Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 72 (1981)

Heft: 1

Artikel: Biologische Aktivität der Detoxifikationsprodukte von (^{1}C)-Aflatoxin B bei der Ammoniakbehandlung = Biological activity of (^{1}C)-aflatoxin B degradation products obtained during ammonia detoxification

Autor: Schroeder, T. / Lüthy, J. / Sagelsdorff, P.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-984602

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 09.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. 72, 62–70 (1981)

T. Schroeder, J. Lüthy, P. Sagelsdorff, U. Zweifel, U. Friederich und *Ch. Schlatter,* Institut für Toxikologie der ETH und Universität Zürich, Schwerzenbach

Biologische Aktivität der Detoxifikationsprodukte von (^{14}C)-Aflatoxin B_1 bei der Ammoniakbehandlung

Biological Activity of (^{14}C)-Aflatoxin B_1 Degradation Products Obtained during Ammonia Detoxification

Einleitung

Seit die Aflatoxine durch ihre außergewöhnlich starke Toxizität und Karzinogenität die Aufmerksamkeit auf sich zogen, sind große Anstrengungen zu ihrer Kontrolle in der menschlichen Nahrung unternommen worden. Das Hauptgewicht wurde dabei auf eine möglichst weitgehende Vermeidung der Schimmelbildung gelegt, die, gepaart mit geeigneten Sortiermethoden, die Aflatoxinbelastung auf ein Minimum reduziert (1, 2).

Für die Tiernahrung forscht man im Gegensatz dazu vor allem nach kostengünstigen Dekontaminationsmethoden, die akut toxische Aflatoxingehalte in Futtermitteln auf ein tragbares Maß bringen. Physikalische, mikrobielle und Extraktionsmethoden erlauben keine kostengünstige Senkung des Aflatoxingehalts ohne Einbuße an Futterqualität. Effektiver in der Zerstörung der Aflatoxine sind chemische Methoden. Praktische Bedeutung als Dekontaminantien haben bis heute nur die gasförmigen Basen Ammoniak und Methylamin erhalten, weil sie einfach anzuwenden sind und alle natürlichen Aflatoxine anzugreifen scheinen (3). Der Zusatz von zwei Prozent Ammoniak zu aflatoxinhaltigen Futtermitteln ergibt schon bei Raumtemperatur eine gute Dekontamination. Noch geringere Konzentrationen dienen außerdem zur prophylaktischen Hemmung von aflatoxinproduzierenden Aspergillen (4).

Biologische Aktivität der Aflatoxin-Folgeprodukte

Die in der Literatur beschriebenen Versuche zur biologischen Aktivität von ammoniakdekontaminierten, aflatoxinverseuchten Futtermitteln zeigen, daß durch die Ammoniakbehandlung die akute und subakute Toxizität drastisch herabgesetzt wird (5, 6, 7). In bezug auf die Langzeittoxizität stellen sich die folgenden Fragen:

1. Entstehen bei der Ammoniakdekontamination karzinogene Produkte, die in Nahrungsmittel tierischer Herkunft übertragen werden könnten?
2. Sind nach der Dekontamination noch Karzinogene vorhanden, die eine Verwendung dieser Dekontaminationsmethode für menschliche Nahrungsmittel verbieten?

Punkt 2 könnte eine Bedeutung erlangen in tropischen Ländern, deren Hauptnahrungsquelle Mais darstellt.

Eine gewisse Auskunft über die Karzinogenität der Dekontaminationsprodukte liefert eine über ein Jahr geführte Fütterungsstudie an Forellen (8), während welcher der im Futter vorhandene Gehalt an Aflatoxin B_1 von 400 ppb bei 53 von 55 Tieren (96,4%) Leberkarzinome induzierte. Die Gruppe mit identischem, aber zusätzlich einer Ammoniakbehandlung unterworfenem Mais zeigte dagegen nicht mehr Hepatome als die Kontrollgruppe. Da 0,4 ppb Aflatoxin B_1 in einem ähnlichen Versuch eine Inzidenz von 14% erzeugten (9), ist die Karzinogenität um mindestens den Faktor 100 reduziert worden. Die Aussagekraft dieses Versuchs ist dadurch eingeschränkt, daß die Forelle ein unübliches Versuchstier darstellt und sich als Kaltblüter in Stoffwechsel und Reaktionsweise gegenüber Chemikalien anders verhält als das Säugetier, wodurch die Extrapolation auf die Situation des Menschen wesentlich erschwert wird.

Zur Beurteilung der Karzinogenität für Warmblüter suchten wir nach zusätzlichen Informationen. In einem eigenen Versuch prüften wir die Mutagenität der bei der Ammoniakbehandlung entstehenden Aflatoxinabbauprodukte an Bakterien im Ames-Test; dieser Test wurde mit vielen bekannten Säugetierkarzinogenen auf seine prädiktive Eignung geprüft und für recht gut befunden. Künstlich mit 7,5 ppm Aflatoxin B_1 kontaminierter Mais wurde in einem gasdichten Kolben während 4 Wochen bei 25 °C in Gegenwart von Ammoniak inkubiert.

Die methylenchloridlöslichen Stoffe wurden dünnschichtchromatographisch von Aflatoxin B_1 befreit und in Dimethylsulfoxid für den Ames-Test mit den Stämmen *Salmonella typhimurium* TA 98 und TA 100 verwendet. Bei den eingesetzten Mengen konnte keine mutagene Wirkung festgestellt werden (Abb. 1).

Die größte aufgetragene Dosis entsprach 3,7 μg Aflatoxin B_1 pro Platte vor der Dekontamination, die beiden anderen geprüften Werte 0,37 und 0,037 μg. Die festgestellten Revertantenzahlen lagen nicht signifikant über dem Spontanwert. Die positive Kontrolle mit 0,1 μg AFB_1 ergab die erwarteten Werte (10). Bei einer Menge von weniger als 0,01 μg Aflatoxin B_1 pro Platte kann keine Mutagenität mehr beobachtet werden (11). Die Mutagenität der methylenchloridlöslichen Zersetzungsprodukte ist somit um mindestens den Faktor 370 geringer als jene von AFB_1.

Fehlende Mutagenität bedeutet noch nicht unbedingt Ungefährlichkeit des dekontaminierten Futters, da nur eine geringe quantitative Korrelation zwischen Mutagenität und Karzinogenität besteht (12, 13). Als weitere Methode zur Erkennung einer noch vorhandenen Karzinogenität in den bei der Dekontamination aus Aflatoxin B_1 entstandenen Produkten benützten wir die Bestimmung von deren

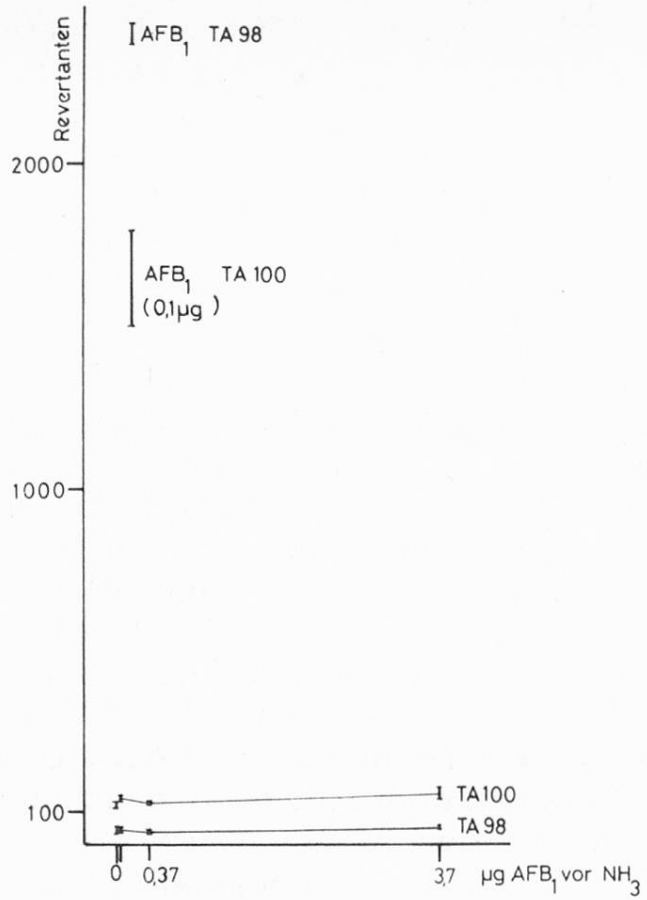

Abb. 1. Mutagenität nach Ames
Vergleich der AFB_1-induzierten his^+-Revertantenzahlen mit jenen des CH_2Cl_2-Extraktes von 30 Tage lang mit NH_3-behandeltem, AFB_1-haltigem Mais für die his^--Bakterienstämme Salmonella typhimurium TA 98 und TA 100

DNS*-Bindungsfähigkeit (14) in vivo. Das Maß für die DNS-Bindungsfähigkeit, der «Covalent Binding Index» (CBI), wird definiert als das Verhältnis des an DNS kovalent gebundenen Anteils einer Substanz und zugehöriger Metaboliten zur eingesetzten Dosis und läßt sich anhand der folgenden Formel berechnen:

$$CBI = \frac{\text{Mikromol gebundene Substanz / mol DNS-Nukleotide}}{\text{Millimol verabreichte Substanz / kg Körpergewicht}}$$

$$CBI = \frac{\text{dpm** gebunden / mg DNS}}{\text{dpm verabreicht / kg Körpergewicht}} \times \frac{1}{3{,}24 \times 10^{-9}}$$

Der CBI erlaubt eine grobe Klassierung von Substanzem in starke, mittlere und schwache Karzinogene. Die starken Karzinogene Aflatoxin B_1 und Dimethylnitrosamin beispielsweise besitzen CBI-Werte in der Größenordnung 10^4, während ein eher schwaches Karzinogen wie Tetrachlorkohlenstoff einen CBI unter 100 aufweist. Der CBI von Aflatoxin M_1 ist kürzlich an der Ratte gemessen worden (15); er beträgt ungefähr einen Fünftel des CBI von Aflatoxin B_1. Die Korrelation zur kar-

* DNS = Desoxyribonukleinsäure ** dpm = disintegrations per minute

zinogenen Potenz ist in diesem Falle recht gut. Ein allzu genauer Vergleich ist allerdings nicht möglich, da bereits die Streuung der CBI-Werte von Tier zu Tier groß ist und auch zwischen einzelnen Tierstämmen starke Unterschiede bezüglich CBI und Karzinominzidenz bestehen können. Außerdem kann der CBI-Wert wegen des geringen an DNS bindenden Anteils der Gesamtdosis meist nur mit radioaktiv markierten Substanzen bestimmt werden.

In einem orientierenden Experiment wurde eine Maisprobe mit ^{14}C-markiertem Aflatoxin B_1 auf einen Gehalt von 6,6 ppm gebracht und während zwei Wochen einer Ammoniakbehandlung unterworfen. Das Material wurde hierauf mit Chloroform und anschließend mit Wasser extrahiert. Tabelle 1 zeigt die Verteilung der Markierung auf die verschiedenen Fraktionen.

Tabelle 1. Radioaktivitätsverteilung von (^{14}C)-Aflatoxin B_1 auf Mais nach 14 Tagen Ammoniakbehandlung / CBI-Werte einzelner Fraktionen

	$\%^{14}C$	$\%^{14}C$	CBI
CHLOROFORMEXTRAKT	11,4%		
DC – AFB_1-Zone		5,1%	
DC – Resteluat		2,5%	< 462 / < 265
WASSEREXTRAKT*	45,0%		1024 / 916
MAISRUECKSTAND	43,1%		1256 / 855

* Nach $CHCl_3$-Extraktion

Die chloroformlöslichen Anteile wurden dünnschichtchromatographisch von Aflatoxin B_1 befreit, eingeengt und als Suspension in 12%igem Aethanol oral an zwei Ratten verabreicht. Die verbliebenen 2,5% der eingesetzten Radioaktivität erlauben wegen der für diese geringe Aktivität hohen Nachweisgrenze nur die Aussage, daß der CBI unter 450 liegen muß. Dies ist mit dem Resultat des Ames-Tests vereinbar. Die wasserlösliche Fraktion (45% der eingesetzten Radioaktivität) wurde lyophilisiert und als wässerige Suspension oral an zwei Ratten gegeben. Sie ergab einen erstaunlich hohen CBI-Wert von rund 1000, obschon sie gemäß Radio-HPLC weniger als 0,73% freies Aflatoxin B_1 enthielt. Der nach der Extraktion verbleibende Rückstand (43,1% der eingesetzten Radioaktivität) konnte direkt an zwei Ratten verfüttert werden und ergab ebenfalls einen CBI-Wert von rund 1000, doch ist nicht auszuschließen, daß ein Teil des Aflatoxin B_1 wegen starker Adsorption am Mais nicht extrahiert werden konnte.

Die erhaltenen Resultate weisen darauf hin, daß bei der Ammoniakbehandlung zum Teil wasserlösliche Aflatoxinfolgeprodukte entstehen, die wahrscheinlich ebenfalls karzinogen sind.

Chemische Grundlagen der Ammoniakbehandlung

Die Strukturen der auf Mais aus Aflatoxin B_1 entstehenden Zersetzungsprodukte sind teilweise noch unbekannt (16). Reines Aflatoxin B_1 liefert mit wässerigem Ammoniak bei erhöhter Temperatur im Bombenrohr als Hauptprodukte zwei Substanzen, für welche die folgenden Strukturvorschläge (17) gemacht werden (Abb. 2).

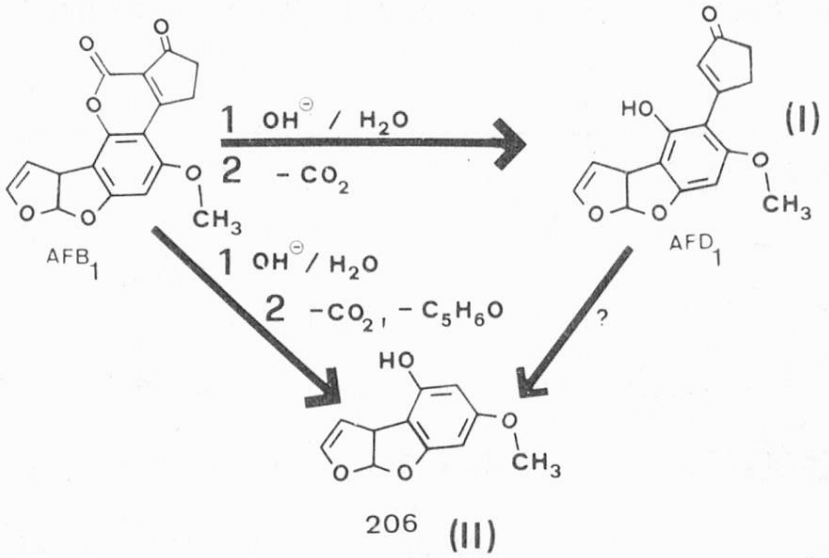

Abb. 2. Zersetzung von Aflatoxin B_1 in Gegenwart von Basen

Die Öffnung des Delta-Lactonringes in AFB_1 wird nahegelegt durch die reversible Veränderung des Coumarin-Chromophors mit Basen (18). Durch Decarboxylierung entsteht ein Aflatoxin D_1 benanntes Produkt, für welches aufgrund von Massen-, Infrarot- und UV-Spektren die Struktur (I) postuliert wird (17). Aflatoxin D_1 enthält wie auch das zweite gefundene Produkt (II) mit der Vinyläthergruppierung an den Stellen acht und neun das für die Karzinogenität wesentliche Strukturelement (19), so daß eine karzinogene Wirkung dieser Stoffe nicht überraschend wäre.

Da mit den bekannten spektroskopischen Daten (17) die Lage der Doppelbindung im Cyclopentenonteil von Aflatoxin D_1 nicht eindeutig festgelegt werden kann, wiederholten wir den beschriebenen Charakterisierungsversuch und konnten durch zusätzliche Aufnahme des ^{1}H-Kernresonanzspektrums die Struktur (I) vollumfänglich bestätigen. Die von Aflatoxin D_1 und der Verbindung mit m/e = 206 (II) erhaltenen Massenspektren stimmen mit den von *Lee* und *Cucullu* beschrie-

benen (17) überein. Für diesen Versuch setzten wir tritiummarkiertes Aflatoxin B_1 (biosynthetisch hergestellt) ein und konnten so gleichzeitig die in Tabelle 2 zusammengestellte Radioaktivitätsverteilung bestimmen.

Tabelle 2. Verteilung der Radioaktivität von ^{3}H-Aflatoxin B_1 nach 4 h Bombenrohr / 100 °C in Gegenwart von konzentriertem Ammoniak

	% ^{3}H	% ^{3}H
LYOPHILISAT	24,0%	
DICHLORMETHAN (neutral)	49,6%	
DC — AFD_1		30,7%
DC — M =206		3%
DC — Polare Stoffe		14,1%
DICHLORMETHAN (alkalisch)	0,6%	
WASSERPHASE (alkalisch)	24,7%	
AETHER[1)] (sauer)	10,1%	

[1)] Nach neutraler und alkalischer CH_2Cl_2-Extraktion

Durch Elimination oder Tritium/Wasserstoffaustausch wurden 24% der Radioaktivität flüchtig. 49,6% traten beim Schütteln in die Methylenchloridphase. Im Radiodünnschichtchromatogramm wurden 30,7% der Totalaktivität als Aflatoxin D_1 isoliert und 3% in der Zone, die der Verbindung mit der Masse 206 zugeschrieben wird. Als Retention blieben 14%. Die Struktur der wasserlöslichen Verbindungen, die aufgrund der Resultate unseres DNS-Bindungsversuches eine beträchtliche Karzinogenität besitzen dürften, ist noch völlig unbekannt. Diese Versuche zeigen, daß bessere Kenntnisse über Struktur und Verbleib der bei der Ammoniakbehandlung aus Aflatoxinen gebildeten Substanzen sowie deren Karzinogenität nötig sein werden, um die Gefährlichkeit der Ammoniakdekontaminationsprodukte beurteilen zu können.

Dank

Den Herren Dres. *B. Zimmerli* und *F. Friedli*, Bundesamt für Gesundheitswesen, danken wir herzlich für die massenspektroskopische Untersuchung unserer Substanzen. Herr *F. Bangerter* vom Institut für technische Chemie ETH hat durch Entkopplungsexperimente die Zuordnung sämtlicher Signale im ^{1}H-Kernresonanzspektrum ermöglicht, wofür ihm ebenfalls bestens gedankt sei.

Zusammenfassung

Maisgrieß mit 6,5 ppm ^{14}C-AFB_1 wurde mit 2,1% NH_3 versetzt und bei 25 °C 14 Tage inkubiert. Der mittels DC von AFB_1 befreite Chloroformextrakt, der Wasserextrakt und der verbleibende Maisrückstand wurden auf In-vivo-Bindung an Rattenleber-DNS untersucht. Die erhaltenen CBI-Werte zeigen eine Herabsetzung der DNS-Bindungsaktivität durch NH_3, weisen aber auf das Vorhandensein von ebenfalls an DNS bindenden Substanzen im Wasserextrakt (freies AFB_1 weniger als 0,73%) und auf dem verbliebenen Mais hin. Die in Dichlormethan löslichen Anteile von mit AFB_1 angereichertem und anschließend mit NH_3 behandeltem Mais zeigten nach Abtrennung verbliebener Ausgangssubstanz im Ames-Test mit den Bakterienstämmen *S. typhimurium* TA 98 und TA 100 gegenüber der eingesetzten Menge AFB_1 eine um mindestens den Faktor 370 kleinere Mutagenität. Die Ammoniakbehandlung von tritiummarkiertem AFB_1 ergab folgende Verteilung der Radioaktivität: CH_2Cl_2-Extrakt (neutral) 49,6%; CH_2Cl_2-Extrakt (alkalisch) 0,6%; Wasser (alkalisch) 24,7%; Aetherextrakt (sauer) 10,1%. Die Struktur des zu 30,7% gebildeten und bereits durch MS-, UV- und IR-Spektren beschriebenen Hauptprodukts Aflatoxin D_1 konnte durch ^1H-NMR verifiziert werden.

Résumé

Du maïs moulu, enrichi avec 6,5 ppm d'aflatoxine B_1 marquée au ^{14}C a été incubé avec 2,1% de NH_3 à 25 °C pendant 14 jours. La liaison covalente à l'ADN fut examinée dans l'extrait chloroformique après élimination de l'AFB_1 restante par CCM dans l'extrait aqueux et dans le maïs soumis aux extractions. Les valeurs CBI trouvées indiquent une liaison à l'ADN diminuée par le traitement à l'NH_3; parallèlement des substances de liaison à l'ADN ont été trouvées dans l'extrait aqueux (moins de 0,73% d'AFB_1 libre) et dans le maïs. La partie soluble dans le CH_2Cl_2 de maïs enrichi en AFB_1 et traité à l'NH_3 a montré dans le test selon Ames sur *Salmonella typhimurium* TA 98 et TA 100 une action mutagène 370 fois plus faible que celle de l'AFB_1. Après traitement à l'NH_3, la radioactivité d'AFB_1 marqué au tritium par biosynthèse se répartissait comme suit: extrait CH_2Cl_2 (neutre) 49,6%; extrait CH_2Cl_2 (basique) 0,6%; eau (basique) 24,7%; extrait éther diéthylique (acide) 10,1%. La structure proposée à base de spectres de masse, UV et IR du principal produit formé, soit l'aflatoxine D_1 (30,7%), fut confirmée par ^1H-RMN.

Summary

Ground corn with 6.5 ppm ^{14}C-$AFB_1$was incubated with 2.1% NH_3 for two weeks at 25 °C. In vivo covalent binding to rat liver DNA was determined for the $CHCl_3$-soluble portion (remaining AFB_1 removed by thinlayer chromatography), the water-soluble part and the remaining corn. The CBI-values (Covalent Binding Index) obtained indicate a decrease of DNA-binding activity due to NH_3, but also show the appearance of DNA-binding substances in the water-soluble part (free AFB_1 less than 0.73%) and on the remaining corn. The CH_2Cl_2-soluble fraction extracted from a corn sample enriched with AFB_1 and subsequently ammoniated, was tested for its mutagenicity by the Ames test with *S. typhimurium* TA 98 and TA 100 (remaining AFB_1 removed by t. l. c. prior to mutagenicity testing). Mutagenicity was smaller by at least a factor of 370 with respect to the AFB_1 present before ammoniation. In the ammoniation-product of ^3H-AFB_1 (biosynthetically labelled) the following distribution of

radioactivity was obtained: CH_2Cl_2 (neutral) 49.6%; CH_2Cl_2 (basic) 0.6%; water (basic) 24.7%; diethylether (acidic) 10.1%. The structure of the main product, aflatoxin D_1 (30.7%), was found by ^{1}H-NMR to be correct as proposed on the grounds of mass-, UV- and IR-spectroscopy.

Literatur

1. *Dollear, F. G.:* Detoxification of aflatoxins in foods and feeds. In: L. A. Goldblatt, aflatoxin, pp. 359—391. Food Science and Technology Monographs. Academic Press, New York 1969.
2. *Goldblatt, L. A.* and *Dollear, F. G.:* Detoxification of contaminated crops. In: J. V. Rodricks, C. W. Hesseltine and M. A. Melham, mycotoxins, pp. 139—150. Pathotox Publ. Inc., Park Forest South 1977 (Gustav Fischer Verlag, Stuttgart).
3. *Brekke, O. L., Peplinski, A. J., Nofsinger, G. W., Conway, H. F., Stringfellow, A. C., Montgomery, R. R., Silman, R. W., Sohns, V. E.* and *Bagley, E. B.:* Aflatoxin inactivation in corn by ammonia gas: A field trial. Trans. ASAE **22**, 425—432 (1979).
4. *Nofsinger, G. W., Bothast, R. J., Lancaster, E. B.* and *Bagley E. B.:* Ammonia suplemented ambient temperature drying of high-moisture corn. Trans. ASAE **20**, 1151—1159 (1977).
5. *Norred, W. P.:* Effect of ammoniation on the toxicity of corn artificially contaminated with aflatoxin B_1. Toxicol. Appl. Pharmacol **51**, 411—416 (1979).
6. *Mann, G. E., Gardner, H. K. Jr., Booth, A. N.* and *Gumbmann, M. R.:* Aflatoxin inactivation. Chemical and biological properties of ammonia and methylamine treated cottonseed meal. J. Agric. Food. Chem. **19**, 1155—1158 (1971).
7. *Brekke, O. L., Peplinski, E. B.* and *Lancaster, E. B.:* Aflatoxin inactivation in corn by aqua ammonia. Trans. ASAE **20**, 1160—1168 (1977).
8. *Brekke, O. L. Sinnuber, R. O., Peplinski, A. J., Wales, J. H., Putnam, G. B., Lee, D. J.* and *Ciegler, A.:* Aflatoxin in corn: Ammonia inactivation and bioassay with rainbow trout. Appl. Environment. Microbiol. **34**, 34—37 (1977).
9. *Lee, D. J., Wales, J. H., Ayres, J. L.* and *Sinnhuber, R. O.:* Synergism betwen cyclopropenoid fatty acids and chemical carcinogens in rainbow trout (Salmo gairdneri). Cancer Res. **28**, 2312—2318 (1968).
10. *McCann, J., Choi, E., Yamasaki, E.* and *Ames, B. N.:* Detection of carcinogens as mutagens in the salmonella / microsome test: Assay of 300 chemicals . Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. **72**, 5135—5139 (1975).
11. *Ames, B. N., McCann, J.* and *Yamasaki, E.:* Methods for detecting carcinogens and mutagens with the salmonella / mammalian-microsome mutagenicity test. Mutat. Res. **31**, 347—364 (1975).
12. *Wong, J. J.* and *Hsieh, D. P. H.:* Mutagenicity of aflatoxins related to their metabolism and carcinogenic potential. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. **73**, 2241—2244 (1976).
13. *Sinnhuber, R. O., Lee, D. J., Wales, J. H., Landers, M. K.* and *Keyl, A. C.:* Hepatic carcinogenesis of aflatoxin M_1 in rainbow trout (Salmo gairdneri) and its enchancement by cyclopropene fatty acids. J. Natl. Cancer Inst. **53**, 1285—1288 (1974).
14. *Lutz, W. K.:* In vivo covalent binding of organic chemicals to DNA as a quantitative indicator in the process of chemical carcinogenesis. Mutat. Res. **65**, 289—356 (1979).
15. *Lutz, W. K., Jaggi, W., Lüthy, J. Sagelsdorff, P.* and *Schlatter, C.:* In vivo covalent binding of aflatoxin B_1 and aflatoxin M_1 to liver DNA of rat, mouse and pig. Chem.-Biol. Interactions **32**, 244—256 (1980).
16. *Beckwith, A. C., Vesonder R. F.* and *Ciegler, A.:* Action of weak bases upon aflatoxin B_1 in contact with macromolecular reactants. J. Agric. Food Chem. **23**, 582—587 (1975).

17. *Cucullu, A. F., Lee, L. S., Pons, W. A., Jr.* and *Stanley, J. B.:* Ammoniation of aflatoxin B_1. Isolation and characterization of a product with molecular weight 206. J. Agric. Food Chem. **24**, 408–410 (1976).
18. *Kiermeier, F.* und *Ruffer, L.:* Veränderung von Aflatoxin B_1 in alkalischer Lösung. Z. Lebensm. Unters. Forsch. **155**, 129–141 (1974).
19. *Wogan, G. N., Edwards, G. S.* and *Newberne, P. M.:* Structure – activity relationships in toxicity and carcinogenity of aflatoxins and analogs. Cancer Res. **31**, 1936–1942 (1971).

Dr. T. Schroeder
Institut für Toxikologie der
Eidg. Techn. Hochschule und
der Universität Zürich
Schorenstraße 16
CH-8603 Schwerzenbach