₄, Aflatoxin P₁ und Q₁, sowie konjugierte Metaboliten (EC, 2004). Die reaktiven Aflatoxin-8,9-Epoxide induzieren hepatozelluläre Schäden. Besondere Bedeutung kommt dem Übergang von Aflatoxinen in die Milch von Wiederkäuern in Form des Metaboliten AFM₁ zu. Aus bisherigen Studien wird geschätzt, dass AFM₁ ähnliche toxikologische Eigenschaften wie AFB₁ aufweist, aber eine niedrigere Karzinogenität. Pettersson (2004) berechnete aus den bisher veröffentlichten Fütterungsversuchen mit Milchkühen eine mittlere Carry-over-Rate von 1,8 %; bei Hochleistungskühen erhöht sie sich auf ca. 2,7 %. Der EFSA-Bericht (EC, 2004) geht von einer Carry-over-Rate von bis zu 6,2% bei hochleistenden Kühen. Als Ursachen werden eine Änderung in der Plasma-Milch-Barriere sowie die Aufnahme von höheren Kraftfuttermengen bei hochleistenden Kühen vermutet. Nach einer „worst case“-Berechnung der EFSA (EC, 2004) besteht auch bei Einhaltung der Aflatoxin-Höchstgehalte im Futter die Möglichkeit, dass die Höchstgehalte für AFM₁ in Milch von Hochleistungskühen überschritten werden. Die aktuellen Daten zu AFM₁-Gehalten in Kuhmilch in der EU geben jedoch keinen Anlass zur Besorgnis (EC, 2004).

Carry-over in andere essbaren Gewebe von landwirtschaftlichen Nutztieren wird als von untergeordneter Bedeutung angesehen (Zusammenstellung bei Bauer, 2000).

3.2.3 Vermeidung

Nachdem anfangs angenommen wurde, dass Aflatoxine erst während der Lagerung gebildet werden, weiß man seit ca. 1970, dass die Kontamination mit den Toxinen bzw. zumindest der Befall mit den Toxin-bildenden Pilzen bereits auf dem Feld erfolgen kann (Williams et al., 2004). Bei Erdnüssen, zum Beispiel, spielen Trockenheit in der Wachstumsphase, Insektenbefall, Sorte und Bodenbeschaffenheit eine Rolle (Williams et al., 2004). Zur Vermeidung der Trockenheit ist Bewässerung sehr wichtig (Williams et al., 2004). Munkvold (2003) beschreibt pflanzenbauliche Maßnahmen und Züchtung von resistenten Sorten zur Verringerung der Mykotoxinbelastung von Mais. Im selben Aufsatz wird auch die Rolle der Gentechnik bei der Entwicklung von resistenten Sorten diskutiert; ihr wird das größte Potenzial zur Lösung der Mykotoxin-Problematik zugesprochen.

Eine neue Methode zur Vermeidung des Befalls mit Toxin-bildenden Schimmelpilzen besteht darin, *A.flavus*-Stämme, die keine Toxine bilden, im Feld auszubringen („biocompetitive exclusion technique“, Varga und Toth, 2005). In einem anderen Ansatz sind Gewürzöle auf ihre Wirksamkeit gegen das Wachstum von *A.parasiticus* und die Bildung von Aflatoxin getestet worden; Nelkenöl (Wirkstoff Eugenol) hat die beste Wirkung gezeigt (Juglal et al., 2002).

Da der größte Teil der Aflatoxine während der Lagerung gebildet wird, sind gute Lagerungsbedingungen von entscheidender Bedeutung. Optimal sind ein Feuchtegehalt von

< 10%, kein Insektenbefall, niedrige Temperatur und inerte Atmosphäre (Williams et al., 2004). Nähere Angaben, vor allem hinsichtlich der Lagerung von Mais, finden sich in Munkvold (2003).

3.2.4 Reinigung

Aussortieren von in Farbe abweichenden Körnern, Flotation und Dichte-Segregation sind geeignete Methoden zur Reduktion der Aflatoxin-Gehalte in Mais und Erdnüssen (Basappa und Shantha, 1996). Zum Beispiel wurde bei Erdnüssen durch Aussortierung von schadhafte Nüssen die Aflatoxin-Konzentration um 99 % reduziert (Park und Stoloff, 1989; Basappa und Shantha, 1996). Bei Mais und Reis sind Aflatoxine vor allem in den äußeren Kornschichten enthalten und werden beim Mahlen in den entsprechenden Fraktionen angereichert.

3.2.5 Dekontamination

Dekontaminationsverfahren für Mykotoxine sind zuerst für Aflatoxine entwickelt worden, und bis heute wird am meisten an Verfahren für Aflatoxine geforscht. Wegen der Fülle der Literatur beschränkt sich die vorliegende Übersicht vorwiegend auf Reviews (Bauer, 1994; Charmley et al., 1995; Piva et al., 1995; Basappa und Shantha, 1996; Scott, 1998; Shapira, 2004), wobei ausgewählte Beispiele für die einzelnen Verfahren gegeben werden.

3.2.5.1 Physikalische Methoden

Beispiele für physikalische Methoden zeigt Tabelle 3.8. Aflatoxine sind verhältnismäßig hitzestabil und werden erst bei Temperaturen um 250°C zerstört. Der Abbau wird durch höheren Wassergehalt beschleunigt, beispielsweise beim Erhitzen von Baumwollsaat-Extraktionsschrot. Bei der Erhitzung von Mais auf 160-180°C wurde neben der Reduzierung des Aflatoxin-Gehalts jedoch auch die Verfügbarkeit der limitierenden Aminosäuren Lysin und Methionin erniedrigt (Shapira, 2004). Durch Mikrowellenbehandlung konnte der Aflatoxingehalt in Erdnüssen um mind. 95% reduziert werden (Luter et al., 1982; Shapira, 2004). Bei Gamma-Bestrahlung sind hohe Dosen erforderlich, um AFB₁ zu zerstören. Niedrige Bestrahlungsdosen können dagegen sogar zu einer Stimulierung der Aflatoxin-Produktion führen (Samarajeewa, 1991). Nach einer Kombination von Gamma-Bestrahlung mit niedriger Dosis (5 kGy) und H₂O₂-Behandlung waren Aflatoxine im Futter nicht mehr nachweisbar, aber das so behandelte Futter führte zu keiner Reduktion der negativen Effekte durch Aflatoxine bei Kaninchen (Soliman et al., 2001). Durch UV-Bestrahlung von kontaminiertem Erdnussöl bzw. Milch kann deren Aflatoxin-Gehalt reduziert werden, aber einige der Abbauprodukte sind toxisch für Hühner-Embryonen (Basappa und Shantha, 1996). Sonnenbestrahlung könnte eine preiswerte, für tropische Länder geeignete Methode zur Reduktion der Aflatoxin-Gehalte in Lebensmitteln, vor allem in Ölen, sein (Scott, 1998). Lösungsmittel-Extraktion zur Dekontamination von Extraktionsschroten von Ölsaaten wurde teilweise mit Erfolg getestet; Kosten und mögliche Lösungsmittelrückstände in den Produkten sprechen jedoch gegen eine kommerzielle Anwendung dieser Methode (Basappa und Shantha, 1996; Scott, 1998). Durch Extraktion mit einer wässrigen CaCl₂-Lösung wurden 80% der

Aflatoxine aus kontaminiertem Extraktionsschrot von Erdnüssen entfernt, aber auch ein Teil der Proteine (Basappa und Shantha, 1996).

Tabelle 3.8. Beispiele für physikalische Methoden

Behandlung	Substrat	Wirkung	Quelle
Mikrowelle, 1,6 kW, 16 min	Erdnüsse	Aflatoxin-Reduktion um mind. 95 %	Luter et al., 1982; Shapira 2004
Gamma-Bestrahlung, 50-100 kGy	Erdnuss-Extraktionsschrot	Aufhebung der toxischen und mutagenen Wirkungen	Temcharoen und Thilly, 1982; Shapira 2004
Gamma-Bestrahlung, 5 kGy, und 5% H ₂ O ₂	Aflatoxin-kontaminierte Futtermittel mit 833 µg/kg	Aflatoxine nicht mehr nachweisbar, aber keine Reduktion der negativen Effekte durch Aflatoxine <i>in vivo</i> bei Kaninchen	Soliman et al., 2001
Sonnenbestrahlung	Kokosnussöl, Erdnussöl	Aflatoxin-Reduktion	Samarajeewa, 1991
Extraktion durch Lösungsmittel oder CaCl ₂ -Lösung	Extraktionsschrot aus Erdnüssen	80-99% Aflatoxin-Entfernung	Basappa und Shantha, 1996

Eine weitere, besonders in der jüngeren Zeit zunehmend untersuchte Möglichkeit zur Detoxifikation von Mykotoxin-kontaminierten Futtermitteln stellen Adsorbentien dar, die die Mykotoxine im gastrointestinalen Trakt binden und so die Aufnahme in den tierischen Organismus verhindern sollen. Die meisten Arbeiten beschäftigten sich mit der Wirkung bei Aflatoxinen. Übersichten über *in vitro*- und *in vivo*-Studien zur Wirkung von Adsorbentien bei Mykotoxinen finden sich z.B. bei Ramos et al. (1996), Trenholm et al. (1996), Huwig et al. (2001), Phillips et al. (2002) und Diaz und Smith (2005). In Tabelle 3.9. werden Beispiele für *in vivo*-Untersuchungen von Adsorbentien bei Aflatoxin-kontaminiertem Futter gegeben.

Aktivkohle adsorbierte AFB₁ *in vitro* (Decker und Corby, 1980), *in vivo* wurden jedoch unterschiedliche Ergebnisse berichtet (Übersicht bei Diaz und Smith, 2005). Bei Puten wurde zwar die Ausscheidung von AFM₁ im Harn reduziert, es wurde aber kein Schutz gegen die toxischen Effekte von AFB₁ beobachtet (Edrington et al., 1996). Von zwei Aktivkohle-Präparaten reduzierte - bei einem 2%igem Zusatz zum Futter - einer den Carry-over von AFB₁ (als AFM₁) in die Milch von Kühen um 50% (Galvano et al., 1996); in einer anderen Arbeit wurde keine Abnahme der AFM₁-Ausscheidung in Milch nach einem Aktivkohle-Zusatz zum Futter von 0,25% beobachtet (Diaz et al., 2004).

Am meisten untersucht als Adsorbentien wurden Silikate. Viele dieser Stoffe wurden *in vitro* getestet, einige davon auch *in vivo* an verschiedenen Tierspezies (Beispiele siehe Tabelle 3.9.). HSCAS (hydriertes Na-Ca-Al-Silikat), das als Futtermittelzusatz zur Verbesserung der Fließigenschaften verwendet wird, zeigte bei Aflatoxinen die beste Wirkung; es führte bei allen untersuchten Tierarten zu einer Abnahme oder völligem Verschwinden der toxischen

Effekte auf Leistung und einige biochemische und histopathologische Parameter (Ramos et al., 1996, Diaz und Smith, 2005). Auch andere Aluminiumsilikate, wie Bentonite, zeigten eine gute Wirkung (s. Tab. 3.9.). Dagegen bewirkten nur zwei von fünf kommerziell erhältlichen Zeoliten (0,5%iger Zusatz) eine teilweise Reduktion der Aflatoxin-Toxizität bei Broilern bei einer hohen Aflatoxinkonzentration im Futter (Harvey et al., 1993). Bei einem 0,5- bzw. 1%igem Zusatz von HSCAS zum Futter von Geflügel wurde die Verfügbarkeit von Phytat, anorganischem Phosphor, Riboflavin, Vitamin A und Mangan nicht beeinträchtigt, die Verfügbarkeit von Zink wurde jedoch leicht reduziert (Chung und Baker 1990, Chung et al., 1990).

Neben Silikaten wurde ein modifiziertes Hefezellwandprodukt auch in Tierversuchen erfolgreich auf seine Wirksamkeit als Mykotoxin-Adsorbens getestet (Diaz und Smith, 2005). Zum Beispiel reduzierte der Zusatz des Produktes zum Futter von Kühen in einer sehr niedrigen Dosis (0,05%) die Ausscheidung von AFM₁ in der Milch (Diaz et al., 2004). Außerdem wurde berichtet, dass ein Präparat auf pflanzlicher Basis (ToxiCheck, bestehend aus verschiedenen Kräutern und ätherischen Ölen), eine bessere Wirksamkeit gegen toxische Effekte von Aflatoxinen bei Broilern zeigte als eine Kombination aus HSCAS und einer organischen Säure (Neupane et al., 2004). Die Wirkung des Präparates bestand offenbar nicht nur in Adsorption von Aflatoxin im Darm, sondern auch in einer Schutzwirkung im Tier (leberschützende und immunstimulierende Eigenschaften). Bei Chlorophyllin (Derivat des Chlorophylls), einer ebenfalls gegen Aflatoxikose wirksamen Verbindung, wurden zuerst seine antioxidativen Eigenschaften als Grund für die Wirksamkeit angesehen; neuere Arbeiten belegen jedoch, dass durch die Bildung eines Komplexes zwischen Chlorophyllin und AFB₁ im Darm die Adsorption von AFB₁ reduziert wird (Diaz und Smith, 2005).

Tabelle 3.9. Beispiele für *in vivo*-Studien mit Adsorbentien

Adsorbens	Tierart	Wirkung	Quelle
Aktivkohle	Puten	Reduktion der AFM ₁ -Ausscheidung im Harn; kein Schutz gegen Aflatoxikose	Edrington et al., 1996
Aktivkohle, 0,25%	Milchkühe	Keine Abnahme der AFM ₁ -Ausscheidung in Milch	Diaz et al., 2004
HSCAS, 0,1/0,5%	Hühner	Abnahme der Aflatoxin-Bioverfügbarkeit in Leber und Blut	Davidson et al., 1987; Huwig et al., 2001
HSCAS, 0,5%	Hühner-Küken; 7,5 mg AFB ₁ per kg Futter	Abnahme der Wachstumsdepression durch AFB ₁	Phillips et al., 1988
HSCAS, 0,5%	Puten; 1 mg Aflatoxine per kg Futter	Abnahme der Mortalität durch Aflatoxine um 68%	Kubena et al., 1991
HSCAS, 0,5%	Schweine; 0,8 mg AFB ₁ per kg Futter	Abnahme der Wachstumsdepression und Normalisierung der klinisch-chemischen Parameter	Lindemann et al., 1993
HSCAS, 0,5%	Schweine; 0,5-0,6 mg AFB ₁ +AFB ₂ per kg Futter	Reduktion von AFM ₁ in Leber, Nieren und Muskel; von AFB ₁ nur im Muskel	Beaver et al., 1990
HSCAS, 0,5-1,0%	Milchkühe ; 0,1-0,2 mg Aflatoxin per kg Futter	Reduktion der AFM ₁ -Ausscheidung in Milch um 24-44%	Harvey et al., 1991
Aluminiumsilikate (Ethacal [®] , NovaSil [™] , Perlite, Zeobrite), 1,0%	Hühner-Küken; 2,5 mg AFB ₁ per kg Futter	Abnahme der Wachstumsdepression durch 3 der 4 Präparate	Scheideler, 1993
0,5, 0,25 und 0,125% NovaSil PLUS (Calcium Montmorillonit)	Hühner-Küken (5 mg AFB ₁ per kg Futter)	Schutz vor negativen Effekten durch AFB ₁ , Schutz vor Abnahme von Vitamin A-Gehalten in Leber	Pimpukdee et al., 2004
Natrium-Bentonit, 0,25, 0,5 und 0,75%	Schweine; 0,8 mg AFB ₁ per kg Futter	Abnahme der Wachstumsdepression und Normalisierung der klinisch-chemischen Parameter	Lindemann et al., 1993
3 Natrium-Bentonite, 1,2%	Milchkühe	Reduzierung der AFM ₁ -Konzentration in Milch	Diaz et al., 2004
Sepiolite, 0,5%	Schweine (800 µg AFB ₁ per kg Futter)	Verbesserung der Leistung, Reduzierung der Serumkonzentration von Leberenzymen	Schell et al., 1993
Hefezellwand-Produkt, 0,05%	Milchkühe	Reduzierung der AFM ₁ -Konzentration in Milch	Diaz et al., 2004
ToxiCheck (Kräuter, ätherische Öle)	Broiler	Noch bessere Wirksamkeit als HSCAS	Neupane et al., 2004

3.2.5.2 Chemische Methoden

Beispiele für chemische Detoxifikationsverfahren von Aflatoxin-kontaminierten Futtermitteln werden in Tabelle 3.10. dargestellt. Am meisten Bedeutung haben die Verfahren mit Ammoniak erlangt. Eine neuere, ausführliche Übersicht zu den Ammoniak-Verfahren wurde von Park und Price (2001) erstellt. Das so genannte HP/HT(high pressure/high temperature)-Verfahren wird als das effizienteste (Reduktion der Aflatoxingehalte um mehr als 99%) und sicherste Verfahren im Hinblick auf dabei entstehende Verbindungen angesehen. Im ersten Schritt der Reaktion mit Ammoniak wird der Lactonring von AFB₁ geöffnet; diese Reaktion ist reversibel. Bei hoher Temperatur und hohem Druck wird das zuerst entstandene Produkt irreversibel weiter abgebaut; die Art und Menge der dabei entstehenden Verbindungen ist abhängig von den Reaktionsbedingungen und der Matrix. Zahlreiche Fütterungsversuche mit Aflatoxin-kontaminierten Futtermitteln (Mais, Erdnüsse, Baumwollsaat-Extraktionsschrot), die nach dem Ammoniak-Verfahren behandelt wurden, zeigten, dass die Reaktionsprodukte keinen oder nur minimalen Einfluss auf die Gesundheit der Tiere haben (Park und Price, 2001). Mehrere Arbeiten, z.B. von Hoogenboom et al. (2001), zeigten auch, dass bei Kühen die Ausscheidung von AFM₁ in Milch stark reduziert wurde, wenn Aflatoxin-haltige Futtermittel mit Ammoniak behandelt wurden. Das so genannte AP/AT(atmospheric pressure/ambient temperature)-Verfahren reduziert Aflatoxine ebenfalls effektiv, aber es gibt noch nicht so viele Arbeiten zur Sicherheit der dabei entstehenden Produkte. Durch die Behandlung mit Ammoniak wird die Qualität der Futtermittel teilweise negativ verändert, z.B. nimmt der Gehalt an verfügbarem Lysin und Methionin ab (Conkerton et al., 1980; Basappa und Shantha, 1996). Die Ammoniak-Verfahren werden von vielen Ländern akzeptiert, darunter in Brasilien, Frankreich, Mexiko, Südafrika und in einigen US-Staaten (Park und Price, 2001). Andere Verfahren mit Ammoniak-verwandten Verbindungen, wie Monomethylamin/Ca(OH)₂, haben sich als nicht so praktikabel und effektiv wie die Ammoniak-Verfahren erwiesen (Park et al., 1988; Park und Price, 2001).

Dekontaminations-Methoden mit Natriumbisulfit bzw. Calciumhydroxid wurden bisher nicht so intensiv untersucht, aber ihre weitere Erforschung wäre wegen der niedrigeren Kosten im Vergleich zu Ammoniak-Verfahren sinnvoll (Piva et al., 1995). Prudente und King (2002) stellten die bisherigen Versuche zur Dekontamination mit Ozon zusammen und folgerten daraus, dass das Verfahren sehr effektiv ist, aber die Sicherheit der dabei entstehenden Verbindungen untersucht werden müsste.

Tabelle 3.10. Beispiele für chemische Methoden

Behandlung	Substrat	Wirkung	Quelle
Ammoniak (0,5-2%), 45-55 psi, 80-100°C, 20-60 min	Mais, Baumwollsaat und- Extraktionsschrot, Erdnüsse	Umwandlung von AFB ₁ zu Verbindungen mit reduziertem toxischen Potential	Park und Price, 2001
Ammoniak (1-5%), Raumtemperatur, 3-6 Wochen	Mais, Baumwollsaat	Umwandlung von AFB ₁ zu Verbindungen mit reduziertem toxischen Potential	Park und Price, 2001
6% H ₂ O ₂ , alkalisch	Erdnuss-Schrot	97%iger Aflatoxin- Abbau	Sreenivasa et al., 1967; Basappa und Shantha, 1996
Ozon, 200 mg/min, 92 h	Mais; 1,2mg AFB ₁ per kg	Mehr als 95%iger Aflatoxin-Abbau; bei Puten Schutz vor negativen Effekten durch AFB ₁	McKenzie et al., 1998
Natriumbisulfit	Mais	Abbau von AFB ₁	Moerck et al., 1980; Shapira, 2004
1N Zitronensäure	Mais	Fast vollständiger Aflatoxin-Abbau, Reduzierung der Mutagenität im Ames- Test	Mendez-Albores et al., 2005

3.2.5.3 Biologische Methoden

Um die Nachteile der physikalischen und chemischen Dekontaminationsmethoden zu umgehen, wurde vor allem in den letzten Jahren verstärkt nach biologischen Detoxifikationsmöglichkeiten für Mykotoxine gesucht. Durch Bata und Lasztity (1999), Karlovsky (1999), Styriak und Conkova (2002), Mishra und Das (2003) sowie Shapira (2004) werden die bisherigen Arbeiten, die sich vorwiegend mit der Detoxifikation von Aflatoxinen beschäftigen, diskutiert. Nach Karlovsky (1999) gibt es für biologische Detoxifikationsmethoden – im Gegensatz zu physikalischen und chemischen Methoden – noch keine eindeutige Definition. Einige Autoren zählen z. B. auch Zusatzstoffe zu Futtermitteln, die Mykotoxine im Verdauungstrakt der Tiere binden sollen, zu biologischen Methoden. Im vorliegenden Kapitel werden, entsprechend der Definition von Shapira (2004), Adsorption von Mykotoxinen durch Mikroorganismen sowie Abbau der Toxine durch Enzyme behandelt. Als Vorteile von biologischen Detoxifikationsmethoden werden beispielsweise genannt: milde Reaktionsbedingungen, kein Einsatz von toxischen Chemikalien, keine deutlichen Änderungen des Nährwertes und des Geschmacks des Futtermittels (Bata und Lasztity, 1999). Die meisten Verfahren wurden bisher nur in wässrigen Lösungen getestet, Versuche mit Tieren gibt es kaum.

Es wurde berichtet, dass verschiedene Stämme von Milchsäurebakterien AFB₁ bzw. AFM₁ im kontaminierten wässrigen Medium bzw. in Milch binden können (El-Nezami et al., 1998, Pierides et al., 2000, Haskard et al., 2001). El-Nezami et al. (2000) zeigten, dass einige *Lactobacillus*- und *Propionibacterium*-Stämme AFB₁ auch aus dem Darmsaft des Huhns adsorbieren und die Aufnahme des Toxins in das Darmgewebe reduzieren können. In einigen Studien wurde vermutet, dass die antimutagenen und antikanzerogenen Wirkungen von probiotischen Bakterien darauf beruhen, dass die Bakterien im Darm toxische Substanzen, wie Aflatoxine, binden können (Shapira, 2004).

Mikroorganismen des Magen-Darm-Trakts sind auch in der Lage, Aflatoxine abzubauen. AFB₁ wird im Pansen zum großen Teil abgebaut (Karlovsky, 1999) Nach Inkubation von kontaminiertem Mais mit Kot von Hühnern oder Puten verschwand AFB₁ nach einigen Wochen; ein mikrobieller Abbau wurde angenommen (Jones et al., 1996). Bei einigen Fermentationsvorgängen bei der Lebensmittelherstellung, wie bei der Miso-Herstellung (fermentiertes Sojaprodukt), Fermentierung von Milch mit Milchsäurebakterien, Bierbrauen und Brotherstellung, wurde Aflatoxin zum Teil abgebaut (Zitate von Karlovsky, 1999 und Shapira, 2004).

Bereits früher wurde gezielt nach Mikroorganismen mit der Fähigkeit zum Abbau von Aflatoxinen gesucht; von den getesteten Hefen, Pilze, Bakterien und anderen Mikroorganismen konnte nur ein Isolat – *Flavobacterium auranotiacum* - Aflatoxin aus einem wässrigem Medium entfernen (Ciegler et al., 1966; Karlovsky, 1999). Es wurde gezeigt, dass *F. auranotiacum* Aflatoxine aus Milch, pflanzlichem Öl, Mais, Erdnüssen, Erdnussbutter und Erdnussmilch entfernen kann. Wahrscheinlich ist an dem Aflatoxinabbau das Enzym Peroxidase beteiligt (Hao und Brackett, 1988; Styriak und Conkova, 2002). Wegen der stark orangefarbenen Pigmentierung des Bakteriums sind jedoch dessen Einsatzmöglichkeiten eingeschränkt (Bata und Lasztity, 1999). Später wurden weitere Bakterien, Hefen und Pilze gefunden, die in der Lage sind, Aflatoxine zu entgiften, wie z.B. *Corynebacterium rubrum*, *Candida lipolytica*, *Aspergillus niger* (Übersicht in Karlovsky, 1999, und Shapira, 2004). Darunter sind auch Mykotoxin-produzierende Pilze, die unter bestimmten Bedingungen ihr eigenes Toxin abbauen können (Karlovsky, 1999). Präparate aus isolierten gereinigten Enzymen haben gegenüber den Mikroorganismen den Vorteil, dass sie neben der gewünschten Mykotoxin-abbauenden Wirkung keine weiteren unerwünschten Wirkungen aufweisen, wie Änderung des Geschmacks, des Nährwertes oder der Akzeptanz (Shapira, 2004). Aus *Armillariella tabescens*, einem essbaren Pilz, der in der traditionellen chinesischen Medizin verwendet wird, wurde ein Enzymgemisch isoliert, das gegen AFB₁ wirksam war (Liu et al., 1998).

In der Zukunft könnten Detoxifizierungsenzyme für die Lebensmittel- und Futtermittelindustrie mit Hilfe der Gentechnik verbessert werden. Möglicherweise werden solche Enzyme bereits in dem Rohmaterial, das von transgenen Pflanzen stammen wird, enthalten sein (Karlovsky, 1999).

3.2.5.4 Sonstige Möglichkeiten (Chemoprävention)

Neben Adsorbentien wurden weitere Nahrungsergänzungen, wie Antioxidantien, sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, Kräuter u. ä. auf ihre Wirksamkeit gegen die negativen Effekte von

Mykotoxinen, vor allem Aflatoxinen, getestet (Galvano et al., 2001). Nahrungsergänzungsmittel werden vor allem hinsichtlich ihres Einsatzes beim Menschen untersucht, im Falle von Aflatoxinen in erster Linie zur Krebsprävention.

Eine Vorbehandlung mit Natriumselenit (bis zu 8 ppm im Trinkwasser über 8 Wochen) vor einer einmaligen AFB₁-Dosis hemmte bei Ratten die AFB₁-DNA-Bindung (Shi et al., 1994). Dagegen berichteten McLeod et al. (1997), dass Ratten, die mit Selen unterversorgt waren, widerstandsfähiger gegen AFB₁ waren als Ratten, die genügend Selen mit dem Futter aufnahmen. Weitere Literatur zu Selen findet sich in Surai und Dvorska (2005).

Die antioxidativ wirkenden Vitamine A, C oder E verminderten in Versuchen mit Meerschweinchen, Mäusen oder Ratten die toxischen Wirkungen von AFB₁ (Tab. 3.11.). Coelho (1996) berichtete, dass eine Vitamin-Supplementierung von 25% über den Empfehlungen die negativen Effekte von AFB₁ auf Puten vermindern konnte (Galvano et al., 2001). Carotinoide wirkten in einigen Studien an Labortieren mit AFB₁ antimutagen und antikanzerogen, bei Hühnern zeigten jedoch Beta-Carotin keine und Canthaxanthin nur eine teilweise Schutzwirkung gegen die Aflatoxikose (s. Tab. 3.11.). Yu et al. (1994) untersuchten in einem *in vitro*-Modell den Einfluss der Vitamine A, C und E sowie den von Beta-Carotin auf AFB₁-DNA-Addukte: Vitamin A und in geringerem Maß Vitamin C schwächten die AFB₁-DNA-Bindung, Vitamin E und Beta-Carotin dagegen verstärkten sie. Ratten, die unterversorgt mit Riboflavin waren, zeigten stärkere DNA-Schäden durch AFB₁ als Ratten mit normaler Riboflavin-Versorgung (Webster et al., 1996). Nach einer Supplementierung des Vitamins bei den unterversorgten Ratten wurden die DNA-Schäden auf das Niveau, das bei der Gruppe mit ausreichender Riboflavin-Versorgung auftrat, reduziert.

Viele Lebensmittelbestandteile und -zusatzstoffe, mit und ohne antioxidative Eigenschaften, wurden auf ihre Schutzwirkung gegen Aflatoxine untersucht. Eine Reihe von natürlichen phenolischen Verbindungen, wie Ellagsäure, verschiedene Flavonoide (z.B. Kämpferol, Catechin), Phenolsäuren (Caffeinsäure, Chlorogensäure), Eugenol, Vanillin, Quercetin, Curcumin sowie synthetische phenolische Verbindungen (butyliertes Hydroxyanisol, butyliertes Hydroxytoluol) zeigten in *in vitro*-Tests bzw. Versuchen mit Labortieren eine protektive Wirkung (Übersicht in Galvano et al., 2001). In einer neueren Arbeit (Coulombe et al., 2005) erwies sich butyliertes Hydroxytoluol auch wirksam gegen die Aflatoxikose von Puten. Eine Schutzwirkung gegen Aflatoxine zeigten - vorwiegend in *in vitro*-Tests - weiterhin u. a. Piperin (Hauptalkaloid von Pfeffer), Coumarin, Knoblauch, Kurkuma, Allylsulfide, Phenetylisothiocyanat, S-methyl-methanthiosulfonat (Inhaltsstoff von Zwiebeln und Kohl), die Diterpene Cafestol und Kahweol (Inhaltsstoffe von Kaffeebohnen), sowie die Konservierungsstoffe Propionsäure und Kaliumsorbat. Koffein (aus Kaffeebohnen) bzw. Theafulvine (aus schwarzem Tee) verstärkten dagegen die Genotoxizität bzw. Mutagenität von AFB₁ (zitiert in Galvano et al., 2001).

Einige Autoren (Zusammenstellung in Galvano et al., 2001) untersuchten, ob Arzneipflanzen und Extrakte aus Kräutern gegen die toxischen Effekte von Aflatoxinen wirken können. Extrakte aus *Cassia senna* (pflanzliches Laxativ), aus *Cassia tora*, aus Nüssen von *Semecarpus anacardium*, aus *Piper argyrophyllum* u.a. zeigten *in vitro* eine positive Wirkung. In zwei *in vivo*-Studien an Ratten wurde gezeigt, dass Extrakte aus *Thonninga sanguinea* (in Ghana verwendete medizinische Pflanze gegen Bronchialasthma) und aus der

Frucht von *Schisandra chinensis* gegen durch AFB₁ hervorgerufene Lebertoxizität schützen können (Tab. 3.11.). Auch die Arzneimittel Oltipraz und Chlorophyllin (Derivat des Pigments Chlorophyll) zeigten in Versuchen mit Labortieren sowie in klinischen Studien an Menschen aus besonders belasteten Gebieten eine chemopräventive Wirkung gegen AFB₁ (Sudakin, 2003), wobei die Wirkung von Chlorophyllin nach neueren Arbeiten in erster Linie in einer Komplexbildung mit Aflatoxinen im Darm bestehen soll (siehe Abschnitt 3.2.5.1).

Tabelle 3.11. Beispiele für Mittel zur Chemoprävention, die *in vivo* getestet wurden

Verbindung	Prüfung	Wirkung	Quelle
Selen (Natriumselenit), bis 8 ppm im Trinkwasser	Ratten	Hemmung der AFB ₁ -DNA-Bindung	Shi et al., 1994
Vitamin C, 300 mg/Tag	Meerschweinchen; LD ₅₀ -Dosis von AFB ₁	Schutz vor Mortalität und Lebertoxizität durch AFB ₁	Netke et al., 1997
Vitamin A, 132 IU /kg BW/Tag	Mäuse; AFB ₁ -Dosis: 0,05 µg/kg BW/Tag	Verminderung der Genotoxizität durch AFB ₁	Sinha und Dharmshila, 1994
Vitamin E, 0,9 mg/200 g BW	Ratten; AFB ₁ -Dosis: 7,5 µg/200 g BW	Schutz vor AFB ₁ -Einwirkung auf Hoden	Ibeh und Saxena, 1998
Riboflavin	Ratten	Positiver Einfluss auf AFB ₁ -induzierte DNA-Schäden bei Riboflavin-Unterversorgung	Webster et al., 1996
Carotinoide (u.a. Canthaxanthin, Astaxanthin, Beta-Carotin)	Ratten	Verminderung der Leber-Kanzerogenität	Gradelet et al., 1997
0,01 und 0,02 % Beta-Carotin bzw. Canthaxanthin	Broiler; 5 ppm Aflatoxin	Beta-Carotin keine, Canthaxanthin teilweise Schutzwirkung gegen Aflatoxikose	Okotie-Eboh et al., 1997
0,5 % Phenolische Verbindungen (u.a. Flavonoide, Phenolsäuren, Eugenol)	Ratten	verminderte DNA-Adukt-Bildung	Aboobaker et al., 1994
Butyliertes Hydroxytoluol (4000 ppm)	Puten; 1 ppm AFB ₁ im Futter	Chemopräventive Wirkung gegen AFB ₁ -Effekte	Coulombe et al., 2005
Extrakt aus <i>Thonninga sanguinea</i>	Ratten; 1 mg/kg AFB ₁ i.p.	Reduktion der akuten Lebertoxizität durch AFB ₁	Gyamfi und Aniya, 1998
Lignin-angereicherter Extrakt aus <i>Schisandra chinensis</i>	Ratten	Leberschutzwirkung gegen AFB ₁	Ip et al., 1996

3.2.5.5 Praktische Relevanz

Die Verfahren mit Ammoniak zur Detoxifikation von Aflatoxinen haben bisher die größte praktische Bedeutung erlangt; sie werden von vielen Ländern akzeptiert. Am meisten untersucht wurde das so genannte Hochdruck-/Hochtemperatur-Verfahren. Zahlreiche Fütterungsversuche mit dekontaminiertem Futter zeigten, dass die Reaktionsprodukte keinen oder nur minimalen Einfluss auf die Gesundheit der Tiere haben, und dass bei Kühen die Ausscheidung von AFM₁ in die Milch stark reduziert wird. Andere chemische Dekontaminationsmethoden, z.B. mit Wasserstoffperoxid, Ozon oder Natriumbisulfit, zeigten im Ansatz auch gute Wirkungen, wurden aber noch nicht intensiver untersucht und haben bisher keine praktische Relevanz. Chemische Methoden sind besonders auf eine mögliche Reversibilität der Umsetzung und auf Toxizität der entstehenden Produkte zu prüfen.

Von den physikalischen Methoden ist der Zusatz von Adsorbentien zum Futter, die Aflatoxine im gastrointestinalen Trakt binden und so die Aufnahme in den tierischen Organismus verhindern sollen, der vielversprechendste Ansatz. Am meisten sind Aluminiumsilikate untersucht worden, vor allem HSCAS (hydriertes NaCaAlSilikat), das als Futtermittelzusatz zur Verbesserung der Fließeigenschaften verwendet wird. HSCAS führte bei allen untersuchten Tierarten zu einer Abnahme oder völligem Verschwinden der toxischen Effekte durch AFB₁ auf Leistung und einige biochemische und histopathologische Parameter, bei Milchkühen auch zu einer Reduktion der AFM₁-Ausscheidung. Aluminiumsilikate sind jedoch bei anderen Mykotoxinen, z. B. bei den *Fusarium*-Toxinen Deoxynivalenol und Zearalenon, nur wenig oder gar nicht wirksam (Döll und Dänicke, 2004). Bei Adsorbentien besteht generell die Gefahr, dass nicht nur selektiv die Toxine gebunden werden, sondern auch essentielle Nährstoffe, wie Vitamine und Mineralstoffe.

Die biologischen Methoden, zu denen Adsorption von Aflatoxinen durch Mikroorganismen sowie Abbau der Toxine durch Enzyme gezählt werden, scheinen viel versprechend; bisher wurden jedoch die meisten Verfahren nur *in vitro* getestet. Auch viele Verbindungen, die in pflanzlichen Nahrungsmitteln oder Kräutern enthalten sind - vor allem solche mit antioxidativen Eigenschaften - zeigen bei *in vitro*-Tests oder in Versuchen mit Labortieren eine Schutzwirkung gegen die toxischen Effekte von Aflatoxinen.

3.2.6 Schlussfolgerungen und Forschungsbedarf

Die Verringerung der Aflatoxingehalte in Lebensmitteln und Futtermitteln ist sehr wichtig, da es sich um kanzerogene und genotoxische Stoffe handelt. Aflatoxine sind vor allem ein Problem in tropischen und subtropischen Ländern, da diese Toxine in der Regel nur unter deren klimatischen Bedingungen gebildet werden. Nach Deutschland können Aflatoxin-belastete Lebensmittel und Futtermittel durch Importe gelangen. Seit Aflatoxine in Deutschland lebensmittel- und futtermittelrechtlich geregelt sind, gibt es kaum noch Probleme mit belasteten Produkten. Dementsprechend besteht in Deutschland kein Forschungsbedarf zu Dekontaminationsmethoden für Aflatoxine in Futtermitteln.

Weltweit ist der Forschungsbedarf jedoch groß, da Aflatoxin-belastete Lebens- und Futtermittel in den Erzeugerländern zu großen ökonomischen Verlusten und gesundheitlichen Schäden führen. Von allen Mykotoxinen wird bis heute am meisten über Dekontaminationsmethoden für Aflatoxine geforscht. Von den untersuchten Methoden wird bisher nur das Ammoniak-Verfahren in großem Maßstab für Futtermittel angewendet; die nach diesem Verfahren behandelten Futtermittel wurden auch in Fütterungsversuchen mit landwirtschaftlichen Nutztieren getestet. Daneben werden inzwischen kommerziell Adsorbentien angeboten, die auch bereits teilweise an landwirtschaftlichen Nutztieren untersucht wurden. Weitere Methoden zeigten in ersten, meist *in vitro*-Versuchen eine gute Wirksamkeit gegen Aflatoxine. Wünschenswert wäre es Methoden zu entwickeln, die gegen mehrere Mykotoxine in Futtermitteln wirksam sind. Die Wirksamkeit und Sicherheit von Dekontaminationsmethoden muss in Fütterungsversuchen mit landwirtschaftlichen Nutztieren belegt werden.

3.2.7 Literatur

- Aboobaker VS, Balgi AD, Bhattacharya RK (1994) In vivo effect of dietary factors on the molecular action of aflatoxin B1: role of non-nutrient phenolic compounds on the catalytic activity of liver fractions. *In vivo* 8: 1095-1098
- Basappa SC, Shantha T (1996) Methods for detoxification of aflatoxins in foods and feeds - A critical appraisal. *J Food Sci Technol-Mysore* 33: 95-107
- Bata A, Lasztity R (1999) Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms. *Trends Food Sci Technol* 10: 223-228
- Bauer J (1994) Möglichkeiten zur Entgiftung mykotoxinhaltiger Futtermittel. *Mh Vet-Med* 49: 175-181
- Bauer J (2000) Mykotoxine in Futtermitteln: Einfluss auf Gesundheit und Leistung. In: *Handbuch der tierischen Veredlung*, 25. Aufl., Osnabrück, Kammlage-Verlag, pp 169-192
- Beaver RW, Wilson DM, James MA, Haydon KD, Colvin BM, Sangster LT, Pikul AH, Groopman JD (1990) Distribution of aflatoxins in tissues of growing-pigs fed an aflatoxin-contaminated diet amended with a high-affinity aluminosilicate sorbent. *Vet Human Toxicol* 32: 16-18
- Blüthgen A, Ubben E-H (2000) Zur Kontamination von Futtermitteln und Tankwagensammelmilch mit den Aflatoxinen B1 und M1 in Schleswig-Holstein - ein aktueller Überblick. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte* 52: 335-354
- Charmley LL, Trenholm HL, Prelusky DB (1995) Mycotoxins: their origin, impact and importance: insights into common methods of control and elimination. In: *Biotechnology in the feed industry: proceedings of Alltech's Eleventh Annual Symposium*. Nottingham, Nottingham University Press, pp 41-63
- Chung TK, Erdman JW, Baker DH (1990) Hydrated sodium calcium aluminosilicate - effects on zinc, manganese, vitamin-A, and riboflavin utilization. *Poult Sci* 69: 1364-1370
- Chung TK, Baker DH (1990) Phosphorus utilization in chicks fed hydrated sodium calcium aluminosilicate. *J Anim Sci* 68: 1992-1998
- Ciegler A, Lillehoj EB, Peterson RE, Hall HH (1966) Microbial detoxification of aflatoxin. *Appl Microbiol* 14: 934-939

- Coelho M (1996) Optimum vitamin supplementation needed for turkey performance and profitability. *Feedstuffs* 68: 13-21
- Conkerton EJ, Chapital DC, Lee LS, Ory RL (1980) Effect of ammoniation on the physicochemical properties of peanut and cottonseed meals. *J Food Sci* 45: 564-566
- Coulombe RA, Guarisco JA, Klein PJ, Hall JO (2005) Chemoprevention of aflatoxicosis in poultry by dietary butylated hydroxytoluene. *Anim Feed Sci Technol* 121(1-2): 217-225
- Davidson JN, Babish JG, Delaney KA, Taylor DR, Phillips TD (1987) Hydrated sodium calcium aluminosilicate decreases the bioavailability of aflatoxin in the chicken. *Poult Sci* 66(Suppl. 1): 89
- Decker WJ, Corby DG (1980) Activated charcoal adsorbs aflatoxin B1. *Vet Hum Toxicol* 22: 388-389
- Diaz DE, Hagler WM, Blackwelder JT, Eve JA, Hopkins BA, Anderson KL, Jones FT, Whitlow LW (2004) Aflatoxin Binders II: Reduction of aflatoxin M1 in milk by sequestering agents of cows consuming aflatoxin in feed. *Mycopathologia* 157(2): 233-241
- Diaz DE, Smith TK (2005) Mycotoxin sequestering agents: practical tools for the neutralisation of mycotoxins. In: Diaz DE (ed) *The Mycotoxin Blue Book*. Nottingham, Nottingham University Press, pp 323-339
- Döll S, Dänicke S (2004) In vivo detoxification of Fusarium toxins – A review. *Arch Anim Nutr* 58: 419-441
- Döll S, Dänicke S, Valenta H, Flachowsky G (2004) In vitro studies on the evaluation of mycotoxin detoxifying agents for their efficacy on deoxynivalenol and zearalenone. *Arch Anim Nutr* 58: 311-324
- EC (European Commission) (2004) Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Aflatoxin B1 as undesirable substance in animal feed. Request N° EFSA-Q-2003-035. *The EFSA Journal* 39: 1-27 <http://www.efsa.eu.int>
- Edrington TS, Sarr AB, Kubena LF, Harvey RB, Phillips TD (1996) Hydrated sodium calcium aluminosilicate (HSCAS), acidic HSCAS, and activated charcoal reduce urinary excretion of aflatoxin M1 in turkey poults. Lack of effect by activated charcoal on aflatoxicosis. *Toxicol Lett* 89: 115-122
- 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 B-1. *Food Chem Toxicol* 36: 321-326
- El-Nezami H, Mykkanen H, Kankaanpää P, Salminen S, Ahokas J (2000) Ability of Lactobacillus and Propionibacterium strains to remove aflatoxin B-1 from the chicken duodenum. *J Food Protect* 63: 549-552
- Galvano F, Galofaro V, Galvano G (1996a) Occurrence and stability of aflatoxin M1 in milk and milk products. A worldwide review. *J Food Protect* 59: 1079-1090
- Galvano F, Pietri A, Bertuzzi T, Fusconi G, Galvano M, Piva A, Piva G (1996b) Reduction of carryover of aflatoxin from cow feed to milk by addition of activated carbons. *J Food Protect* 59(5): 551-554
- Galvano F, Piva A, Ritieni A, Galvano G (2001) Dietary strategies to counteract the effects of mycotoxins: A review. *J Food Protect* 64: 120-131

- Gradelet S, Astorg P, Le Bon AM, Berges R, Suschetet M (1997) Modulation of aflatoxin B1 carcinogenicity, genotoxicity and metabolism in rat liver by dietary carotenoids: evidence for a protective effect of CYP1A inducers. *Cancer Lett* 114: 221-223
- Gyamfi MA, Aniya Y (1998) Medicinal herb, *Thonningia sanguinea* protects against aflatoxin B1 acute hepatotoxicity in Fischer 344 rats. *Hum Exp Toxicol* 17: 418-423
- Hao YY, Brackett RE (1988) Removal of aflatoxin-B1 from peanut milk inoculated with *Flavobacterium-Aurantiacum*. *J Food Sci* 53: 1384-1386
- Harvey RB, Phillips TD, Ellis JA, Kubena LF, Huff WE, Petersen HD (1991) Effects on aflatoxin M1 residues in milk by addition of hydrated sodium calcium aluminosilicate to aflatoxin-contaminated diets of dairy-cows. *Am J Vet Res* 52: 1556-1559
- Harvey RB, Kubena LF, Elissalde MH, Phillips TD (1993) Efficacy of zeolitic ore compounds on the toxicity of aflatoxin to growing broiler-chickens. *Avian Diseases* 37: 67-73
- Haskard CA, El-Nezami HS, Kankaanpaa PE, Salminen S, Ahokas JT (2001) Surface binding of aflatoxin B-1 by lactic acid bacteria. *Appl Environ Microbiol* 67: 3086-3091
- Hoogenboom LAP, Tulliez J, Gautier JP, Coker RD, Melcion JP, Nagler MJ, Polman THG, ort-Laval J (2001) Absorption, distribution and excretion of aflatoxin-derived ammoniation products in lactating cows. *Food Addit Contam* 18: 47-58
- Huwig A, Freimund S, Kappeli O, Dutler H (2001) Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicol Lett* 122: 179-188
- Ibeh IN, Saxena DK (1998) Effect of alpha-tocopherol supplementation on the impact of aflatoxin B1 on the testes of rats. *Exp Toxicol Pathol* 50: 221-224
- Ip SP, Mak DH, Li PC, Poon MK, Ko KM (1996) Effect of a lignan-enriched extract of *Schisandra chinensis* on aflatoxin B1 and cadmium chloride-induced hepatotoxicity in rats. *Pharmacol Toxicol* 78: 413-416
- Jones FT, Wineland MJ, Parsons JT, Hagler WM (1996) Degradation of aflatoxin by poultry litter. *Poult Sci* 75: 52-58
- Juglal S, Govinden R, Odhav B (2002) Spice oils for the control of co-occurring mycotoxin-producing fungi. *Journal of Food Protection* 65(4): 683-687
- Karlovsky P (1999) Biological detoxification of fungal toxins and its use in plant breeding, feed and food production. *Nat Toxins* 7: 1-23
- Kubena LF, Huff WE, Harvey RB, Yersin AG, Elissalde MH, Witzel DA, Giroir LE, Phillips TD, Petersen HD (1991) Effects of a hydrated sodium calcium aluminosilicate on growing turkey poults during aflatoxicosis. *Poult Sci* 70: 1823-1830
- Lindemann MD, Blodgett DJ, Kornegay ET, Schurig GG (1993) Potential ameliorators of aflatoxicosis in weanling growing swine. *J Anim Sci* 71: 171-178
- Liu DL, Yao DS, Liang R, Ma L, Cheng WQ, Gu LQ (1998) Detoxification of aflatoxin B-1 by enzymes isolated from *Armillariella tabescens*. *Food Chem Toxicol* 36: 563-574
- Luter L, Wyslouzil W, Kashyap SC (1982) The destruction of aflatoxins in peanuts by microwave roasting. *Can Inst Food Sci Technol J* 15: 236-238
- McKenzie KS, Kubena LF, Denvir AJ, Rogers TD, Hitchens GD, Bailey RH, Harvey RB, Buckley SA, Phillips TD (1998) Aflatoxicosis in turkey poults is prevented by treatment of naturally contaminated corn with ozone generated by electrolysis. *Poult Sci* 77: 1094-1102

- McLeod R, Ellis EM, Arthur JR, Neal GE, Judah DJ, Manson MM, Hayes JD (1997) Protection conferred by selenium deficiency against aflatoxin B1 in the rat is associated with the hepatic expression of an aldo-keto reductase and a glutathione S-transferase subunit that metabolize the mycotoxin. *Cancer Res* 57: 4257-4266
- Mendez-Albores A, Arambula-Villa G, Loarca-Pina MGF, Castano-Tostado E, Moreno-Martinez E (2005) Safety and efficacy evaluation of aqueous citric acid to degrade B-aflatoxins in maize. *Food and Chemical Toxicology* 43(2):233-238
- Mishra HN, Das C (2003) A review on biological control and metabolism of aflatoxin. *Crit Rev Food Sci Nutr* 43: 245-264
- Mishra HN, Das C (2003) A review on biological control and metabolism of aflatoxin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 43(3): 245-264
- Moerck KE, McElfresh P, Wohlman A, Hilton BW (1980) Aflatoxin destruction in corn using sodium bisulfite, sodium-hydroxide and aqueous ammonia. *J Food Protect* 43: 571-574
- Munkvold GP (2003) Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize. *Annu Rev Phytopathol* 41: 99-116
- Netke SP, Roomi MW, Tsao C, Niedzwiecki A (1997) Ascorbic acid protects guinea pigs from acute aflatoxin toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 143: 429-435
- Neupane D, Sharma S, Sharma R (2004) Effect of herbal and chemical toxin binders in feed on the performance of commercial broilers. *Phytomedica* 5: 97-105
- Okotie-Eboh GO, Kubena LF, Chinnah AD, Bailey CA (1997) Effects of beta-carotene and canthaxanthin on aflatoxicosis in broilers. *Poult Sci* 76: 1337-1341
- Park DL, Lee LS, Price RL, Pohland AE (1988) Review of the decontamination of aflatoxins by ammoniation - current status and regulation. *J AOAC* 71: 685-703
- Park DL, Stoloff L (1989) Aflatoxin control - How a regulatory agency managed risk from an unavoidable natural toxicant in food and feed. *Regul Toxicol Pharmacol* 9: 109-130
- Park DL, Price WD (2001) Reduction of aflatoxin hazards using ammoniation. *Rev Environ Contam Toxicol* 171: 139-175
- Pettersson H (2004) Controlling mycotoxins in animal feed. In: Magan N, Olsen M (eds) *Mycotoxins in food, detection and control*. Cambridge, England, CRC Press, pp 262-304
- Phillips TD, Kubena LF, Harvey RB, Taylor DR, Heidelbaugh ND (1988) Hydrated sodium calcium aluminosilicate - a high-affinity sorbent for aflatoxin. *Poult Sci* 67: 243-247
- Phillips TD, Lemke SL, Grant PG (2002) Characterization of clay-based enterosorbents for the prevention of aflatoxicosis. In: DeVries JW, Trucksess MW, Jackson LS (eds) *Mycotoxins and food safety*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, pp 157-171
- Pierides M, El-Nezami H, Peltonen K, Salminen S, Ahokas J (2000) Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind aflatoxin M-1 in a food model. *J Food Protect* 63: 645-650
- Pimpukdee K, Kubena LF, Bailey CA, Huebner HJ, Afriyie-Gyawu E, Phillips TD (2004) Aflatoxin-induced toxicity and depletion of hepatic vitamin A in young broiler chicks: protection of chicks in the presence of low levels of NovaSil PLUS in the diet. *Poult Sci* 83: 737-744
- Pittet A (1998) Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds-an updated review. *Revue Med Vet* 149: 479-492
- Piva G, Galvano FPF, Pietri A, Piva A (1995) Detoxification methods of aflatoxins - a review. *Nutr Res* 15: 767-776

- Prudente Jr AD, King JM (2002) Efficacy and safety evaluation of ozonation to degrade aflatoxin in corn. *J Food Sci* 67: 2866-2872
- Ramos AJ, Fink-Gremmels J, Hernandez E (1996) Prevention of toxic effects of mycotoxins by means of nonnutritive adsorbent compounds. *J Food Protect* 59: 631-641
- Samarajeewa U (1991) In situ degradation of mycotoxins by physical methods. In: Smith JE, Henderson RS (eds) *Mycotoxins and Animal Foods*. Boston, CRC Press, pp 785-796
- Scheideler SE (1993) Effects of various types of aluminosilicates and aflatoxin-B1 on aflatoxin toxicity, chick performance, and mineral status. *Poult Sci* 72: 282-288
- Schell TC, Lindemann MD, Kornegay ET, Blodgett DJ, Doerr JA (1993) Effectiveness of different types of clay for reducing the detrimental effects of aflatoxin-contaminated diets on performance and serum profiles of weanling pigs. *J Anim Sci* 71: 1226-1231
- Scott PM (1998) Industrial and farm detoxification processes for mycotoxins. *Revue Med Vet* 149: 543-548
- Shapira R (2004) Control of mycotoxins in storage and techniques for their decontamination. In: Magan N, Olsen M (eds) *Mycotoxins in food, detection and control*. Cambridge, England, CRC Press, pp 190-223
- Shi CY, Chua SC, Lee HP, Ong CN (1994) Inhibition of aflatoxin B1-DNA binding and adduct formation by selenium in rats. *Cancer Lett* 82: 203-208
- Sinha SP, Dharmshila K (1994) Vitamin A ameliorates the genotoxicity in mice of aflatoxin B1-containing *Aspergillus flavus* infested food. *Cytobios* 79: 85-95
- Soliman KM, El-Faramawy AA, Zakaria SM, Mekkawy SH (2001) Monitoring the preventive effect of hydrogen peroxide and gamma-radiation of aflatoxicosis in growing rabbits and the effect of cooking on aflatoxin residues. *J Agric Food Chem* 49: 3291-3295
- Spahr V, Walther B, Sieber R, Gafner J-L, Guidon D (1999) Vorkommen von Mykotoxinen in Futtermitteln und Carry-over in die Milch: eine Übersicht. *Mitt Lebensm Hyg* 90: 575-609
- Sreenivasa MV, Parpia HAB, Srikanta S, Murti AS (1967) Detoxification of aflatoxin in peanut meal by hydrogen peroxide. *J AOAC* 50: 350-354
- Strange RN (1991) Natural occurrence of mycotoxins in groundnuts, cottonseed, soya, and cassava. In: Smith JE, Henderson RS (eds) *Mycotoxins and Animal Foods*. Boca Raton, CRC Press, pp 341-362
- Styriak I, Conkova E (2002) Microbial binding and biodegradation of mycotoxins. *Vet Hum Toxicol* 44: 358-361
- Sudakin DL (2003) Dietary aflatoxin exposure and chemoprevention of cancer: a clinical review. *J Toxicol-Clin Toxicol* 41: 195-204
- Surai PF, Dvorska JE (2005) Effects of mycotoxins on antioxidant status and immunity. In: Diaz D (ed) *The Mycotoxin Blue Book*. Nottingham, Nottingham University Press, pp 93-137
- Temcharoen P, Thilly WG (1982) Removal of aflatoxin B1 toxicity but not mutagenicity by 1 megarad gamma radiation of peanut meal. *J Food Saf* 4: 199-205
- Trenholm HL, Charmley LL, Prelusky DB (1996) Mycotoxin binding agents: an update on what we know. In: *Biotechnology in the Feed Industry. Proc. of Alltech's Twelfth Annual Symposium*. Nottingham, Nottingham University Press, pp 327-349

- Van Egmond HP, Jonker MA (2004) Current regulations governing mycotoxin limits in food. In: Magan N, Olsen M (eds) *Mycotoxins in food, detection and control*. CRC Press, pp 49-68
- Varga J, Toth B (2005) Novel strategies to control mycotoxins in feeds: A review. *Acta Veterinaria Hungarica* 53(2): 189-203
- Webster RP, Gawde MD, Bhattacharya RK (1996) Modulation of carcinogen-induced DNA damage and repair enzyme activity by dietary riboflavin. *Cancer Lett* 98: 129-135
- Williams JH, Phillips TD, Jolly PE, Stiles JK, Jolly CM, Aggarwal D (2004) Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *American Journal of Clinical Nutrition* 80(5): 1106-1122
- Yoshizawa T (1991) Natural occurrence of mycotoxins in small grain cereals (wheat, barley, rye, oats, sorghum, millet, rice). In: Smith JE, Henderson RS (eds) *Mycotoxins and Animal Foods*. Boca Raton, CRC Press, pp 301-324
- Yu MW, Zhang YJ, Blaner WS, Santella RM (1994) Influence of vitamins A, C, and E and beta-carotene on aflatoxin B1 binding to DNA in woodchuck hepatocytes. *Cancer* 73: 596-604