

November 1978/78

Herausgegeben von der

Eidgenössischen Forschungsanstalt für Milchwirtschaft

CH-3097 Liebefeld

Direktor: Prof. Dr. B. Blanc

Zur Frage der Mykotoxine in Käse

R. Sieber

Schimmelpilze können Lebensmittel und auch Futtermittel besiedeln und verderben. Von verschiedenen Schimmelpilzarten sind Stämme bekannt, die als Stoffwechselprodukte toxische Substanzen bilden können, die sich in ihrer chemischen Struktur stark unterscheiden (1). Diese Toxine, nach ihrer Herkunft als Mykotoxine bezeichnet, werden in bestimmten Fällen durch Diffusion oder chemische Bindung in das Substrat abgegeben und können somit unabhängig vom Produzenten in andere Nahrungsmittel gelangen. Diese Mykotoxine können toxisch, krebserzeugend, mutagen und teratogen wirken und es sind bereits Mykotoxikosen bei Mensch und Tier mehrfach beschrieben worden (2).

Unter den zahlreichen bekannten Mykotoxinen, die alle als unerwünschte Begleitstoffe in Lebens- und Futtermitteln zu betrachten sind, stellen die Aflatoxine nur eine Gruppe dar, die jedoch wegen ihrer starken Giftwirkung (als akute Toxizität bezeichnet) und noch vielmehr wegen ihrer krebserzeugenden Wirkung am meisten Beachtung finden (3—5). Dabei steht vor allem das Aflatoxin B₁ im Vordergrund, wobei die übrigen Derivate wie B₂, G₁, G₂ und M₁ mengenmässig nicht dominieren. Aflatoxin M₁ hingegen spielt gerade in der Milchwirtschaft eine besondere Rolle, da es aus dem im Futter enthaltenen Aflatoxin B₁ in der Leber von laktierenden Kühen entsteht und durch die Milch zu etwa 1 Prozent ausgeschieden wird. Verschiedentlich wurde dieses Toxin schon in Milch nachgewiesen, wobei vor allem die Verfütterung von Kraftfutter einen nachteiligen Einfluss hat (6, 7). Nach der Verarbeitung von aflatoxinhaltiger Milch ist das Aflatoxin M₁ ebenfalls in den verschiedenen Milchprodukten anzutreffen.

Beim Käse ist neben dem in der Milch möglicherweise vorkommen-

den Aflatoxin M₁ noch ein anderer Weg zu beachten, der zu einer Mykotoxinkontamination beitragen kann. Bei verschiedenen Weichkäsen (Camembert, Brie, Roquefort u. a.) werden bei der Käsefabrikation Schimmelpilzkulturen verwendet. Der Frage, ob unter der Reifungsflora von Käsen mit Schimmelpilzen Mykotoxinbildner und in Schimmelkäse Mykotoxine vorhanden sein können, sind wir bereits in einer früheren Arbeit nachgegangen (8). Daneben können Schimmelpilze bei der Herstellung und Lagerung von Käse als unerwünschte Infektionsflora auftreten und den Käse besiedeln. Im folgenden soll anhand der Literatur die Frage abgeklärt werden, welche Rolle einerseits das in der Milch vorhandene Aflatoxin M₁ bei der Käsefabrikation spielt und ob andererseits eine Bildung anderer Mykotoxine während der Reifung und Lagerung der Käse zu erwarten ist.

1. Aflatoxin M₁ in Käse

1. Ueber die Verteilung von Aflatoxin M₁ während der Käsefabrikation

Die Verteilung von Aflatoxin M₁, das in die Milch nach Verfütterung von aflatoxinverunreinigten Futtermitteln ausgeschieden wurde, ist verschiedentlich untersucht worden (9—15). Dabei bestehen jedoch Unterschiede in der Versuchsdurchführung, in der Bestimmungsmethode und in der Darstellung der Versuchsergebnisse, wie sich dies aus der Tabelle 1 ergibt. Im allgemeinen lässt sich sagen, dass das Aflatoxin M₁ sich ungefähr zur Hälfte auf Bruch und Molke verteilt. Dabei haben sowohl steigende Labmengen wie auch eine Säuerung mit organischen Säuren wie Milchsäure oder Zitronensäure keinen Einfluss auf die Verteilung des Aflatoxin M₁, während steigende

Temperaturen bei der Einlabung und die Verwendung von Säurewecker gleichzeitig mit steigender Temperatur zu einer Verminderung des Anteils von M₁ im Bruch führt, was als Folge der Synärese zu deuten ist. Durch die bei der Einlabung üblichen Temperaturen vermindert sich der Aflatoxin M₁-Gehalt im Bruch um etwa 12 Prozent, beim Käse mit höheren Brenntemperaturen kann dadurch noch eine zusätzlich Abnahme erzielt werden. Mit dem Waschen des Käsebruchs kann der Aflatoxin M₁-Gehalt im Käse in der Grössenordnung von 10—20 Prozent verringert werden (15).

2. Zum Verhalten des Aflatoxin M₁ während der Reifung und Lagerung von Käse

Aflatoxin M₁ wird im Käse gegenüber der Ausgangsmilch, unmittelbar nach der Herstellung, um den Faktor 3,2—3,7 (natürlich kontaminierte Milch) und 2,4—2,8 (künstlich kontaminierte Milch) angereichert (16). Nach kurzer Zeit erfolgt beim Camembert während der Reifung und Lagerung eine Zunahme des Gehalts an Aflatoxin M₁, bezogen auf die Trockenmasse, um bis zu 55 Prozent, beim Tilsiter um 23 Prozent. Zur Erklärung dieser Toxinzunahme wird angenommen, dass ein Teil des Toxins an Kasein und Molkenproteine gebunden vorliegt und erst während der Käsereifung desorbiert wird. Nach der Fraktionierung der Molke in eiweissfreie Molke und Molkenprotein konnte bei den Molkenproteinen eine erhebliche Anreicherung des Aflatoxin M₁ festgestellt werden (16). In Einklang damit stehen Untersuchungen von ALLCROFT und CARNAGHAN (9), die toxische Milch fraktionierten und dabei nur in der Kaseinfraktion eine toxische Wirkung nachwiesen. Ebenso haben MC KINNEY et al. (12) eine Bindung des

Milchtoxins an das Kasein angenommen. Demgegenüber schlossen STUBBLEFIELD und SHANNON (13) aus ihren hohen Wiederfindungsraten, dass das Aflatoxin M₁ gar nicht oder nur zu einem geringen Teil an das Kasein gebunden ist. Auch andere Arbeiten haben eine Bindung der Aflatoxine an Proteine diskutiert, ebenso konnte nach Fütterungsversuchen Aflatoxin M₁ in Blut, Harn und Gewebe sowohl ungebunden wie auch als Glucuronid, Sulfat und Taurocholat nachgewiesen werden (17—21).

Während der weiteren Lagerung nimmt jedoch der Gehalt an Aflatoxin M₁ ab: bei Frischkäse um 4—12 Prozent, bei Camembert und Tilsiter um ca. 25 Prozent. Bei einem Vergleich zwischen der Rinde und dem Teig konnte gezeigt werden, dass der Camembert-Schimmel das Aflatoxin M₁ nicht abbaut. Auch bei 3-monatigem Tilsiterkäse, der in 12 Schichten aufgeteilt wurde, konnten keine Unterschiede im Toxingehalt, bezogen auf die Trockenmasse, festgestellt werden (16).

3. Aflatoxin M₁ in reifem Käse

In Milch wurde bereits mehrere Male Aflatoxin M₁ gefunden. Es ist deshalb zu erwarten, dass es in reifem Käse ebenfalls vorhanden ist. So wurde auch in verschiedenen Käsesorten Aflatoxin M₁ nachgewiesen (Tab. 2) (7, 22, 23, 70).

POLZHOFFER (7) stellte insgesamt höhere durchschnittliche Aflatoxin

Tab. 2: Aflatoxin M₁ in Käseproben (amerikanische, deutsche und französische Untersuchungen)

Art der Käse	Anzahl Proben	Positive Proben in %	Spuren in % der pos. Pr.	Autor
Cottage cheese	209	7		Bureau of Foods (23) Polzhofer (7)
Friskkäse	80	34		
Camembert	65	51		
Hartkäse	77	75		
Schmelzkäse	134	40		
Käse	197	69	54	Kiermeier et al. (22)
davon: Romadur	50	70	54	
Camembert	38	50	74	
Edamer	32	97	35	
Tilsiter	24	75	38	
Camembert	100	1		Corbion u. Frey (70)

M₁-Werte im Käse als KIERMEIER et al. (22) fest, was möglicherweise auf den Zeitpunkt der Untersuchung zurückzuführen ist (Sept. 72 bis Dez. 74 gegenüber Mai bis Aug. 76), da die EG im Jahre 1974 Höchstmengen für den Aflatoxin B₁-Gehalt in Futtermitteln festgelegt hatte. KIERMEIER et al. (22) konnten in 73 Fällen (54 Prozent der positiven Proben) nur Spuren feststellen, die quantitativ nicht erfasst werden konnten. Bei Weichkäsen stellten sie überdies einen jahreszeitlichen Einfluss fest. So nahm die Kontamination von Anfang Mai bis Ende Juni von 70 auf 40 Prozent der Proben signifikant ab, um im August (fast 80 Prozent) wieder deutlich anzusteigen, was auf den Grünfuttermangel, bedingt durch die im Juli 76 herrschende Trockenperiode, und die damit erforderliche Verfütterung von Kraftfuttermitteln zurückzuführen sein dürfte.

4. Vermeidung der Aflatoxin M₁-Kontamination in Käse

Eine Vermeidung der Aflatoxin M₁-Belastung des Käses kann nur über die Milch erreicht werden und dies lässt sich allein über die Verfütterung von Futtermitteln, die keine Aflatoxine enthalten, an das Milchvieh erzielen. So haben verschiedene Fütterungsversuche gezeigt, dass nach dem Absetzen von aflatoxinkontaminiertem Futter die Ausscheidung von Aflatoxin M₁ in die Milch nach einigen Tagen verschwunden war.

In der Schweiz hat die Eidg. Forschungsanstalt für viehwirtschaftliche Produktion, Grangeneuve (24) auf den 1. Aug. 1977 eine Verordnung an die Futtermittelfabrikanten erlassen, wonach Erdnussprodukte, die als Bestandteile von Kraftfutter für die Milchviehfütterung bestimmt sind, keine nachweisbaren Mengen an

Tab. 1: Verteilung des Aflatoxins M₁ bei der Käsefabrikation

Tab. 1: Verteilung des Aflatoxins M₁ bei der Käsefabrikation

Autor	Käse	Bruchbereitung	Bestimmungsmethode	wiedergefundenes Aflatoxin M ₁ in % Bruch	Molke
a) mit künstlich kontaminierter Milch					
Grant u. Carlson (10) Stubblefield u. Shannon (13)	Cottage	Lab	DC, visuell	50	40
	Cheddar	Lab	DC, densitometrisch	47	50
	Colby			56	48
	Swiss			44	44
	Cottage: short-set long-set	Säuerung	DC, densitometrisch	40 45	71 47
Kiermeier u. Buchner (15)	Labkäse	Labmenge variabel, Temp. konst. 35 °C	DC, densitometrisch	50,7	44,4
	Labkäse	Labmenge konst., Temp. 20—50 °C	DC, densitometrisch	48,1—37,2	44,2
		Säurewecker Temp. 20—50 °C	DC, densitometrisch	52,1—48,5	41,3—41,2
b) mit natürlich kontaminierter Milch					
Allcroft u. Carnaghan (9)		Lab	Entenkükentest / in Kaseinfraktion		
Purchase et al. (11)	Cottage	Säuerung	DC, densitometrisch	nicht gefunden	114 ppb
McKinney et al. (12)		Lab	DC, densitometrisch	ca. 80	20
Stoloff et al. (14)	Cottage		DC, densitometrisch	ca. 51	49
Kiermeier u. Buchner (15)	Camembert	Lab	DC, densitometrisch	58,4	40,5
	Tilsiter	Lab	DC, densitometrisch	51,5	42,2
	Friskkäse	Säuerung	DC, densitometrisch	59,4	38,5

DC = dünnstichtchromatographisch

Aflatoxinen enthalten dürfen, weil in vorangehenden Untersuchungen festgestellt wurde, dass unter den Futtermittelbestandteilen vor allem die Erdnussprodukte am stärksten mit Aflatoxinen belastet sind. Die Untersuchungen der Mischfuttermittel im letzten Winter zeigte eine Verminderung von aflatoxinkontaminierten Mischfuttermitteln; so hat nach HÜNI (25) die Anzahl der Proben mit nicht nachweisbaren und noch tolerierbaren Aflatoxinmengen von 36 Prozent im Winter 1976/77 (59 Proben) auf 60 Prozent im Okt.—Dez. 1977 (489 Proben) und 74 Prozent im Jan.—Febr. 1978 (298 Proben) zugenommen. Auch wird geprüft, ob Art. 8, Absatz 1 des Schweizerischen Milchlieferungsregulativs mit einem weiteren Zusatz zu versehen ist.

II. Zur Frage der Mykotoxinbildung auf Käse

1. Faktoren der Mykotoxinbildung

Während der Herstellung, Reifung und Lagerung wirken auf den Käse recht unterschiedliche Bedingungen ein. So werden die Käse von wenigen Tagen bis zu mehreren Monaten gelagert und bei recht unterschiedlichen relativen Luftfeuchtigkeiten und Temperaturen aufbewahrt. Beim Emmentaler wurden in verschiedenen Käseereien in Heiz- und Lagerkeller relative Luftfeuchtigkeiten von 42—87 resp. 55—96 Prozent gefunden, wobei die Lagerung normal bei Werten von 72—78 Prozent relativer Luftfeuchtigkeit durchgeführt wird (26). Es besteht die Möglichkeit, dass der Käse mit Schimmelsporen auf irgendeine Art in Berührung kommt, da diese vor allem über die Luft als Kontaminationsquelle ihren Weg finden. Nur eine kleine Anzahl unter den etwa 100 000 bekannten Pilzarten kommen als Mykotoxinbildner in Frage. So nimmt man heute an, dass nur *Aspergillus flavus* LINK ex FRIES und *Aspergillus parasiticus* SPEARE sowie die Unterarten *A. flavus* var. *columnaris* RAPER et FENNELL und *A. parasiticus* var. *globosus* MURAKAMI Aflatoxine bilden können (4). An Einflüssen für die Mykotoxinbildung sind zu beachten (27):

- Temperatur
- Luftfeuchtigkeit
- Zeit
- pH-Wert
- atmosphärische Bedingungen
- Nährstoffangebot
- biologische Faktoren.

Eine ausführliche Darstellung dieser Faktoren ist bei FRANK (4) ganz allgemein und bei KIERMEIER (5) speziell für Milchprodukte zu finden. Für Aflatoxinbildner liegt die untere Temperaturgrenze für die Bildung bei 5—12 °C und die obere bei 37—40 °C. Doch unterscheiden sich die einzelnen Stämme in ihrer optimalen Temperatur. Bei einer Temperatur von 1 °C konnten KIERMEIER und BEHRINGER (28) 14 Tage nach Beimpfen eines feuchten Milchpulvers mit *A. parasiticus* eine bedeutende Aflatoxinbildung feststellen. Doch zeigte sich bei der Beimpfung von Tilsiter mit *A. flavus* und *A. parasiticus* erst oberhalb einer Temperatur von 18 °C eine Toxinbildung (29).

Nach FRANK (4) limitiert die Feuchtigkeit wahrscheinlich nur das Pilzwachstum, übt aber auf die Aflatoxinbildung selbst keinen nennenswerten Einfluss aus. So ist für das Auskeimen der Pilze eine höhere Feuchtigkeit notwendig als zu ihrem Wachstum, da über den Stoffwechsel soviel Wasser gebildet wird, dass das Wachstum weitergehen kann. Deshalb spielt der Wassergehalt des Substrates und vor allem die Feuchtigkeit auf der Substratoberfläche eine wichtige Rolle. So zeigte sich, dass bei Temperaturen von 10, 13 und 16 °C und einer reduzierten Wasseraktivität (a_w -Wert: 0,95 und weniger) keine oder nur eine geringe Toxinproduktion von 3 toxischen *A. flavus*-Stämmen, die auf 2 verschiedenen Kulturmedien (Malzextrakt-Agar mit Saccharose oder Glycerin) gehalten wurden, nachweisbar war (72).

Neben diesen Faktoren sind die übrigen in ihrer Bedeutung als geringer einzustufen. Bei Versuchen mit Aflatoxin über längere Zeit wurde beobachtet, dass deren Gehalt in einem Nahrungsmittel nicht konstant ist, sondern scheinbar willkürlich zu- und abnimmt (27, 30). Der pH-Wert kann die Toxinbildung beeinflussen (29, 31), O₂- und CO₂-Konzentrationen in der Luft sind weitere beeinflussende Faktoren. Versuche mit halbsynthetischen Nährmedien haben gezeigt, dass verschiedene C- und N-Quellen sowie einige Spurenelemente einen fördernden bzw. einen hemmenden Einfluss auf die Toxinbildung ausüben. Laktat wie auch Laktose sind eine für die Aflatoxinbildung ungeeignete C-Quelle für *A. flavus* und *A. parasiticus* (32, 33), während Laktat zur Bildung von Citreoviridin durch *P. citreoviride* als einzige C-Quelle ausreicht (71). In geringen Mengen beeinflusst Koch-

salz die Aflatoxinbildung positiv, während bei Konzentrationen zwischen 2—10 Prozent die Toxinbildung nicht so hoch ist wie bei geringen Salzkonzentrationen oder ohne Salzzusatz (34).

Unter den biologischen Faktoren sind vor allem das unterschiedliche Toxinbildungsvermögen der Pilze und die Wechselwirkung mit anderen Pilzen zu berücksichtigen. So konnte bei Camembert wie auch bei anderen Schimmelpilzkäsen der Kulturschimmel das Wachstum aflatoxinbildender Schimmelpilze verhindern (29, 35). Ebenso konnte bei Romadur vermutlich durch die Schmierebildung, ein Aflatoxin B₁-Vorkommen ausgeschlossen werden (29).

2. Modellversuche zur Mykotoxinbildung auf Käse

Verschiedene Arbeiten, in denen Käse wie Tilsiter, Emmentaler, Provolone, Mozzarella, Swiss cheese, Cheddar, Brick mit Mykotoxinbildnern wie *A. flavus* oder *A. parasiticus* oder *P. patulum* oder *P. citreoviride* bei unterschiedlicher Inkubationsdauer und Temperatur inokuliert wurden, haben die Möglichkeit eines Schimmelpilzwachstums und auch einer möglichen Mykotoxinbildung aufgezeigt (30, 35—41, 69). So wurde ein Wachstum des beimpften *A. flavus*-Stammes bei 20 °C resp. 30 °C nach 11—12 Tagen resp. 7 Tagen beim Emmentaler und 9 resp. 5 Tagen beim Tilsiter festgestellt (38), während bei Cheddar ein Wachstum bereits 3 Tage nach der Beimpfung bei Raumtemperatur erfolgte (36). Auch 7 Tage nach Beimpfung einer homogenen Paste verschiedener Käsesorten mit *A. flavus* wurde ein unterschiedliches Schimmelpilzwachstum festgestellt, das aber in jedem Falle zu einer Toxinbildung führte (35). Bei Tilsiter wurden nach 20 Tagen bei 16 °C deutlich geringere Mengen an Aflatoxin (B₁, G₁) als bei 27 °C gebildet, daneben konnten noch Ochratoxin A und Citreoviridin nachgewiesen werden, nicht jedoch Penicillinsäure, Patulin, Citrinin und Sterigmatocystin, obwohl die Mykotoxinbildner zum Teil gut gewachsen waren (69). Nach diesen Versuchen ist die Mykotoxinbildung auf dem Substrat «Käse» möglich; negative Befunde weisen daraufhin, dass die Käseart wie auch dessen Herstellungsweise entscheidende Faktoren für die Mykotoxinbildung darstellen (Tab. 3).

Untersuchungen über den Einfluss der Temperatur und der relativen Luftfeuchtigkeit auf die Aflatoxin-

B₁-Bildung beim Tilsiter haben KIERMEIER und GROLL (29, 42) durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass *A. flavus* und *A. parasiticus* oberhalb einer Temperatur von 18 °C und *Penicillium puberulum* oberhalb von 5 °C und bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 79–99 Prozent sehr gut wachsen und entsprechend den Bedingungen mehr oder weniger Aflatoxin B₁ produzieren (Tab. 4). So ist unter optimalen Bedingungen (Temperatur 26 °C, rel. Luftfeuchtigkeit 99 Prozent) das Aflatoxin bereits 3–4 Tage nach Beimpfung des Pilzes *A. flavus* im Käse aufzufinden, während unter optimalen Temperaturbedingungen (26 °C) die Bedingungen bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 72 Prozent jedoch nicht für ein Pilzwachstum von *A. flavus* auf Tilsiterkäse ausreichen.

Mykotoxine, die auf der Oberfläche von Schimmelpilzen gebildet werden, können in den Käse hineindiffundieren. Im allgemeinen wurden etwa 1,5–2 cm unter der Oberfläche keine Mykotoxine mehr gefunden (30, 36, 37, 40, 43). Einzig in Brick-Käse, beimpft mit *A. parasiticus*, wurden bis 4 cm unter die Oberfläche bei Temperaturen von 12,8 °C resp. 23,9 °C nach einer Woche resp. nach 4 und 14 Wochen Aflatoxine gefunden (40).

Als weitere Mykotoxine im Zusammenhang mit Käse sind Patulin und Penicillinsäure erwähnt worden. Beide Toxine sind Stoffwechselprodukte zahlreicher *Penicillium*- und *Aspergillus*-Arten. Aus der Oberfläche von Cheddarkäse waren 82,2 Prozent der aufgefundenen Schimmelpilze *Peni-*

cillium-Arten, 4 Prozent davon konnten auf einem synthetischen Medium Patulin bilden. Kulturextrakte von 19,8 Prozent waren toxisch gegenüber Hühnerembryonen (44). Einer dieser Isolate konnte als *P. patulum* identifiziert werden und bildete bei 5 °C Patulin auf einem Substrat aus Lactose und peptonisierter Milch oder Kasein (43).

Aus der Oberfläche von Swiss cheese wurden 183 Schimmelpilze isoliert, davon waren 87 Prozent *Penicillium*-arten. Bei 5 °C waren 93 Prozent der Flora und bei 21 °C 79 Prozent *Penicillium*-arten. Kulturextrakte von 34 Prozent aller Isolate waren im Hühnerembryonentest toxisch. In 10 Isolaten konnten im Kulturextrakt Penicillinsäure, Patulin und Aflatoxine nachgewiesen werden. Nach 6-wöchiger Lagerung bei 5 °C war in 4 von 33 verschimmelten Käseproben nach den Ergebnissen der Dünnschichtchromatographie und den UV- und IR-Spektren Penicillinsäure vorhanden (45).

Die Stabilität von Patulin und Penicillinsäure, die zu Käse gegeben wurden, wurde überprüft. Patulin verschwand in Cheddar in den ersten 3 Stunden zu mehr als 70 Prozent und nach 48 Stunden zu mehr als 80 Prozent (46). Patulin wie auch Penicillinsäure waren in Swiss cheese nach einer 7-tägigen Lagerung bei 5 °C nur noch zu 8 resp. 5 Prozent vorhanden (41).

Es zeigte sich, dass Cheddar-, Mozzarella-Käse wie auch Swiss cheese keine guten Substrate für die Patulin- und Penicillinsäurebildung darstellen, auch wenn auf ihnen Schim-

mel ausgezeichnet wachsen (41, 46) oder eine aus Cheddar isolierte *Penicillium*-art, als eine atypische Form von *P. roqueforti* identifiziert, auf einem künstlichen Medium Patulin und Penicillinsäure bildete (47), während in einer anderen Untersuchung *P. roqueforti* NRRL 856 in einem Paulin-Thom-Medium mit verschiedenen C-Quellen keine Penicillinsäure bildete (48). Es wurde bereits festgestellt, dass die Patulin- und die Penicillinsäurebildung in Substraten mit einem geringen Anteil an Kohlehydraten und einem hohen Anteil an Kasein herabgesetzt ist (43) und auch, dass in Verbindung mit Kasein Laktose gegenüber Glukose ein schlechtes Substrat für die Patulin- und Penicillinsäurebildung darstellt (47). Es scheint, dass diese beiden Toxine möglicherweise mit Sulfhydrylverbindungen reagieren, wie dies auch bei in vitro-Untersuchungen mit Glutathion und Cystein gezeigt werden konnte (49). Nach den Untersuchungen von CIEGLER et al. (50) bleibt die biologische Aktivität in Form einer potentiellen Teratogenität vorhanden, was aber LIEU und BULLERMANN (49) nicht bestätigen konnten.

Erst kürzlich wurde berichtet, dass *Penicillium camemberti*-Isolate auf Malzextrakt-Agar Cyclopiazonsäure bilden (73). Es handelte sich dabei um 43 Isolate, von denen 9 kommerziell verwendete Starterkulturen für Käse waren, 10 von Camembert-Käsen isoliert wurden und 24 aus Stammsammlungen herstammten. Dass Temperatur und Zeit massgebliche Faktoren für die Cyclopiazonsäure-Bildung in Käse sind, zeigte

Tab. 3: Modellversuche zur Mykotoxinbildung auf Käse

Substrat	Schimmelpilz	Temp. in °C	Untersuchte Schicht in cm	Bestimmung nach Tagen	Mykotoxine	Gehalt an Mykotoxinen ppb	Autor
Tilsiter	<i>A. flavus</i> (400)	30	0–0,5 0,5–1,0	6 6	B ₁ , G ₁ B ₁ , G ₁	200, 600 je 20	Frank (37)
Emmentaler/ Tilsiter	<i>A. flavus</i> (373)	10 20 30	— — —	60 20 20	Aflatoxine Aflatoxine Aflatoxine	negativ positiv positiv	Rothenbühler u. Bachmann (38)
Käsepulver- paste	<i>A. parasiticus</i> (403)	5	—	21	B ₁ , G ₁ , G ₂ , M ₁	7, 0, 97, 4	Kiermeier u. Behringer (30)
Provolone	<i>A. parasiticus</i> (403)	20	0,2–0,5 0,5–1,0	10 40 10 40	B ₁ , G ₁ , G ₂ , M ₁	1,3, 10,5, 1,0, 1,7 +, 0,2, 0, 0 1,7, 9,3, 0,6, 0 0,5, 3,6, 0,2, 0	Kiermeier u. Behringer (30)
Swiss cheese	<i>A. flavus</i> (NRRL 5520)	5, 12, 25	—	42, 28, 14	Aflatoxine	negativ	Lieu u. Bullermann (41)
Swiss cheese/ Mozzarella	<i>P. sp.</i> (M 247)	5, 12, 25	—	42, 28, 14	Patulin, Penicillinsäure	negativ	Lieu u. Bullermann (41)
Tilsiter	<i>P. patulum</i> (M 59)						Engel (70)
	<i>A. flavus</i> (6520)	16 27	— —	20 —	B ₁ , B ₂ , M ₁	8, —, — 2000, 200, —	
	<i>A. parasiticus</i> (6521)	16 27	— —	20 —	B ₁ , G ₁	3, 3 15, 35	

sich im folgenden Versuche. Camembert-Käse enthielt nach der Reifezeit von 6 Tagen bei 14 bis 16 °C und nach einer 12-tägigen Lagerung bei 8 resp. 14 bis 16 °C keine Cyclopiazonsäure; wurde jedoch nach der Reifung eine 5- oder 12-tägige Lagerung bei 25 °C angeschlossen, so wurde in Käse mit 20 Prozent Fettgehalt i. T. 1,1 resp. 0,8 ppm und in Käse mit 50 Prozent Fettgehalt i. T. 4 ppm Cyclopiazonsäure gefunden.

3. Zur Verhinderung der Mykotoxinbildung auf Käse

Die Bildung von Mykotoxinen setzt das Wachstum von toxinbildenden Schimmelpilzen voraus. So ist beispielsweise von *Aspergillus flavus* bekannt, dass neben toxischen Stämmen auch solche existieren, die keine Aflatoxine bilden können (4).

Die Schimmelpilzentwicklung kann durch verschiedene Massnahmen verhindert werden. So stehen im Prinzip folgende Möglichkeiten zur Verfügung: physikalische, chemische und biologische Hilfen (51). Da nach Art. 86 der Schweiz. Lebensmittelverordnung (52) Käse ausser Kochsalz keine fremden Beimischungen enthalten darf, kommen chemische (z. B. Verbindungen der Sorbinsäure u. a.) (46, 51, 53, 54), wie auch biologische (z. B. Pimaricin) (51, 53, 55, 56) Mittel nicht in Frage. Physikalisch kann das Schimmelpilzwachstum

Tab. 4: Aflatoxin-B₁-Produktion auf beimpften Käse bei verschiedenen Temperaturen und relativen Luftfeuchtigkeiten (nach Groll, 42)

Substrat	Schimmelpilz	Temp. °C	rel. Luftf. %	Untersuchte Schicht in cm	Bestimmung nach ... Tagen	Gehalt an Aflatoxin B ₁ µg/10 g
Tilsiter	A. flavus	18 a	99	0—0,6/0,6—1,3	15	9,75 / <1,0
		20 b			8	21,27 / 3,55
		23			3	<1,0 / —
		26			4	33,7 / <1,0
		30			3	<1,0 / —
Tilsiter	A. flavus	25	79 c	0—0,6/0,6—1,3	7	31,0 / <1,0
			85		4	3,5 / —
			92		5	12,4 / <1,0
			99		4	33,7 / <1,0

a nach 6, 8 und 11 Tagen Resultat negativ

b nach 6 Tagen Resultat negativ

c nach 4 Tagen Resultat negativ

durch

- Klimatisierung (Temperatur, relative Luftfeuchtigkeit)
 - Waschen und Bürsten der Käsoberfläche
 - Erhitzung
 - Trocknung
 - Sauerstoffentzug
 - Beschichtungen
 - Reifung in der Folie
 - submerse Lagerung oder
 - UV-Bestrahlung
- verhindert werden.

Unter praktischen Verhältnissen kommen der Klimatisierung im Käsekeller wie auch dem Waschen der Käsoberfläche eine wesentliche Bedeutung bei der Bekämpfung des Schimmelpilzwachstums zu. Die UV-Bestrahlung der Käsoberfläche hat sich wegen der Grösse der Bankun-

gen und der Gefahr einer Braunfärbung der Käse nicht bewährt. Gerade die Behandlung im Keller, wo während der Gärung der Hartkäse die Temperatur bei etwa 24 °C und die relative Feuchtigkeit bei ungefähr 75—85 Prozent liegen, verfolgt das Ziel, das Wachstum von Fremdkernen auf der Oberfläche zu unterbinden oder Schimmelpilzkolonien durch Waschen und Bürsten zu unterdrücken, auch wenn man aus den Versuchen über den Einfluss der Häufigkeit des Waschens einer künstlich beimpften Oberfläche auf den Gesamtaflatoxingehalt der Rindenschicht bei Tilsiterkäse den Eindruck erhalten könnte, dass durch das Waschen die obere Schicht des Käses für eine Diffusion von Aflatoxinen zugänglicher wird (30).

Tab. 5: Zusammenstellung der Arbeiten, bei denen Käse auf Mykotoxine untersucht wurden

Autor	Käse	Anzahl Proben	Untersucht auf	Ergebnis
Frank u. Eyrich (57)	Quark, Käse	4	Aflatoxine	negativ
Shih u. Marth (58)	Blauschimmelkäse, Roquefort, Camembert	10	Aflatoxine	negativ
Rothenhühler u. Bachmann (38)	Weiss- u. Blauschimmelkäse, Rotbakterienkäse	11	Aflatoxine	negativ
Kiermeier u. Groll (29)	Tilsiter, Edamer, Romadur, Camembert	169	Afl. B ₁	negativ
Kiermeier u. Böhm (59)	Emmentaler, Tilsiter, Edamer, Romadur	222	Afl. B ₁ , G ₁	Verdacht bei 34 Proben
Bulinski (60)	Camembert, Rokpol	80	Afl. B ₁ , G ₁	negativ
Hanssen u. Jung (61)	Edamer, Käsepulver	22	Aflatoxine	negativ
Bureau of Foods (23)	Cottage cheese	209	Afl. M ₁	15 Proben positiv
Kiermeier u. Rumpf (62)	Schmelzkäse	115	Afl. B ₁ , G ₁	2 Proben positiv
Lück et al. (63)	Gouda, Cheddar, Blauschimmelkäse, Camembert, Brie	42	Aflatoxine, Ochratoxine, Sterigmatocystin, Patulin, Cyclopiazonsäure	negativ
Paul et al. (64)	Käse	26	Afl. B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ , M ₁	6 Pr. B ₁ - und 1 Pr. B ₂ -pos.
Laub u. Woller (65)	Käse, Schmelzkäse, Schmelzkäsezubereitungen	72	Afl. B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂	negativ
Polzhofer (7)	Frischkäse, Camembert, Hartkäse, Schmelzkäse	356	Afl. B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ , Afl. M ₁	negativ positiv
Kiermeier et al. (22)	Romadur, Camembert, Edamer, Tilsiter	167	Afl. B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂ , Afl. M ₁	negativ positiv
Jacquet et al. (66)	Käse	90	Aflatoxine	Verdacht bei 3 Pr.
Carini u. Cerutti (67)	Käse	16	Aflatoxine	negativ
Corbion u. Frey (70)	Camembert	100	Afl. B ₁ , M ₁	1 Pr. M ₁ -positiv
Still et al. (73)	Camembert, Brie	12	Cyclopiazonsäure	negativ

Besonders wichtig zur Vermeidung des Wachstums von Schimmelpilzen ist die Beziehung zwischen Temperatur und relativer Luftfeuchtigkeit. Modellversuche an Tilsiter haben jedenfalls gezeigt, dass sowohl bei einer Temperatur von 16 °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 99 Prozent wie auch bei 26 °C und 72 Prozent relativer Luftfeuchtigkeit kein Wachstum von *A. flavus* festgestellt werden konnte (29).

4. Zum Vorkommen von Mykotoxinen in Käse

Es existieren zahlreiche Arbeiten, bei denen verschiedene Käsesorten auf Mykotoxine, vor allem auf Aflatoxine, untersucht wurden (Tab. 5) (7, 22, 23, 29, 38, 57—67, 70). Dabei sind unter 222 Käseproben 34 (59) und unter 90 Proben 3 (66) als aflatoxinverdächtig und unter 115 Schmelzkäseproben 2 (62) und unter 26 Käseproben 6 (64) als aflatoxin-positiv beschrieben worden.

Gesamthaft lässt sich aus diesen Resultaten schliessen, dass eine Mykotoxinbildung in Käse nur in wenigen Fällen eingetreten ist, auch wenn die Modellversuche mit Beimpfung von Käse mit bekannten Mykotoxinbildnern auf die Möglichkeit einer stärkeren Mykotoxinbelastung hingewiesen hatten. Dabei ist zu bedenken, dass in diesen Modellversuchen Käse massiv beimpft und bei Temperaturen bebrütet wurden, bei denen normalerweise Käse weder aufbewahrt noch gelagert werden sollte.

Schluss

Die Aflatoxinkontamination von Milch und Milchprodukten ist ein ernstes Problem, vor allem wenn man bedenkt, dass nach SCHLATTER (68) die noch duldbare Aflatoxinaufnahme pro Mensch · Tag nach linearer Extrapolation der Tierversuche 1 ng, nach der Probit-Methode 20 ng und nach der Mantel-Bryan-Methode 2 ng nicht übersteigen sollte (1 ng = 1 Milliardstel Gramm) und dass das Aflatoxin M_1 nur 4—10 mal weniger krebserzeugend wirkt als B_1 . Zu diesen Zahlenwerten der noch duldbaren Aflatoxinaufnahme beim Menschen ist noch zu erwähnen, dass es sich nicht um wissenschaftlich ermittelte exakte Zahlen handelt, dass sie aber wenigstens einen gewissen Hinweis über die Grössenordnung der möglichen Risiken aufzeigen (68).

Eine Verhinderung der Kontamination des Käses an Aflatoxin M_1 kann einzig über die Verfütterung nichtafla-

toxinhaltigen Futtermitteln an das Milchvieh erreicht werden. In der Schweiz haben die Resultate der im letzten Winter untersuchten Mischfuttermittel gezeigt, dass die von der Eidgenössischen Forschungsanstalt für viehwirtschaftliche Produktion erlassene Verordnung, wonach Erdnussprodukte, die zur Milchviehfütterung bestimmt sind, keine nachweisbaren Aflatoxinmengen enthalten dürfen, sich bereits positiv ausgewirkt hat und dass über diesen Weg die Aflatoxin M_1 -Belastung von Milch und Milchprodukten zu sanieren ist.

Eine Bildung von Mykotoxinen in und auf Käse kann nach den heutigen Kenntnissen unter den normalen Bedingungen im Käsekeller als gering eingestuft werden, auch wenn nach einer künstlichen, meist massiven Beimpfung des Käses mit Mykotoxinbildnern eine Toxinbildung festgestellt wurde. Es gilt vor allem, das Schimmelwachstum durch geeignete Massnahmen zu verhindern wie Lagerung bei tiefen Temperaturen und einer niedrigen relativen Luftfeuchtigkeit, Bürsten und Waschen der Käsoberfläche in zeitlich kurzen Abständen, sauerstofffreie Verpackung.

Unter extremen Bedingungen wie hohe Temperatur und relative Luftfeuchtigkeit sind die Bedingungen für das Wachstum von Schimmelpilzen ideal, ein Mykotoxinvorkommen kann nach einem einmal stattgefundenen Schimmelpilzbefall nicht völlig ausgeschlossen werden; vor allem aber bei einem dauernden und massiven Befall.

Wird das Kellerklima bei Temperaturen unter 16 °C und mit einer relativen Luftfeuchtigkeit von etwa 72—78 Prozent eingehalten und ist eine einwandfreie Käsepflege gewährleistet, so besteht nach den heutigen Kenntnissen keine Gefahr einer Mykotoxinbildung auf Käse.

Literatur

- MOREAU, C.: Moississures toxiques dans l'alimentation Masson et Cie, Paris (1974)
- AUSTWICK, P. K. C.: Mycotoxins Br. Med. Bull. 31, 221—229 (1975)
- GOLDBLATT, L. A.: Aflatoxin. Scientific Background, Control, and Implications Academic Press, New York-London (1969)
- FRANK, H. K.: Aflatoxine. Bildungsbedingungen, Eigenschaften und Bedeutung für die Lebensmittelwirtschaft B. Behr's Verlag, Hamburg (1974)
- KIERMEIER, F.: The significance of aflatoxins in the dairy industry IDF Ann. Bull. Doc. 98 (1977)
- KIERMEIER, F., WEISS, G., BEHRINGER, G., MILLER, M., RANFFT, K.: Vorkommen und Gehalt an Aflatoxin M_1 in Molkerei-Anlieferungsmilch Z. Lebensm. Unters.-Forsch. 163, 171—174 (1977)
- POLZHOFFER, K.: Aflatoxinbestimmung in Milch und Milchprodukten Z. Lebensm. Unters.-Forsch. 163, 175—177 (1977)
- SIEBER, R.: Zur Frage der gesundheitlichen Unbedenklichkeit von in der Käsefabrikation verwendeten Schimmelpilzkulturen Z. Ernährungswiss. 17, 112—123 (1978)
- ALLCROFT, R., CARNAGHAN, R. B. A.: Groundnut Toxicity: An Examination for Toxin in Human Food Products from Animals Fed Toxic Groundnut Meal Vet. Rec. 75, 259—263 (1963)
- GRANT, D. W., CARLSON, F. W.: Partitioning Behavior of Aflatoxin M in Dairy Products Bull. Environm. Contam. Toxicol. 6, 521—524 (1971)
- PURCHASE, I. F. H., STEYN, M., RINSMA, R., TUSTIN, R. C.: Reduction of the Aflatoxin M Content of Milk by Processing Fd Cosmet. Toxicol. 10, 383—387 (1972)
- McKINNEY, J. D., CAVANAGH, G. C., BELL, J. T., HOVERSLAND, A. S., NELSON, D. M., PEARSON, J., SELKIRK, R. J.: Effects of Ammoniation on Aflatoxins in Rations Fed Lactating Cows J. Am. Oil Chem. Soc. 50, 79—84 (1973)
- STUBBLEFIELD, R. D., SHANNON, G. M.: Aflatoxin M_1 : Analysis in Dairy Products and Distribution in Dairy Foods Made from Artificially Contaminated Milk J. Ass. Off. Anal. Chem. 57, 847—851 (1974)
- STOLOFF, L., TRUCKSESS, M., HARDIN, N., FRANCIS, O. J., HAYES, J. R., POLAN, C. E., CAMPBELL, T. C.: Stability of Aflatoxin M in Milk J. Dairy Sci. 58, 1789—1793 (1975)
- KIERMEIER, F., BUCHNER, M.: Zur Verteilung von Aflatoxin M_1 auf Molke und Bruch bei der Käseherstellung Z. Lebensm. Unters.-Forsch. 164, 82—86 (1977)
- KIERMEIER, F., BUCHNER, M.: Verhalten von Aflatoxin M_1 während der Reifung und Lagerung von Käse Z. Lebensm. Unters.-Forsch. 164, 87—91 (1977)
- BASSIR, O., OSIYEMI, F.: Biliary Excretion of Aflatoxin in the Rat after a Single Dose Nature 215, 882 (1967)
- MABEE, M. S., CHIPLEY, J. R.: Tissue distribution and metabolism of aflatoxin B_1 - ^{14}C in layer chickens J. Fd Sci. 38, 566—570 (1973)
- MABEE, M. S., CHIPLEY, J. R.: Tissue Distribution and Metabolism of Aflatoxin B_1 - ^{14}C in Broiler Chickens Appl. Microbiol. 25, 763—769 (1973)

- 20 DALEZIOS, J. I., HSIEH, D. P. H., WOGAN, G. N.: Excretion and metabolism of orally administered aflatoxin B₁ in rhesus monkeys *Fd Cosmet. Toxicol.* **11**, 605—616 (1973)
- 21 PATTERSON, D. S. P., ALLCROFT, R.: Metabolism of Aflatoxin in Susceptible and Resistant Animal Species *Fd Cosmet. Toxicol.* **8**, 43—53 (1970)
- 22 KIERMEIER, F., WEISS, G., BEHRINGER, G., MILLER, M.: Ueber das Vorkommen und den Gehalt von Aflatoxin M₁ in Käsen des Handels *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **163**, 268—271 (1977)
- 23 Bureau of Foods: Report on a surveillance program, 13. Nov. (1974), FDA, Washington DC, zit. nach 22
- 24 Eidg. Forschungsanstalt für viehwirtschaftliche Produktion, Grangeneuve: Zirkularschreiben an die Futtermittel-fabrikanten vom 19. Juli 1977
- 25 HÜNI, K.: Die Kontamination der Futtermittel im Winter 1977/78 in Arbeitstagung: Gesundheitsgefährdung durch Aflatoxine Eigenverlag Institut für Toxikologie der ETH und der Universität Zürich (1978) 303—308
- 26 STEFFEN, C., MEIER, P.: Relative Luftfeuchtigkeit in den Kellern der Emmentalerkäse *Schweiz. Milchztg* **102**, 245 (1976)
- 27 ORTH, R.: Bildungsbedingungen einiger carcinogener Mykotoxine *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **151**, 267—273 (1973)
- 28 KIERMEIER, F., BEHRINGER, G.: Einfluss von Kühltemperaturen auf die Aflatoxin-Entwicklung bei Milchprodukten *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **164**, 283—285 (1977)
- 29 KIERMEIER, F., GROLL, D.: Zur Aflatoxin B₁-Bildung in Käsen *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **143**, 81—89 (1970)
- 30 KIERMEIER, F., BEHRINGER, G.: Probenahme bei Aflatoxin verdächtigen Käsen *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **165**, 30—33 (1977)
- 31 LIE, J. L., MARTH, E. H.: Aflatoxin Formation by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* in a Casein Substrate at Different pH Values *J. Dairy Sci.* **51**, 1743—1747 (1968)
- 32 ENGEL, G.: Untersuchungen zur Bildung von Mykotoxinen und deren quantitative Bestimmung. 4. Das Ausmass der Aflatoxin-Biosynthese durch *Aspergillus flavus* in Abhängigkeit von Qualität und Quantität des Kohlenhydratangebots *Milchwissenschaft* **30**, 588—591 (1975)
- 33 ENGEL, G.: Untersuchungen zur Bildung von Mykotoxinen und deren quantitative Bestimmung. 7. Zur Synthese von Aflatoxinen durch *Aspergillus flavus* und *Aspergillus parasiticus* bei Vorliegen von Saccharose oder Laktat als C-Quellen *Kieler Milchw. Forsch. Ber.* **28**, 385—390 (1976)
- 34 SHIH, C. N., MARTH, E. H.: Production of Aflatoxin in a Medium Fortified with Sodium Chloride *J. Dairy Sci.* **55**, 1415—1419 (1972)
- 35 JACQUET, J., TANTAOUI-ELARAKI, A.: Les produits laitiers comme milieux de culture et de toxicogénèse des *Aspergillus* du groupe *flavus*. Cas particuliers des fromages *Comptes rendus Séanc. Acad. Agric. France* **62**, 208—217 (1976)
- 36 LIE, J. L., MARTH, E. H.: Formation of Aflatoxin in Cheddar Cheese by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* *J. Dairy Sci.* **50**, 1708—1710 (1967)
- 37 FRANK, H. K.: Diffusion of Aflatoxins in Foodstuffs *J. Fd Sci.* **33**, 98—100 (1968)
- 38 ROTHENBÜHLER, E., BACHMANN, M.: Untersuchungen zum Problem der Aflatoxinbildung in Käse *Schweiz. Milchztg* **96**, 1053—1056 (1970)
- 39 OLDHAM, L. S., OEHME, F. W., KELLEY, D. C.: Production of aflatoxin in pre-packaged luncheon meat and cheese at refrigerator temperatures *J. Milk Fd Technol.* **34**, 349—351 (1971)
- 40 SHIH, C. N., MARTH, E. H.: Experimental production of aflatoxin on Brick cheese *J. Milk Fd Technol.* **35**, 585—587 (1972)
- 41 LIEU, F. Y., BULLERMAN, L. B.: Production and stability of aflatoxins, penicillic acid and patulin in several substrates *J. Fd Sci.* **42**, 1222—1224 (1977)
- 42 GROLL, D.: Zur Aflatoxin-Entwicklung in Käse *Diss. Technische Hochschule München* (1969)
- 43 STOTT, W. T., BULLERMAN, L. B.: Influence of carbohydrate and nitrogen on patulin production by *Penicillium patulum* *Appl. Microbiol.* **30**, 850—854 (1975)
- 44 BULLERMAN, L. B., OLIVIGNI, F. J.: Mycotoxin producing-potential of molds isolated from Cheddar cheese *J. Fd Sci.* **39**, 1166—1168 (1974)
- 45 BULLERMAN, L. B.: Examination of Swiss Cheese for incidence of mycotoxin producing molds *J. Fd Sci.* **41**, 26—28 (1976)
- 46 STOTT, W. T., BULLERMAN, L. B.: Instability of patulin in Cheddar cheese *J. Fd Sci.* **41**, 201—203 (1976)
- 47 OLIVIGNI, F. J., BULLERMAN, L. B.: Simultaneous production of penicillic acid and patulin by a *Penicillium* species isolated from Cheddar cheese *J. Fd Sci.* **42**, 1654—1652 (1977)
- 48 LINDENFELSER, I. A., CIEGLER, A.: Penicillic Acid Production in Submerged Culture *Appl. Environm. Microbiol.* **34**, 553—556 (1977)
- 49 LIEU, F. Y., BULLERMAN, L. B.: Binding of patulin and penicillic acid to glutathione and cysteine and toxicity of the resulting adducts *Milchwissenschaft* **33**, 16—20 (1978)
- 50 CIEGLER, A., BECKWITH, A. C., JACKSON, L. K.: Teratogenicity of patulin and patulin adducts formed with cysteine *Appl. Environm. Microbiol.* **31**, 664—667 (1976)
- 51 FLÜCKIGER, E., HEUSCHER, E.: Untersuchung über die Behandlung von Käseoberflächen mit Fungiziden *Schweiz. landw. Forsch.* **8**, 228—243 (1969)
- 52 Verordnung über den Verkehr mit Lebensmitteln und Gebrauchsgegenständen (Lebensmittelverordnung), Stand 1. März 1971
- 53 FLÜCKIGER, E.: Schimmelbekämpfung auf Emmentalerkäse *Alimenta* **12**, 103—106 (1973)
- 54 LÜCK, E., REMMERT, K.-H., BARTENSCHLAGER, M.: Calciumsorbit als Schimmelschutzmittel für Käse *Dt. Mol.-Ztg* **96**, 542—548 (1975)
- 55 KIERMEIER, F.: Zum Einsatz von Pimaricin zur Verhinderung der Schimmelpilz-Entwicklung auf Lebensmitteln *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **151**, (1973)
- 56 KIERMEIER, F., ZIERER, E.: Zur Wirkung von Pimaricin auf Schimmelpilze und deren Aflatoxinbildung bei Käsen *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **157**, 253—262 (1975)
- 57 FRANK, H. K., EYRICH, W.: Ueber den Nachweis von Aflatoxinen und das Vorkommen Aflatoxin-vortäuschender Substanzen in Lebensmitteln *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **138**, 1—11 (1969)
- 58 SHIH, C. N., MARTH, E. H.: Aflatoxins Not Recovered from Commercial Mold-Ripened Cheeses *J. Dairy Sci.* **52**, 1681—1682 (1969)
- 59 KIERMEIER, F., BÖHM, S.: Zur Aflatoxinbildung in Milch und Milchprodukten. V. Anwendung des Hühnerembryo-Testes zur Sicherung des dünn-schichtchromatographischen Aflatoxin-Nachweises in Käsen *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **147**, 61—64 (1971)
- 60 BULINSKI, R.: [Examination for aflatoxins of moulds used in cheese-marking and of mould-ripened cheeses] *Roczn. Inst. Przem. mlecz.* **14**, 35—41 (1972), ref. nach *Dairy Sci. Abstr.* **34**, 826 (1972)
- 61 HANSSEN, E., JUNG, M.: Control of aflatoxins in the food industry *Pure Appl. Chem.* **35**, 239—250 (1973)
- 62 KIERMEIER, F., RUMPF, S.: Ueber das Schicksal des Aflatoxins bei der Schmelzkäseherstellung *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.* **157**, 211—216 (1975)
- 63 LÜCK, H., WEHNER, F. C., PLOMP, A., STEYN, M.: Mycotoxins in South African cheeses *S. Afr. J. Dairy Technol.* **8**, 107—110 (1976)
- 64 PAUL, R., KALRA, M. S., SINGH, A.: Incidence of aflatoxins in milk and milk products *Indian J. Dairy Sci.* **29**, 318—321 (1976)

- 65 LAUB, E., WOLLER, R.: Vorkommen der Aflatoxine B₁, B₂, G₁ und G₂ in Lebensmittelpuben des Handels Dt. Lebensm. Rdsch. **73**, 8—10 (1977)
- 66 JACQUET, J., BOUTIBONNES, P., TEHERANI, A.: Sur la présence des flavatoxines dans les aliments des animaux et dans les aliments d'origine animale destinés à l'homme Bull. Acad. Vét. **43**, 35—43 (1970)
- 67 CARINI, S., CERUTTI, G.: Sulla presenza di muffe e micotossine in formaggi italiani Ind. Alim. **16**, 106—108 (1977)
- 68 SCHLATTER, C.: Zur Karzinogenität der Aflatoxine in Arbeitstagung: Gesundheitsgefährdung durch Aflatoxine Eigenverlag Institut für Toxikologie der ETH und der Universität Zürich (1978) 51—64
- 69 ENGEL, G.: Bildung von Mykotoxinen auf Tilsiter Käse Milchwissenschaft **33**, 201—203 (1978)
- 70 CORBION, B., FREMY, J. M.: Recherche des aflatoxines B₁ et M₁ dans les fromages de type «Camembert» Lait **58**, 133—140 (1978)
- 71 ENGEL, G.: Untersuchungen zur Bildung von Mykotoxinen und deren quantitative Bestimmung. 8. Zur Synthese von Citreoviridin durch Penicillium citreo-viride in Abhängigkeit von Art und Qualität des Kohlenstoffangebotes Milchwissenschaft **32**, 79—80 (1977)
- 72 NORTHOLT, M. D., EGMOND, H. P. van, PAULSCH, W. E.: Differences Between Aspergillus flavus Strains in Growth and Aflatoxin B₁ Production in Relation to Water Activity and Temperature J. Fd Protect. **40**, 778—781 (1977)
- 73 STILL, P., ECKARDT, C., LEISTNER, L.: Bildung von Cyclopiazonsäure durch Penicillium camemberti-Isolate von Käse Fleischwirtschaft **58**, 876—877 (1978)