

3.3 Ochratoxin A (H. Valenta)

3.3.1 Vorkommen und Bedeutung der Substanz

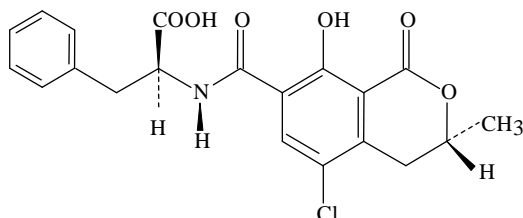


Abb. 3.8. Ochratoxin A

Ochratoxin A (OTA, Abb. 3.8.) ist ein Mykotoxin, das von einigen Schimmelpilz-Arten der Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus*, vor allem von *P. verrucosum* und *A. ochraceus*, gebildet wird. *P. verrucosum* wird in gemäßigten Klimazonen vor allem aus Getreide isoliert; *Aspergillus*-Arten kommen in warmen und tropischen Gegenden auf Kaffeebohnen, Gewürzen, Kakaobohnen, Sojabohnen, Erdnüssen, Reis, Mais, Wein und anderen Kulturpflanzen vor (Kuiper-Goodman and Scott, 1989; Pittet, 1998; EC, 2004).

Die größte Bedeutung kommt der Bildung von OTA in Getreide zu. Es kann in allen Getreidearten vorkommen. Obwohl eine Infektion mit den Schimmelpilzen bereits auf dem Feld erfolgen kann, wird OTA zum großen Teil erst während der Lagerung produziert. Die Bildung wird durch ungenügende Trocknung des Getreides vor der Lagerung sowie durch unsachgemäße Lagerung bei zu hohen Wassergehalten begünstigt. In Deutschland waren von 1975 bis 1990 von 765 Getreideproben für den menschlichen Verzehr ca. 3 % positiv mit ca. 12 µg/kg OTA im Mittel. Die Belastung von Futtergetreide war deutlich höher, von 963 Proben waren ca. 13 % positiv (DFG, 1990). Der Mittelwert der positiven Proben wurde von verschiedenen Autoren mit bis zu 100 µg/kg angegeben (DFG, 1990). Neuere Daten aus Deutschland aus den 90er Jahren zeigt Tabelle 3.12. Danach nahmen die Gehalte im Vergleich zu früher deutlich ab. Eine umfassende Datensammlung über das Vorkommen von OTA in Getreide und anderen Lebensmitteln in EU-Ländern ist im SCOOP-Bericht (EC, 2002) enthalten; danach lag die OTA-Konzentration von Getreide in den EU-Ländern im Mittel bei 0,29 µg/kg (Gesamtmittelwert), bei positiven Proben im Mittel bei 0,48 µg/kg. Eine Übersicht über das Vorkommen von OTA in Lebens- und Futtermitteln weltweit bis zum Jahr 1992 wurde von van Egmond und Speijers (1994) erstellt; Daten aus den letzten fünf Jahren vor Erstellung der Studie zur Belastung von Getreide und anderen Lebensmitteln mit OTA weltweit sind im JECFA-Report (WHO/FAO, 2001) zusammengestellt. Die mittlere Konzentration von OTA im Getreide betrug nach dieser Zusammenstellung 0,94 µg/kg; 1,2% der Proben enthielten mehr als 5 µg/kg.

Tabelle 3.12. OTA-Gehalte in Getreide in Deutschland nach verschiedenen Autoren (Valenta, 1999)

Probenart	Probenzahl	Positiv [%]	Mittelwert/ Median [$\mu\text{g/kg}$]	Bereich [$\mu\text{g/kg}$]	Quelle
Frisch geerntetes Getreide	1376	50-80 ¹⁾	0,2-0,4 ¹⁾	0,1-ca. 4	Wolff und Richter, 1992
Frisch geerntetes Getreide	292	<1		0,4	Thalmann, 1994
Getreide und -erzeugnisse ²⁾	1054	6	1,5/0,4	0,1-17,7	Majerus et al., 1993
Futtergetreide	1462	2-4 ³⁾	<0,1/<0,1	0,1-2370	Thalmann, 1994
Betriebseigenes Futtergetreide	917	1-54 ⁴⁾	0,5-4,3 % über 3 $\mu\text{g/kg}$ ⁴⁾	0,5-60,3	Richter und Schuster, 1995

¹⁾ bezogen auf Weizen bzw. Roggen, Erntejahr 1990 bzw. 1991

²⁾ für den menschlichen Verzehr

³⁾ aus Praxis, ohne Tiererkrankung bzw. mit Tiererkrankung

⁴⁾ bezogen auf Erntejahre 1991, 1992 bzw. 1993 sowie verschiedene Lagerdauer (4-10 Monate)

Zum Vorkommen von OTA in Misch- und Einzelfuttermitteln gibt es weniger Arbeiten. Thalmann (1994) untersuchte 220 Mischfutterproben aus Deutschland; ca. 16-21 % der Proben waren positiv, der Mittelwert lag bei ca. 4 $\mu\text{g/kg}$ OTA. Eine Zusammenstellung von Arbeiten zum Vorkommen von OTA in Futtermitteln aus dem europäischen Raum aus den 90er Jahren findet sich bei Spahr et al. (1999). OTA kann in Einzelfuttermitteln, wie Reiskleie, Palmkern, getrockneten Erbsen und Bohnen sowie Sonnenblumenkernen, vorkommen, die Konzentrationen und die Häufigkeit des Vorkommens sind jedoch niedriger als im Getreide (Scudamore et al., 1998; EC, 2004). In einer Untersuchung von 50 Sojaextraktionsschrotproben aus dem Handel in Deutschland waren 4 Proben positiv, die höchste Konzentration lag jedoch nur bei 1 $\mu\text{g/kg}$ (Valenta et al., 2002). Es kann also gefolgert werden, dass OTA in Mischfuttermitteln vorwiegend aus dem Getreideanteil stammt. Bei der Verarbeitung zu Mischfuttermitteln wird OTA nicht abgebaut, Mischfuttermittel enthalten OTA sogar häufiger und tendenziell in höheren Konzentrationen als Körnergetreide (Thalmann, 1994; Scudamore, 1996). Ein Grund dafür könnte in der Beimischung von Getreidestäuben, die eine Senke für OTA und andere unerwünschte Stoffe darstellen (Gareis und Meussdoerffer, 2000; Wolff et al., 2004) zu Kleien sein, die ihrerseits ein häufiger Bestandteil von Mischfuttermitteln sind. Diese Praxis wurde jedoch inzwischen in Deutschland verboten.

Im Rahmen einer umfangreichen Studie zur OTA-Belastung der Verbraucher, die vom Bundesministerium für Gesundheit in Auftrag gegeben wurde, wurden in einem Zeitraum von 2,5 Jahren fast 7000 Lebensmittel (Getreide und Getreideprodukte, daneben Kaffee, Tee, Bier, Wein, Fruchtsäfte, Gewürzmittel, Süßwaren, Ölsaaten, Milcherzeugnisse, Fleisch und Fleischerzeugnisse) sowie das Blut von 1000 Verbrauchern untersucht (Wolff et al., 2000a,b; Wolff, 2000; Bresch et al., 2000; Majerus et al., 2000; Engel, 2000; Gareis und Scheuer,

2000; Rosner et al., 2000; Gareis et al., 2000; Cholmakov-Bodechtel et al., 2000). Die Studie bestätigte, dass Getreideprodukte (u.a. Brot, Brötchen, Gebäck) am meisten zur OTA-Aufnahme des Menschen beitragen (40 % bis mehr als 50 % der Gesamt-OTA-Aufnahme). Bei Erwachsenen sind darüber hinaus der Verzehr von Kaffee (14,5 %) und Bier (9,8 %) von Bedeutung, während bei Kindern Fruchtsäfte, vor allem rote Traubensäfte (15,4 %), Naschereien und Knabbereien (9,9 %) als hauptsächliche Belastungsquellen ermittelt wurden. Fleisch und Fleischerzeugnisse tragen nur zu ca. 5% zur OTA-Aufnahme bei (siehe auch Abschnitt 3.3.2.).

Ausgehend von den analysierten OTA-Gehalten in den verschiedenen Lebensmittel-Gruppen und von einer repräsentativen Verzehrerhebung wurde eine tägliche Aufnahme von 0,58 ng bzw. 0,97 ng OTA/kg Körpergewicht für Erwachsene bzw. Kinder berechnet. Ein ähnlicher Wert für Erwachsene wurde durch Berechnung ausgehend von OTA-Gehalten im menschlichen Blut erhalten. Die Studie bestätigte das häufige Vorkommen von OTA im menschlichen Blut; 98,1% der untersuchten Blutseren waren positiv mit einem Median von 0,23 ng/ml.

Ochratoxin A ist ein Mykotoxin mit karzinogenen, nierenschädigenden, teratogenen, immuntoxischen und möglicherweise neurotoxischen Eigenschaften. Es wurde mit Nierenerkrankungen beim Menschen in Verbindung gebracht. Eine Risikobewertung von OTA beim Menschen wurde auf europäischer und internationaler Ebene vom Scientific Committee on Food (SCF) von der European Commission (EC, 1998) und vom Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (WHO/FAO, 2001) vorgenommen. Vom SCF (EC, 1998) wurden die von verschiedenen Organisationen vorgeschlagenen PTDI (Provisional Tolerable Daily Intake) für OTA zusammengestellt. Sie liegen zwischen 1,2 – 14 ng/kg Körpergewicht/Tag. Der höhere Wert von 14 ng/kg Körpergewicht/Tag wurde ausgehend von der Nephrotoxizität von OTA vorgeschlagen (WHO/FAO, 2001). Unter Berücksichtigung der Karzinogenität und möglicher Genotoxizität von OTA wird vom SCF (EU, 1998) ein PTDI im unteren Bereich der vorgeschlagenen Werte unter 5 ng/kg Körpergewicht/Tag für sinnvoll gehalten.

Nach den Ergebnissen der oben diskutierten deutschen OTA-Studie liegt die mittlere tägliche OTA-Aufnahme der Verbraucher in Deutschland unter dem niedrigsten vorgeschlagenen PTDI-Wert. Im ungünstigsten Fall (hohe Portionen und hoch kontaminierte Lebensmittel entsprechend dem 90er Perzentil) kann die tägliche OTA-Aufnahme bis zu 4 bzw. 6,3 ng/kg Körpergewicht bei Erwachsenen bzw. Kindern betragen und damit zu einer Überschreitung der im unteren Bereich liegenden PTDI-Vorschläge führen.

Gesetzliche Regelungen für OTA in Lebensmitteln in der EU und in Deutschland sind in Tabelle 3.13. aufgeführt. Für Futtermittel wurden bisher in Deutschland und in der EU keine Höchstgehalte festgesetzt, in einigen EU-Ländern gelten jedoch nationale Regelungen.

Tabelle 3.13. Gesetzliche Regelungen für OTA in Lebensmitteln in der EU und in Deutschland

Erzeugnis	Verordnung (EG) Nr. 123/2005 Höchstgehalt (µg/kg oder ppb)	Bundesgesetzblatt Jahrg. 2004 Teil I Nr. 5 ¹⁾ Höchstgehalt (µg/kg)
Getreidekörner	5,0	
Alle Getreideerzeugnisse	3,0	
Getrocknete Weintrauben	10,0	
Geröstete Kaffeebohnen	5,0	
Löslicher Kaffee	10,0	
Wein	2,0	
Traubensaft	2,0	
Traubenmost	2,0	
Getreidebeikost und andere Beikost für Säuglinge und Kleinkinder	0,50	
Diätetische Lebensmittel für besondere medizinische Zwecke, die eigens für Säuglinge bestimmt sind	0,50	
Trockenobst, ausgenommen aus Weintrauben und Feigen		2
Getrocknete Feigen		8

¹⁾ Verordnung zur Änderung der Mykotoxin-Höchstmengenverordnung und der Diätverordnung; die in dieser Verordnung festgesetzten Höchstgehalte für löslichen Kaffee (6 µg/kg) und Röstkaffee (3 µg/kg) sind aufgrund der in der Verordnung (EG) Nr. 123/2005 festgesetzten Höchstgehalte nicht mehr gültig

3.3.2 Effekte beim Tier, Metabolismus, Carry-over

Toxische Effekte bei landwirtschaftlichen Nutztieren, Metabolismus und Carry-over von OTA wurden in mehreren Übersichtsartikeln beschrieben (Kuiper-Goodman und Scott, 1989; Marquardt und Frohlich, 1992; Blank et al., 1999; Fink-Gremmels, 1999; Valenta, 1999; Bauer, 2000; Gareis und Steffens, 2000; Aish et al., 2004; EC, 2004). Von den landwirtschaftlichen Nutztieren reagieren Schweine am empfindlichsten auf eine OTA-Belastung des Futters, gefolgt von Geflügel. OTA schädigt in erster Linie die Nieren. Bei beiden Tierarten sind Nierenschädigungen ab einer OTA-Konzentration von 200 µg/kg im Futter beschrieben worden. Außerdem wurden bei Schweinen ab dieser Konzentration und bei Geflügel ab 500 µg/kg reduzierte Gewichtszunahmen beobachtet. OTA kann auch das Immunsystem schwächen und bei Legehennen zu einer verminderten Legeleistung führen (Bauer, 2000; Pettersson, 2004). Keine negativen Effekte auf die Tiergesundheit wurden bei Fütterungsversuchen mit wachsenden Schweinen bei einer OTA-Konzentration (durch Zusatz von kristallinem OTA) im Futter von 100 µg/kg (Kühn, 1993; Lusky et al., 1993) festgestellt. In mitteleuropäischen Ländern liegt die OTA-Belastung von Futtermitteln in der Regel weit unter 100 µg/kg (siehe Abschn. 3.3.1.), so dass eine gesundheitliche Beeinträchtigung von

landwirtschaftlichen Nutztieren durch OTA in Deutschland nicht zu erwarten ist. Ökonomische Verluste durch OTA in der Schweineproduktion wurden jedoch aus skandinavischen Ländern berichtet, in denen höhere OTA-Konzentrationen im Futter vorkommen können (Fink-Gremmels, 1999). In den letzten Jahren trat aber z.B. in Dänemark eine deutliche Verbesserung auf; die Zahl der Fälle von porciner Nephropathie nahm von 33 500 im Jahr 1988 auf 500 im Jahr 2000 ab (Jorgensen und Petersen, 2002).

Wiederkäuer reagieren weniger empfindlich auf eine Belastung durch OTA mit dem Futter, da bei ihnen das Toxin im Pansen zu dem weniger toxischen Metaboliten Ochratoxin α (Abb. 3.9.) umgewandelt wird. Bei Monogastriern wird OTA nach oraler Applikation aus den vorderen Teilen des Magen-Darmtrakts absorbiert. Im Blut bindet das Toxin an Plasmaproteine, wodurch die Elimination verzögert wird. Bei Monogastriern wird OTA nur zu einem geringen Teil metabolisiert; der Hauptmetabolit ist Ochratoxin α , das durch mikrobielle Hydrolyse unter Abspaltung von Phenylalanin im Verdauungstrakt gebildet wird. Daneben wird OTA in der Leber zu verschiedenen hydroxylierten Derivaten umgewandelt. Die Elimination von OTA erfolgt über den Harn und die Galle, wobei einige Untersuchungen auf das Vorliegen eines enterohepatischen Kreislaufs hindeuten (zur Übersicht siehe Marquardt und Frohlich, 1992; Blank et al., 1999; Aish et al., 2004; EC, 2004).

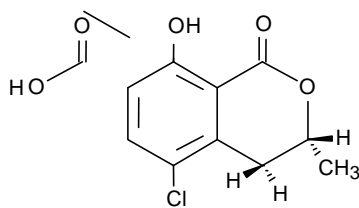


Abb.3.9. Ochratoxin α

Bedingt durch die fast vollständige Proteinbindung von OTA im Blut und daraus folgende hohe Halbwertszeit von OTA im Blut von ca. 88 – 140 Stunden (Pettersson, 2004), werden beim Schwein vergleichsweise hohe DON-Konzentrationen im Blut nachgewiesen. In einer Reihe von Fütterungsversuchen wurde der Übergang von OTA aus Futtermitteln ins Blut und tierische Gewebe vom Schwein untersucht. Eine Übersicht findet sich bei Pettersson (2004). In einem Versuch mit wachsenden Schweinen, bei dem Futter mit einer OTA-Konzentration von 100 $\mu\text{g/kg}$ (kristallin) an 85 Tagen verfüttert wurde, resultierten folgende OTA-Konzentrationen in tierischen Geweben: im Blutserum 60 $\mu\text{g/l}$, in der Niere 4,3 $\mu\text{g/kg}$, in der Leber 4,1 $\mu\text{g/kg}$, im Fett 2,8 $\mu\text{g/kg}$ und im Muskel 2,3 $\mu\text{g/kg}$ (Kühn, 1993). Ähnliche Werte ergaben sich bei einer Neuberechnung von mehreren veröffentlichten Fütterungsversuchen, bezogen auf eine OTA-Konzentration im Futter von 100 $\mu\text{g/kg}$ (Pettersson, 2004).

Pettersson (2004) stellte auch Arbeiten zum Carry-over von OTA in tierische Gewebe von Geflügel zusammen. Danach ist OTA nach Verfütterung an Geflügel auch in Muskelfleisch, Leber, Niere und Eiern nachzuweisen, die Konzentration im Blut ist jedoch wesentlich niedriger als bei Schweinen. Da die meisten Versuche mit sehr hohen OTA-Gehalten im

Futter durchgeführt wurden, ist eine Umrechnung auf 100 µg/kg problematisch. Ein Übergang von OTA in Kuhmilch konnte erst nach einer täglichen OTA-Aufnahme von mehr als 1,66 mg/kg Körpermasse nachgewiesen werden (Ribelin et al., 1978, Spahr et al., 1999).

Die Ergebnisse der Fütterungsversuche hinsichtlich der OTA-Rückstände in essbaren tierischen Geweben werden durch Analysen von Lebensmitteln tierischen Ursprungs bestätigt. Eine Untersuchung von 620 Proben von Rind-, Schweine- und Geflügelfleisch, Leber und Nieren von Schweinen und Fleischerzeugnissen im Rahmen einer Studie zur OTA-Belastung der Verbraucher in Deutschland (Gareis und Scheuer, 2000) zeigte nur geringe Gehalte. Die höchsten Konzentrationen wurden in Nieren, Leber, sowie Blut- und Leberwürsten gemessen. Auch in EU-Studien wurde die höchste OTA-Konzentration in Innereien vom Schwein gemessen (im Mittel 0,79 µg/kg), im Schweinefleisch wurden im Mittel nur 0,01 bzw. 0,11 µg/kg ermittelt (EC, 2004). In Milch und Milchprodukten ohne Zusätze, die im Rahmen der deutschen Studie analysiert wurden, konnte - in Übereinstimmung mit einer früheren Untersuchung von Milchproben aus der Praxis - kein OTA nachgewiesen werden (Engel, 2000; Valenta und Goll, 1996). Dagegen wurde in zwei Arbeiten aus Schweden und Norwegen über den Nachweis von geringen OTA-Konzentrationen in Milch berichtet (Breitholtz-Emanuelsson et al., 1993; Skaug, 1999).

3.3.3 Vermeidung

Da OTA in Getreide vorwiegend erst während der Lagerung durch Lagerpilze produziert wird, kann die Bildung – im Gegensatz zu z.B. *Fusarium*-Toxinen – durch Einhaltung von guten Lagerungsbedingungen, die das Pilzwachstum nicht unterstützen (Einlagerung von trockenem Getreide bzw. schnelles Trocknen, Feuchtegehalt < 15%), weitgehend minimiert werden. Ausgasung mit Methylbromid bzw. Phosphin und kontrollierte Atmosphäre während der Lagerung können das Pilzwachstum hemmen und Schadinsekten töten. Die Verwendung von Methylbromid ist jedoch aus Umweltschutzgründen nicht mehr empfehlenswert (WHO/FAO, 2001).

Einen neuen Ansatz bieten Versuche zum Einsatz von ätherischen Ölen, Antioxidantien bzw. antimikrobiellen Substanzen. Thymian und Anisöl hemmen bei inokuliertem Weizen effektiv sowohl das Wachstum von *A. ochraceus* als auch die Bildung von Ochratoxin A (Soliman und Badeaa, 2002). In einer anderen Studie (Cairns und Magan, 2003) verhinderten ätherische Öle aus dem Blatt der Gewürznelke, aus Zimt bzw. aus Lorbeerblatt in einer Dosis von 500 ppm vollständig die Bildung von OTA durch *P. verrucosum* in einem Weizen-basierten Substrat; die OTA-Produktion durch *A. ochraceus* wurde reduziert. Bei einer Dosis von 50 ppm wurde jedoch die OTA-Produktion stimuliert. Auch butyliertes Hydroxyanisol, Resveratrol, oder Kaliumsorbat zeigten sich wirksam zur Hemmung des Pilzwachstums und der Toxinproduktion (Fanelli et al., 2004).

3.3.4 Reinigung

OTA reichert sich bei der Reinigung von Getreide in den dabei anfallenden Stäuben an (Wolff et al., 2004, Tab. 3.14.). Durch abrasives „Scheuern“ von Weizenkörnern als Teil des

Verarbeitungsprozesses in den Mühlen wird der OTA-Gehalt um bis zu 44% reduziert (Scudamore et al., 2003, Tab. 3.14.).

Tabelle 3.14. Beispiele für die Reinigung

Behandlung	Substrat	Wirkung	Quelle
Reinigung in den Mühlen	Getreide	Anreicherung in Stäuben	Wolff et al., 2004
„Scheuern“	Weizen	Reduktion des OTA-Gehaltes um bis zu 44%	Scudamore et al., 2003

3.3.5 Dekontamination

Dekontaminationsverfahren für Ochratoxin A sowie andere Mykotoxine im Futter wurden in zahlreichen Übersichtsarbeiten beschrieben (Bauer, 1994, Charmley et al., 1995, Creppy et al., 1996, Scott, 1998, Blank et al., 1999, Valenta, 1999, Shapira, 2004)

3.3.5.1 Physikalische Methoden

Die thermische Stabilität von OTA hängt vom Wassergehalt ab. Beim Erhitzen von trockenem gemahlenen Weizen trat eine Verminderung der OTA-Gehalte erst bei hohen Temperaturen und langen Einwirkzeiten auf (z.B. Reduktion um 50 % bei 150°C und ca. 200 Minuten), bei angefeuchtetem Mahlgut verlief der Rückgang etwas schneller; eine vollständige Zerstörung von OTA wurde jedoch auch bei 200 bzw. 250°C nicht erreicht (Boudra et al., 1995). Durch Behandlung mit ionisierender Strahlung wurde das Wachstum von *A. alutaceus* vollständig unterbunden, eine Bestrahlung von mit OTA kontaminierten Futtermitteln führte jedoch lediglich zu einer Reduktion von 36-47% (Refai et al., 1996, Tab. 3.15.).

Tabelle 3.15. Beispiele für physikalische Methoden

Behandlung	Substrat	Wirkung	Quelle
Erhitzen auf 150°C, ca. 200 min	Weizen gemahlen	Reduktion des OTA-Gehaltes um 50%	Boudra et al., 1995
Gamma- Bestrahlung, 20 kGy	Futtermittel	Reduktion des OTA-Gehaltes um ca. 36-47%	Refai et al., 1996

Eine weitere 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 (Tabelle 3.16.). 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) und Diaz und Smith (2005). Danach wurde vor allem die Wirkung bei Aflatoxinen getestet. OTA wurde in *in vitro*-Versuchen aus wässrigen Lösungen durch Zusatz von 0,01 % Aktivkohle bzw. 1 % Cholestyramin praktisch vollständig adsorbiert, Bentonit sowie Na-Ca-Al-Silikat zeigten ein geringeres und vom pH-Wert abhängiges Bindungsvermögen (Bauer, 1994). Über eine *in vitro*-Adsorption von OTA durch

Aktivkohle, nicht jedoch durch HSCAS (hydriertes Na-Ca-Al-Silikat) und Sepiolite, wurde von Galvano et al. (1998, 2001) berichtet. Organisch modifizierte Zeolite adsorbierten OTA (2 µg/ml) fast vollständig aus wässriger Lösung (Tomasevic-Canovic et al., 2003). Ein modifiziertes Hefezellwandprodukt zeigte *in vitro* nur ein schwaches Bindungsvermögen für OTA (26%) (Raju und Devegowda, 2002).

In Fütterungsversuchen an Schweinen (OTA-Gehalt 1 mg/kg) bewirkte jedoch der Zusatz von 1 % Na-Ca-Al-Silikat, 1 oder 10 % Bentonit, 1 % Cholestyramin bzw. 1 % Aktivkohle keine bzw. eine nur leichte Senkung der OTA-Konzentration im Blut. Allein der Zusatz von 10 % Aktivkohle führte zu einer deutlichen Reduktion der Toxingehalte in Blutplasma, Galle und Geweben. Dieses Resultat konnte in einem Fütterungsversuch mit 5 % Aktivkohle und 0,2 mg OTA pro kg Futtermittel bestätigt werden. Diese Aktivkohle-Dosis ist jedoch aus praktischer Sicht unrealistisch und führte auch zu einer Reduktion des Vitamin E-Gehalts im Blut (Plank et al., 1990; Bauer, 1994). Eine 1%-ige Zugabe von Aktivkohle zum OTA-kontaminierten Futter (4 mg/kg) zeigte bei Hühner-Küken keine Verbesserung der toxischen Wirkungen (Rotter et al., 1989). Auch die Zugabe von 5% HSCAS zum Futter mit einer OTA-Konzentration von 2 mg/kg hatte kaum Wirkung auf die Toxizität von OTA bei Broilern (Huff et al., 1992). Bei Ratten führte die Zumischung von 0,5-2,0 % Cholestyramin zu einer Diät mit 1 mg/kg OTA zu reduzierten OTA-Konzentrationen im Blutplasma sowie zu einer reduzierten OTA-Ausscheidung mit dem Harn und erhöhten Ausscheidung mit dem Kot (Madhyastha et al., 1992a).

Tabelle 3.16. Beispiele für Adsorbentien

Verbindung	Prüfung	Wirkung	Quelle
0,01% Aktivkohle	wäßr. Lösung	Fast vollständige Adsorption	Baue, 1994; Plank et al., 1990
5-10% Aktivkohle	<i>in vivo</i> beim Schwein	Reduktion des OTA-Gehalts im Plasma	
1% Cholestyramin	wäßr. Lösung	Fast vollständige Adsorption	Bauer, 1994
0,5-2,0% Cholestyramin	<i>in vivo</i> bei Ratten	Reduktion der OTA-Gehalte im Plasma	Madhyastha et al., 1992a
1% Bentonit	wäßr. Lösung	Teilweise Adsorption, pH-abhängig	Bauer, 1994
1% organisch modifizierte Zeolite	wäßr. Lösung	Fast vollständige Adsorption	Tomasevic-Canovic et al., 2003

3.3.5.2 Chemische Methoden

Beispiele für chemische Verfahren werden in Tabelle 3.17. aufgeführt. Verfahren mit Ammoniak bzw. mit 2% Ca(OH)₂ + 0,5 % MMA wurden zur Dekontamination von Aflatoxin-haltigen Futtermitteln entwickelt und auch im Falle einer OTA-Belastung getestet. Eine Behandlung von Gerste mit 5% Ammoniak über 96 Stunden bei 70°C wurde – neben zwei anderen Behandlungen bei 490°C und Zusatz von NaOH bzw. Autoklavieren bei 132°C für eine halbe Stunde – von Madsen et al. (1983) an Schweinen überprüft. Das Verfüttern von

dekontaminierter Gerste brachte im Vergleich zur kontaminierten Gerste nur eine leichte Verbesserung der Leistung und der Reduzierung der OTA-Rückstände in Organen und wurde von den Autoren nicht empfohlen. Die Wirkung des Ca(OH)_2 -MMA-Dekontaminationsverfahrens bei OTA-haltigem Futter (OTA-Konzentration ca. 200 $\mu\text{g/kg}$) wurde an Schweinen geprüft (Betz, 1993). Die OTA-Konzentration im Blutplasma nahm zwar im Vergleich zur Gruppe, die das unbehandelte OTA-haltige Futter erhielt, ab, aber das Behandlungsverfahren verursachte eine teilweise starke Verringerung essentieller Futterinhaltsstoffe, wie Lysin und S-haltigen Aminosäuren, eine verminderte Akzeptanz des Futters sowie eine Beeinträchtigung der Mastleistung.

Tabelle 3.17. Beispiele für chemische Methoden

Behandlung	Substrat	Wirkung	Quelle
2% Ammoniak, 20-50°C	Getreide	Fast vollst. OTA-Abbau, bei Broilern keine negative Wirkung nach Ammoniakbehandlung	Chelkowski et al., 1981 und 1982
5% Ammoniak, 70°C	Gerste	Über 90% OTA-Abbau, bei Schweinen nur leichte Verbesserung gegenüber OTA-Gerste ohne Dekontamination	Madsen et al., 1983
2% Ca(OH)_2 + 0,5 % MMA ¹⁾ , 80-100°C	Futtermittel	Über 90% OTA-Abbau Bei Schweinen: 60% niedrigere OTA-Konz. im Blutplasma	Gerlach, 1992 Betz, 1993
3,5% NaOH	Gerste	Reduktion der OTA-Konz. von 650 auf 20-60 $\mu\text{g/kg}$ Bei Ratten: 90% niedrigere OTA-Konz. im Blutplasma	Richter et al., 1997a Richter et al., 1997b
10% Ozon, 15 s	Wässrige Lösung	Vollständiger Abbau, Verringerung der Toxizität im Bioassay	McKenzie et al., 1997
H_2O_2 , 100°C, pH 10,8-12,5	Wässrige Lösung	Verringerung der Toxizität in einem Bioassay	Fouler et al., 1994

¹⁾ Monomethylamin

Getestet wurde auch, ob Konservierungsmittel, wie Propionsäure, Natriumdisulfit, Natronlauge und Harnstoff, geeignet sind, den OTA-Gehalt von Futtergetreide zu senken. Bei Gerste wurden die besten Ergebnisse mit einer Behandlung mit 3,5 % NaOH (30 Minuten im Schneckenmischer, danach 3 Wochen lagern) erzielt (Richter et al., 1997a). Durch diese Behandlung wurde der OTA-Gehalt von ca. 650 $\mu\text{g/kg}$ auf 20-60 $\mu\text{g/kg}$ reduziert. Analysen der dekontaminierten Gerste bei verschiedenen Extraktionsbedingungen zeigten jedoch, dass die OTA-Reaktion mit NaOH reversibel ist (Valenta und Richter, 1998). Vermutlich entstand bei der Behandlung der Gerste mit Natronlauge vorwiegend OTA mit geöffnetem Lactonring. Die mit Natronlauge dekontaminierte Gerste wurde in einem Fütterungsversuch mit Ratten geprüft (Richter et al., 1997b). Der OTA-Gehalt im Blutplasma der Tiere, die de-

kontaminiertes Futter erhielten, lag um fast 90 % niedriger als der Gehalt im Plasma der Gruppe mit kontaminiertem Futter. Eine Rückbildung von OTA im Tier hat somit in größerem Umfang nicht stattgefunden.

Eine Behandlung von OTA (12 µg/ml) in wässriger Lösung mit Ozon (10%, 15 Sekunden) führte zu einem vollständigen Abbau und einer Verringerung der Toxizität in einem Bioassay (McKenzie et al., 1997).

3.3.5.3 Biologische Methoden

Um die Nachteile der physikalischen und chemischen Dekontaminationsmethoden zu umgehen, wurde vor allem in den letzten Jahren nach biologischen Detoxifikationsmöglichkeiten für Mykotoxine gesucht. In den Übersichten von Bata und Lasztity (1999), Karlovsky (1999) und Shapira (2004) werden die bisherigen Arbeiten zusammengestellt. Es gibt verschiedene Definitionen für biologische Detoxifikationsmethoden (Karlovsky, 1999). In diesem Abschnitt werden – entsprechend der Definition für biologische Detoxifikationsmethoden nach Shapira (2004) - Adsorption von Mykotoxinen durch Mikroorganismen sowie Abbau der Toxine durch Enzyme behandelt. Als Vorteile von biologischen Detoxifikationsmethoden werden genannt: milde Reaktionsbedingungen, kein Einsatz von toxischen Chemikalien, keine deutlichen Änderungen des Nährwertes und des Geschmacks (Bata und Lasztity, 1999). Die meisten Verfahren wurden bisher nur in wässrigen Lösungen getestet, Versuche mit Tieren gibt es nur wenige.

Nach 28 Tagen Silierung von OTA-kontaminierter Gerste nahm der OTA-Gehalt signifikant ab, aber im Fütterungsversuch mit Hühner-Küken zeigte sich keine Besserung der Leistung und der Mortalität im Vergleich zu nicht silierter Gerste (Rotter et al., 1990). Offenbar wurde das Toxin zu einem ebenfalls toxischen Metaboliten umgewandelt, oder die Reaktion war reversibel und OTA wurde im Tierkörper wieder gebildet. Zellkulturen von Weizen, Mais, Tomaten und anderen Pflanzen wandelten OTA in eine Reihe von Metaboliten um, hauptsächlich in Ochratoxin α , Ochratoxin A – Methylester, zwei Isomere von Hydroxy-Ochratoxin A und Glucoside sowie Methylester der beiden Hydroxy-Ochratoxin A – Isomere (Ruhland et al., 1994, 1996a,b). In mehreren Arbeiten wurde der Abbau von OTA durch die Mikroflora des gastrointestinalen Traktes beschrieben, wie im Pansen von Kühen und Schafen oder im Darm von Ratten (Galtier und Alvinerie, 1976, Hult et al., 1976, Madhyastha et al., 1992b). In einem *in vitro*-Versuch wurde demonstriert, dass auch die menschliche Darmflora in der Lage ist, OTA teilweise abzubauen (Akiyama et al., 1997).

Scott et al. (1995) berichteten über die teilweise Adsorption von OTA durch Hefe während der Bierherstellung. In einem *in vitro*-Versuch wurde OTA (100 µg/ml) teilweise durch 1% Hefe adsorbiert (die Bindung war stark pH-abhängig), aber in einem Fütterungsversuch mit Schweinen mit einem Zusatz von 5 % Hefe zum Futter (OTA-Gehalt 1 mg/kg) wurde keine bzw. nur leichte Senkung der Toxingehalte im Blutserum erreicht (Bauer, 1994). Eine andere Arbeitsgruppe (Schatzmayr et al., 2003; Molnar et al., 2004) untersuchte verschiedene Hefestämme auf ihre Fähigkeit zum Abbau von OTA zum nicht toxischen Ochratoxin α und

isolierte einen geeigneten Stamm vom Genus *Trichosporon*. In einem Fütterungsversuch mit Broilern konnten lyophilisierte *Trichosporon*-Zellen die negativen Effekte von OTA auf Gewichtszunahme und Mortalität kompensieren. Bestimmte Milchsäurebakterien (*Lactobacillus rhamnosus*) konnten OTA in *in vitro*-Versuchen zum Teil binden (Turbic et al., 2002).

Ein Überblick über Mikroorganismen, die in bisherigen Versuchen OTA abbauen konnten, findet sich bei Varga und Toth (2005). Durch Screening von Mikroorganismen wurde das Bakterium *Acinetobacter calcoaceticus* als wirksam zum Abbau von OTA identifiziert (Hwang und Draughon, 1994). Ein nicht toxischer *Aspergillus niger*-Stamm baute OTA zunächst zum Ochratoxin α ab; dieser Metabolit wurde später weiter zu unbekannten Produkten zersetzt (Varga et al., 2000). Auch Pilze, die von Weintrauben isoliert wurden – vor allem einige *Aspergillus*-Arten – zeigten die Fähigkeit zum Abbau von OTA (Abrunhosa et al., 2002). Ein *Rhizopus*-Isolat war in der Lage, OTA in angefeuchtetem Weizen zu mehr als 95% abzubauen (Varga et al., 2005). Weißfäulepilze sind seit längerem dafür bekannt, dass sie schwer abbaubare Umweltschadstoffe abbauen können (Engelhardt, 2002). Der lebensmittelunbedenkliche Weißfäulepilz *Pleurotus ostreatus* baute OTA und Ochratoxin B während einer vierwöchigen Fermentation von Gerste bis auf 23% bzw. 3% ab; Ochratoxin α bzw. wahrscheinlich Ochratoxin β waren die Zwischenprodukte (Engelhardt, 2002).

3.3.5.4 Sonstige Möglichkeiten (Chemoprävention)

Neben Adsorbentien wurden weitere Zusatzstoffe, wie Antioxidantien, sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe, Kräuter u. ä. auf ihre Wirksamkeit gegen die negativen Effekte von Mykotoxinen, vor allem Aflatoxinen, getestet (Übersicht bei Galvano et al., 2001).

Negative Effekte durch OTA in einer Konzentration von 2,5 mg/kg Futter bei Hühner-Küken (Anstieg der Harnsäurekonzentration im Plasma, Abnahme der Konzentration von α -Tocopherol in der Leber, erhöhte Werte von Malondialdehyd in der Leber) wurden teilweise durch Vitamin E (1000 IU/kg Futter), aber nicht durch Vitamin C (1000 mg/kg Futter), aufgehoben (Hoehler und Marquardt, 1996). Grosse et al. (1997) beobachteten, dass eine Vorbehandlung von Mäusen mit den Vitaminen A, C oder E vor einer OTA-Applikation die Zahl der DNA-Addukte in den Nieren um 70-90 % reduzierte. Vitamin C wirkte auch protektiv gegen einige durch OTA hervorgerufene genotoxische Wirkungen bei Mäusen (Bose und Sinha, 1994). Aspartam, ein Struktur-Analogon von OTA, verhinderte bei Ratten, die OTA-haltiges Futter bekamen, das Auftreten von Nephrotoxizität und führte zur schnellen Elimination von OTA aus dem Tierkörper (Creppy et al., 1996). Weitere Beispiele für Zusatzstoffe werden in Tabelle 3.18. aufgeführt.

Tabelle 3.18. Beispiele für Mittel zur Chemoprävention, die *in vivo* getestet wurden

Verbindung	Prüfung	Wirkung	Quelle
Vitamin E, 1000 IU/kg Futter	Hühner-Küken	Teilweise Aufhebung der negativen Effekte durch OTA	Hoehler und Marquardt, 1996
Vitamine A, C oder E	Mäuse	Verringerung der Zahl der DNA-Addukte durch OTA	Grosse et al., 1997
Aspartam	Ratten	Schnelle Elimination von OTA aus dem Körper	Creppy et al., 1996
L-Methionin	Ratten	Verminderung der Toxizität von OTA bei tragenden Tieren	Abdel-Wahhab et al., 1999
Traubensaft und Saft von Blättern der Weinrebe	Mäuse	Reduzierung der Leber- und Nierenschäden durch OTA	Jeswal, 1998

3.3.5.5 Praktische Relevanz

So weit bekannt, wurde bisher keines der Dekontaminationsverfahren in der Praxis angewendet. Einige Adsorbentien, wie Aktivkohle, Cholestyramin und organisch modifizierte Zeolite, zeigten *in vitro* in wässriger Lösung eine fast vollständige Adsorption von OTA. *In vivo* bei Schweinen wäre jedoch bei Aktivkohle eine viel höhere Dosis nötig (5 % bezogen auf Futter), die aus praktischer Sicht unrealistisch ist und zudem zu einer Reduktion von Vitamin E im Blut führte. Cholestyramin zeigte *in vivo* bei Ratten, nicht jedoch bei Schweinen, eine Wirkung. Organisch modifizierte Zeolite wurden – so weit bekannt - noch nicht *in vivo* auf ihre Wirksamkeit bei OTA-kontaminiertem Futter getestet. Generell besteht bei Adsorbentien die Gefahr, dass sie nicht nur selektiv Mykotoxine binden können, sondern auch verschiedene essentielle Futterinhaltsstoffe.

Von den chemischen Verfahren wurde die Ammoniak- bzw. $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -MMA (Monomethylamin)-Behandlung von Futtermitteln *in vivo* bei Schweinen ohne durchgreifenden Erfolg getestet. Das nach dem $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -MMA-Verfahren behandelte Futter führte darüber hinaus zu einer Verringerung essentieller Futterinhaltsstoffe, wie Lysin und S-haltigen Aminosäuren, zu einer verminderten Akzeptanz des Futters sowie zu einer Beeinträchtigung der Mastleistung. Erfolgsversprechender erwies sich die Behandlung von Getreide mit NaOH; entsprechend behandelte Gerste führte bei Ratten zu einer Reduktion der OTA-Gehalte im Blut. Eine Überprüfung der Wirksamkeit bei Schweinen steht jedoch noch aus.

Von den biologischen Verfahren bewirkte die Silierung von Gerste eine Reduktion der OTA-Gehalte; in einem Fütterungsversuch mit Hühner-Küken konnte jedoch keine Reduktion der Toxizität festgestellt werden. Offenbar wurde das Toxin zu einem ebenfalls toxischen Metaboliten umgewandelt, oder die Reaktion war reversibel und OTA wurde im Tierkörper

wieder gebildet. Bestimmte Hefen als Adsorbentien scheinen nach den Ergebnissen neuerer Arbeiten Erfolg versprechend (Schatzmayr et al., 2003, Molnar et al., 2004). Bakterien und Pilze zur Detoxifizierung wurden bisher nur *in vitro* getestet.

Schließlich wurden einige Zusatzstoffe, wie die antioxidativ wirkenden Vitamine A, C und E, auf ihre protektive Wirkung gegen OTA getestet, meist jedoch nur an Labortieren. Bei Hühner-Küken zeigte Vitamin E (1000 IU/kg Futter, OTA: 2,5 mg/kg Futter), nicht jedoch Vitamin C, teilweise eine antioxidative Schutzwirkung. Antioxidantien, sekundäre Pflanzeninhaltsstoffe u. ä. werden vor allem hinsichtlich ihres Einsatzes als Nahrungsergänzungsmittel beim Menschen untersucht. Es ist jedoch fraglich, ob der Einsatz von solchen Zusatzstoffen bei Schweinen zu einer Verringerung der OTA-Gehalte in Blut und Leber, und damit in Fleischprodukten, führen würde.

3.3.6 Schlussfolgerungen und Forschungsbedarf

Da OTA in Getreide vorwiegend erst während der Lagerung durch Lagerpilze produziert wird, kann die Bildung – im Gegensatz zu z.B. *Fusarium*-Toxinen – durch Einhaltung von guten Lagerungsbedingungen, die das Pilzwachstum nicht unterstützen (Einlagerung von trockenem Getreide bzw. schnelles Trocknen, Feuchtegehalt < 15 %), weitgehend minimiert werden. Den Erfolg dieser Maßnahmen sieht man daran, dass die OTA-Gehalte in Getreide seit Jahren rückläufig sind (siehe Punkt 3.3.1). Vermeidung sollte daher vor Dekontamination stehen.

Die in Deutschland in Futtermitteln vorkommenden OTA-Gehalte liegen im Mittel weit unter den Werten, die zu gesundheitlichen Beeinträchtigungen von landwirtschaftlichen Nutztieren führen können. Andererseits führen schon diese niedrigen Konzentrationen zu messbaren OTA-Rückständen in Innereien von Schlachtschweinen sowie in Blut- und Leberwürsten, die jedoch nur einen geringen Teil der OTA-Aufnahme des Menschen mit der Nahrung ausmachen.

Zusammenfassend wird kein Forschungsbedarf für Dekontaminationsmaßnahmen speziell für OTA gesehen, aber im Rahmen der Suche nach Dekontaminationsmethoden für andere Mykotoxine sollte auch die Wirksamkeit gegenüber OTA untersucht werden.

3.3.7 Literatur

- Abdel-Wahhab MA, Nada SA, Arbid MS (1999) Ochratoxicosis: prevention of developmental toxicity by L-methionine in rats. *J Appl Toxicol* 19: 7-12
- Abrunhosa L, Serra R, Venancio A (2002) Biodegradation of ochratoxin A by fungi isolated from grapes. *J Agric Food Chem* 50: 7493-7496
- Aish JL, Rippon EH, Barlow T, Hattersley SJ (2004) Ochratoxin A. In: Magan N, Olsen M (eds) *Mycotoxins in food, detection and control*. Cambridge, England, CRC Press, pp 307-338

- Akiyama H, Toyoda M, Kato M, Igimi S, Kumagai S (1997) The degradation of several mycotoxins by human intestinal microflora cultured by continuous flow culture system. *Mycotoxins* 44: 21-27
- 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
- Betz J (1993) Detoxifikation von Ochratoxin A: Auswirkungen des diätetischen Einsatzes der Alkalien Calciumhydroxid und Monomethylamin auf Blut- und Harnparameter sowie Rückstandsbildung beim Schwein. Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.
- Blank R, Höhler D, Wolfram S (1999) Ochratoxin A in der Nahrungskette - Vorkommen, Toxizität und Dekontamination. *Übers Tierernährg* 27: 123-163
- Bose S, Sinha SP (1994) Modulation of ochratoxin-produced genotoxicity in mice by vitamin C. *Food Chem Toxicol* 32: 533-537
- Boudra H, Le Bars P, Le Bars J (1995) Thermostability of ochratoxin A in wheat under two moisture conditions. *Appl Environ Microbiol* 61: 1156-1158
- Breitholtz-Emanuelsson A, Olsen M, Oskarsson A, Palminger I, Hult K (1993) Ochratoxin A in cow's milk and in human milk with corresponding human blood samples. *J AOAC Int* 76: 842-846
- Bresch H, Urbanek M, Hell K (2000) Ochratoxin A in Kaffee, Tee und Bier. *Arch Lebensmittelhygiene* 51: 89-94
- Cairns V, Magan N (2003) Impact of essential oils on growth and ochratoxin A production by *Penicillium verrucosum* and *Aspergillus ochraceus* on a wheat-based substrate. In: Credland PF, Armitage DM, Bell CH et al (eds) *Advances in stored product protection. Proceedings of the 8th International Working Conference on Stored Product Protection*, York, UK, 22-26 July 2002. Wallingford, UK, CABI Publishing, pp 479-485
- 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
- Chelkowski J, Golinski P, Godlewska B, Radomska W, Szebiotko K, Wiewiorowska M (1981) Mycotoxins in cereal grain: Part 4. Inactivation of ochratoxin A and other mycotoxins during ammoniation. *Nahrung* 25: 631-637
- Chelkowski J, Szebiotko K, Golinski P, Buchowski M, Godlewska B, Radomska W, Wiewiorowska M (1982) Mycotoxins in cereal grain: Part 5. Changes of cereal grain biological value after ammoniation and mycotoxins (ochratoxins) inactivation. *Nahrung* 26: 1-7
- Cholmakov-Bodechtel C, Wolff J, Gareis M, Bresch H, Engel G, Majerus P, Rosner H, Schneider R (2000) Ochratoxin A: Repräsentative Verzehrserhebung und epidemiologische Analyse. *Arch Lebensmittelhygiene* 51: 111-115

- Creppy EE, Baudrimont I, Betbeder AM (1995) Prevention of nephrotoxicity of ochratoxin A, a food contaminant. *Toxicol Lett* 82/83: 869-877
- Creppy EE, Baudrimont I, Belmadani A, Betbeder AM (1996) Aspartame as a preventive agent of chronic toxic effects of ochratoxin A in experimental animals. *J Toxicol -Toxin Rev* 15: 207-221
- DFG (1990) Ochratoxin A, Vorkommen und toxikologische Bewertung. Mitteilung XII der Senatskommission zur Prüfung von Lebensmittelzusatz- und -inhaltsstoffen, Weinheim, VCH
- 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
- EC (European Commission) (1998) Opinion of the Scientific Committee on Food (SCF) on ochratoxin A (expressed on 17 September 1998)
http://www.europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out14_en.html
- EC (European Commission) (2002) SCOOP, task 3.2.7, Assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population of EU Member States. European Commission, Directorate-General Health and Consumer Protection, Reports on tasks for scientific cooperation, January 2002, http://europa.eu.int/comm/food/fs/scoop/3.2.7_en.pdf.
- EC (European Commission) (2004) Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to ochratoxin A (OTA) as undesirable substance in animal feed. Request N° EFSA-Q-2003-039. *The EFSA Journal* 101: 1-36
<http://www.efsa.eu.int>
- Engel G (2000) Ochratoxin A in Süßwaren, Ölsaaten und Milcherzeugnissen. *Arch Lebensmittelhygiene* 51: 98-101
- Engelhardt G (2002) Degradation of ochratoxin A and B by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *Mycotoxin Res* 18(1):37-43
- Fanelli C, Ricelli A, Reverberi M, Fabbri A (2004) Aflatoxins and ochratoxins in cereal grains: an open challenge. In: Pandalai SG (ed) *Recent Research Developments in Crop Science*. Vol.1, Part II. Trivandrum India, Research Signpost, pp 295-317
- Fink-Gremmels J (1999) Mycotoxins: their implications for human and animal health. *Vet Quart* 21: 115-120
- Fouler SG, Trivedi AB, Kitabatake N (1994) Detoxification of citrinin and ochratoxin A by hydrogen peroxide. *J AOAC Int* 77: 631-637
- Galtier P, Alvinerie M (1976) In vitro transformation of ochratoxin A by animal microbial floras. *Ann Rech Vet* 7: 91-98
- Galvano F, Pietri A, Bertuzzi T, Piva A, Chies L, Galvano M (1998) Activated carbons: In vitro affinity for ochratoxin A and deoxynivalenol and relation of adsorption ability to physicochemical parameters. *J Food Protect* 61: 469-475
- 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
- Gareis M, Scheuer R (2000) Ochratoxin A in Fleisch und Fleischerzeugnissen. *Arch Lebensmittelhygiene* 51: 102-104
- Gareis M, Rosner H, Ehrhardt S (2000) Blutserumspiegel von Ochratoxin A und Ernährungsgewohnheiten. *Arch Lebensmittelhygiene* 51: 108-110

- Gareis M, Meussdoerffer F (2000) Dust of grains and malts as a source of ochratoxin A exposure. In: Proc. 22th Mykotoxin-Workshop, Bonn, 5.-7. June 2000, Mycotoxin Res 16A: 127-130
- Gareis M, Steffens S (2000) Mykotoxine in Fleisch, Milch und Eiern. Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung Kulmbach 39: 561-569
- Gerlach M (1992) Beseitigung von Mykotoxinen. Kraftfutter 2: 50-54
- Grosse Y, Chekir-Ghedira L, Huc A, Obrecht-Pflumio S, Dirheimer G, Bacha H, Pfohl-Leszkowicz A (1997) Retinol, ascorbic acid and alpha-tocopherol prevent DNA adduct formation in mice treated with the mycotoxins ochratoxin A and zearalenone. Cancer Lett 114: 225-229
- Hoehler D, Marquardt RR (1996) Influence of vitamins E and C on the toxic effects of ochratoxin A and T-2 toxin in chicks. Poult Sci 75: 1508-1515
- Huff WE, Kubena LF, Harvey RB, Phillips TD (1992) Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the individual and combined toxicity of aflatoxin and ochratoxin A. Poult Sci 71: 64-69
- Hult K, Teiling A, Gatenbeck S (1976) Degradation of ochratoxin A by a ruminant. Appl Environ Microbiol 32: 443-444
- Huwig A, Freimund S, Kappeli O, Dutler H (2001) Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. Toxicol Lett 122: 179-188
- Hwang CA, Draughon FA (1994) Degradation of ochratoxin-A by *Acinetobacter calcoaceticus*. J Food Protect 57: 410-414
- Jeswal P (1998) Antidotal effect of grape juice (*Vitis vinifera*) on ochratoxin A caused hepatorenal carcinogenesis in mice (*Mus musculus*). Cytobios 93: 123-128
- Jorgensen K, Petersen A (2002) Content of ochratoxin A in paired kidney and meat samples from healthy Danish slaughter pigs. Food Addit Contam 19: 562-567
- Karlovsky P (1999) Biological detoxification of fungal toxins and its use in plant breeding, feed and food production. Nat Toxins 7: 1-23
- Kuiper-Goodman T, Scott PM (1989) Risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A. Biomed Environ Sci 2: 179-248
- Kühn I (1993) Quantitative Untersuchungen zum Transfer und zur Elimination von Ochratoxin A bei wachsenden Schweinen nach langfristiger oraler Applikation. Dissertation, Christian-Albrecht-Universität Kiel, Landbauforschung Völkenrode. Sonderheft 137
- Lusky K, Tesch D, Göbel R (1993) Untersuchungen zum Einfluß des Mykotoxins Ochratoxin A auf die Tiergesundheit und auf das Rückstandsverhalten beim Schwein und aus daraus hergestellten Wurstwaren. Arch Lebensmittelhygiene 44: 131-134
- Madhyastha MS, Frohlich AA, Marquardt RR (1992a) Effect of dietary cholestyramine on the elimination pattern of ochratoxin A in rats. Food Chem Toxicol 30: 709-714
- Madhyastha MS, Marquardt RR, Frohlich AA (1992b) Hydrolysis of ochratoxin A by the microbial activity of digesta in the gastrointestinal tract of rats. Arch Environ Contam Toxicol 23: 468-472
- Madsen A, Hald B, Mortensen HP (1983) Feeding experiments with ochratoxin A contaminated barley for bacon pigs. 3. Detoxification by ammoniation heating + NaOH, or autoclaving. Acta Agric Scand 33: 171-175

- Majerus P, Cutka I, Dreyer A, El-Dessouki S, Eyrich W, Reusch H, Schurer B, Waiblinger HU (1993) Zur Belastungssituation von Ochratoxin A in Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs. Deutsche Lebensmittel Rundschau 89: 112-114
- Majerus P, Bresch H, Otteneder H (2000) Ochratoxin A in Wein, Fruchtsäften und Würzen. Arch Lebensmittelhygiene 51: 95-97
- Marquardt RR, Frohlich AA (1992) A review of recent advances in understanding ochratoxycosis. J Anim Sci 70: 3968-3988
- McKenzie KS, Sarr AB, Mayura K, Bailey RH, Miller DR, Rogers TD, Norred WP, Voss KA, Plattner RD, Kubena LF, Phillips TD (1997) Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone. Food Chem Toxicol 35: 807-820
- Molnar O, Schatzmayr G, Fuchs E, Prillinger H (2004) *Trichosporon mycotoxinivorans* sp nov., a new yeast species useful in biological detoxification of various mycotoxins. Systematic and Applied Microbiology 27(6):661-671
- 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
- Pittet A (1998) Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds - an updated review. Revue Med Vet 149: 479-492
- Plank G, Bauer J, Grünkemeier A, Fischer S, Gedek B, Berner H (1990) Untersuchungen zur protektiven Wirkung von Adsorbentien gegenüber Ochratoxin A beim Schwein. Tierärztl Prax 18: 483-489
- Raju MVLN, Devegowda G (2002) Esterified-glucomannan in broiler chicken diets contaminated with aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin: Evaluation of its binding ability (in vitro) and efficacy as immunomodulator. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 15(7):1051-1056
- 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
- Refai MK, Aziz NH, Elfar F, Hassan AA (1996) Detection of ochratoxin produced by *A. ochraceus* in feedstuffs and its control by gamma radiation. Appl Radiat Isot 47: 617-621
- Ribelin WE, Fukushima K, Still PE (1978) The toxicity of ochratoxin to ruminants. Can J Comparative Medicine 42: 172-176
- Richter W, Schuster M (1995) Vorkommen von Zearalenon und Ochratoxin A in betriebseigenem Futtergetreide. In: Proc. 17. Mykotoxin-Workshop, Braunschweig, 15.-17. Mai 1995, Landbauforschung Völkenrode, Sonderheft 157, pp 27-30
- Richter W, Schuster M, Scholz W, Gareis M (1997a) Behandlung von Ochratoxin A-haltiger Futtergerste mit Konservierungsstoffen. In: Proc. 19. Mykotoxin-Workshop, München, 2.-4. Juni 1997, pp 132-135
- Richter W, Goll M, Schuster M, Scholz W, Valenta H, Gareis M (1997b) Entgiftung von Ochratoxin A-haltiger Wintergerste mit Natronlauge und Prüfung im Tierversuch. Proc Soc Nutr Physiol 6: 53
- Rosner H, Rohrmann B, Peiker G (2000) Ochratoxin A in menschlichem Bluserum. Arch Lebensmittelhygiene 51: 104-107
- Rotter RG, Frohlich AA, Marquardt RR (1989) Influence of dietary charcoal on ochratoxin A toxicity in Leghorn chicks. Can J Vet Res 53: 449-453

- Rotter RG, Marquardt RR, Frohlich AA, Abramson D (1990) Ensiling as a means of reducing ochratoxin A concentrations in contaminated barley. *J Sci Food Agric* 50: 155-166
- Ruhland M, Engelhardt G, Wallnöfer PR, Schafer W (1994) Transformation of the mycotoxin ochratoxin A in wheat and maize cell-suspension cultures. *Naturwissenschaften* 81: 453-454
- Ruhland M, Engelhardt G, Schäfer W, Wallnöfer PR (1996a) Transformation of the mycotoxin ochratoxin A in plants: 1. Isolation and identification of the metabolites formed in cell suspension cultures of wheat and maize. *Nat Toxins* 4: 254-260
- Ruhland M, Engelhardt G, Wallnöfer PR (1996b) Transformation of the mycotoxin ochratoxin A in plants. 2. Time course and rates of degradation and metabolite production in cell-suspension cultures of different crop plants. *Mycopathologia* 134: 97-102
- Schatzmayer G, Heidler D, Fuchs E, Nitsch S, Mohnl M, Taubel M, Loibner AP, Braun R, Binder EM (2003) Investigation of different yeast strains for the detoxification of ochratoxin A. *Mycotoxin Res* 19: 124-128
- Scott PM, Kanhere SR, Lawrence GA, Daley EF, Farber JM (1995) Fermentation of wort containing added ochratoxin A and fumonisin B1 and B2. *Food Addit Contam* 12: 31-40
- Scott PM (1998) Industrial and farm detoxification processes for mycotoxins. *Revue Med Vet* 149: 543-548
- Scudamore KA (1996) Ochratoxin A in animal feed - effects of processing. *Food Addit Contam* 13: 39-42
- Scudamore KA, Nawaz S, Hetmanski MT, Rainbird SC (1998) Mycotoxins in ingredients of animal feeding stuffs: III. Determination of mycotoxins in rice bran. *Food Addit Contam* 15: 185-194
- Scudamore KA, Banks J, MacDonald SJ (2003) Fate of ochratoxin A in the processing of whole wheat grains during milling and bread production. *Food Addit Contam* 20: 1153-1163
- 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
- Skaug MA (1999) Analysis of Norwegian milk and infant formulas for ochratoxin A. *Food Addit Contam* 16: 75-78
- Soliman KM, Badeaa RI (2002) Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food Chem Toxicol* 40(11):1669-1675
- 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
- Thalmann A (1994) Vorkommen von Ochratoxin A in Getreide und daraus gewonnenen Lebens- und Futtermitteln. In: Proc. 16. Mykotoxin-Workshop und Symposium, 16.-18. Mai 1994, Hohenheim, pp 57-59
- Tomasevic-Canovic M, Dankovic A, Rottinghouse G, Matijasevic S, Duricic M (2003) Surfactant modified zeolites – new efficient adsorbents for mycotoxins. *Microporous Mesoporous Mater* 61: 173-180

- Trenholm HL, Charmley LL, Prelusky DB (1996) Mycotoxin binding agents: an update on what we know. In: Biotechnology in the feed industry; proceedings of Alltech's Twelfth Annual Symposium, Nottingham, Nottingham University Press, pp 327-349
- Turbic A, Ahokas JT, Haskard CA (2002) Selective in vitro binding of dietary mutagens, individually or in combination, by lactic acid bacteria. Food Addit Contam 19(2): 144-152
- Valenta H, Goll M (1996) Determination of ochratoxin A in regional samples of cow's milk from Germany. Food Addit Contam 13: 669-676
- Valenta H, Richter W (1998) Untersuchungen zur Reversibilität der Ochratoxin A-Umsetzung bei einem Dekontaminationsverfahren. In: Proc. 20. Mykotoxin-Workshop, Detmold, 8.-10. Juni 1998, pp 94-99
- Valenta H (1999) Ochratoxin A - Carry over, Bioverfügbarkeit aus nicht extrahierbaren Rückständen und Möglichkeiten zur Dekontamination von Futtermitteln. In: Schriftenreihe des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, Reihe A: Angewandte Wissenschaft 483, pp 243-260
- Valenta H, Dänicke S, Blüthgen A (2002) Mycotoxins in soybean feedstuffs used in Germany. Proc. 24. Mykotoxin-Workshop, Berlin, 3-5 June 2002, Mycotoxin Res 18A: 208-211
- Van Egmond HP, Speijers GJA (1994) Survey of data on the incidence and levels of ochratoxin A in food and animal feed worldwide. J Nat Toxins 3: 125-144
- Varga J, Rigo K, Teren J (2000) Degradation of ochratoxin A by *Aspergillus* species. Int J Food Microbiol 59: 1-7
- Varga J, Peteri Z, Tabori K, Teren J, Vagvolgyi C (2005) Degradation of ochratoxin A and other mycotoxins by *Rhizopus* isolates. Int J Food Microbiol 99(3):321-328
- Varga J, Toth B (2005) Novel strategies to control mycotoxins in feeds: A review. Acta Veterinaria Hungarica 53(2):189-203
- WHO/FAO (World Health Organisation/Food and Agriculture Organization) (2001) Ochratoxin A. In: Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food. Prepared by the Fifty-sixth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). WHO Food Additives Series 47; FAO Food and Nutrition Paper 74, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Wolff J, Richter W (1992) Ochratoxin A in Getreide. Getreide, Mehl, Brot 46: 355-360
- Wolff J, Bresch H, Cholmakov-Bodechtel C, Engel G, Gareis M, Majerus P, Rosner H, Scheuer R (2000a) Ochratoxin A: Kontamination von Lebensmitteln und Verbrauchergefährdung. Allgemeine Einführung. Arch Lebensmittelhygiene 51: 84
- Wolff J, Bresch H, Cholmakov-Bodechtel C, Engel G, Gareis M, Majerus P, Rosner H, Scheuer R (2000b) Ochratoxin A: Kontamination von Lebensmitteln und Verbrauchergefährdung, Resume. Arch Lebensmittelhygiene 51: 115-117
- Wolff J (2000) Ochratoxin A in Getreide und Getreideerzeugnissen. Arch Lebensmittelhygiene 51: 85-88
- Wolff J, Blüthgen A, Brüggemann J, Dänicke S, Hecht H, Jira W, Sender I, Rabe E, Schenkel H, Schwind K-H, Ubben E-H, Ueberschaer K-H, Valenta H (2004) Untersuchungen an Nebenprodukten der Müllerei auf unerwünschte Stoffe und deren futtermittelrechtliche Bewertung. Schriftenreihe des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, Reihe A: Angewandte Wissenschaft 496