

Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène
Band: 74 (1983)
Heft: 1

Artikel: Mykotoxine in schimmelgereiften Käsen = Mycotoxins in mould-ripened cheese
Autor: Schoch, U. / Lüthy, J. / Schlatter, Ch.
DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982998>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. 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. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

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. [Voir Informations légales.](#)

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. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 15.10.2024

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

U. Schoch, J. Lüthy und Ch. Schlatter, Institut für Toxikologie der ETH und der Universität Zürich, Schwerzenbach

Mykotoxine in schimmelgereiften Käsen

Mycotoxins in Mould-ripened Cheese

Einleitung

Schimmelgereifte Käse erfreuen sich aufgrund ihres charakteristischen Flavors (Geruch, Geschmack) noch immer zunehmender Beliebtheit beim Konsumenten. Dies kann durch die folgenden Tatsachen aufgezeigt werden:

1. In den USA nahm der Konsum von schimmelgereiften Käsen von 1960 bis 1976 um rund das Doppelte auf 25 Mio Pfund zu (1). Ähnliche Tendenzen lassen sich auf dem schweizerischen Markt feststellen (Tabelle 1).
2. Wird schimmelgereifter Käse noch zur Hauptsache direkt konsumiert, finden in zunehmendem Maße vor allem Blauschimmelkäse auch Verwendung als Aromaträger in Salatsaucen, Mayonnaisen oder in Snacks.

Tabelle 1. Schimmelgereifter Käse in der Schweiz — Produktion und Import

Käsetyp	Verarbeitete Vollmilch in q*		Importierte Käsemenge in t**	
	1978/79	1979/80	1979	1980
Weißschimmelkäse vollfett	109 302	111 763	1 083	1 121
überfett	58 249	67 855	2 232	2 258
Blauschimmelkäse	2 095	2 707	1 738	1 813

* Quelle: Milchstatistik der Schweiz, Schweiz. Bauernsekretariat in Brugg.

** Quelle: Importstatistik SGWH.

Die Aufmerksamkeit der Mykotoxinforschung auf die bewußt als Reifungsorganismen in der Lebensmittelindustrie angewandten Schimmelpilze lenkte Giebel (2) 1971 mit seiner Veröffentlichung über das Auftreten von Tumoren in Ratten, die mit einer Sporen-Myzel-Aufschwemmung von *P. camemberti* var. *candi-*

dum III C gefüttert worden waren. In der Folge wurden diese Käseschimmelpilze einer genauen toxikologischen Prüfung unterworfen, die bis heute anhält.

Vom heute verfügbaren Wissen dieser Untersuchungen sollen nur einige Daten zur biologischen Charakterisierung dieser Mykotoxine herangezogen werden. Umfassende Informationen liefern die zum Teil sehr ausführlichen Übersichtsartikel (3, 4, 5) zu diesem Problemkreis.

Der Reifungsorganismus in Weißschimmelkäsen *Penicillium camemberti* bildet nach heutigem Wissensstand als einzige toxische Verbindung Cyclopiazonsäure, ein Indolalkaloid, das u. a. auch von *P. cyclospium* und *A. flavus* synthetisiert werden kann. Von *Penicillium roqueforti*, dem Schimmelpilz in Blauschimmelkäse, sind eine ganze Reihe von Mykotoxinen bekannt: einerseits die Polyketide Mycophenolsäure, Patulin, Penicillinsäure, PR-Toxin, Botryodiplodin und andererseits das Alkaloid Roquefortin (Abb. 1).

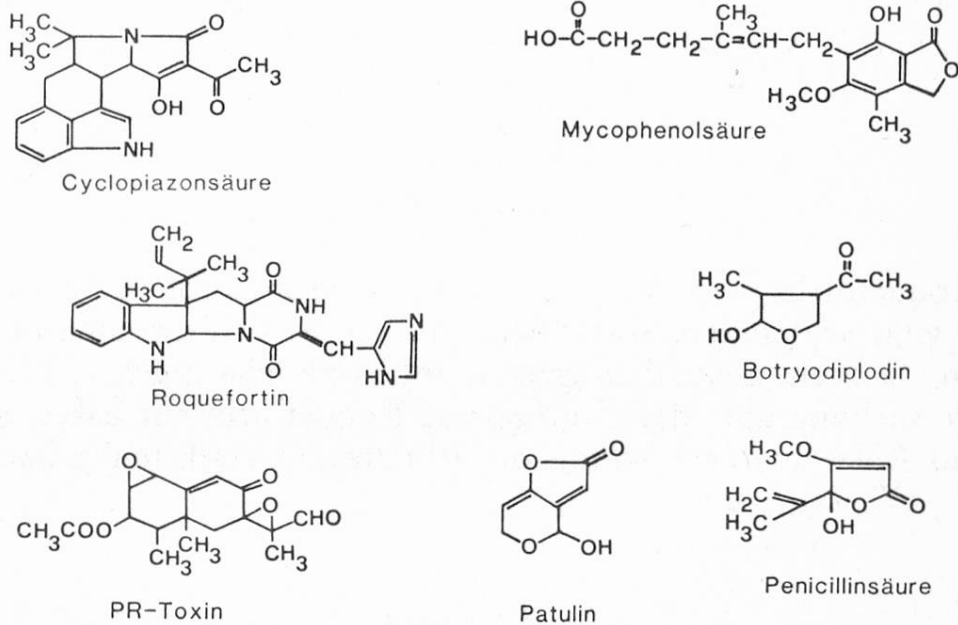


Abb. 1. Mykotoxine in *P. roqueforti* und *P. camemberti*

Die biologischen Eigenschaften von Patulin, Penicillinsäure und Botryodiplodin werden in diesem Zusammenhang nicht besprochen, da diese Verbindungen von nicht in der Käseindustrie gebräuchlichen *P. roqueforti*-Stämmen gebildet werden.

Biologische Eigenschaften von Schimmelkäse-Mykotoxinen

Cyclopiazonsäure

Cyclopiazonsäure, intraperitoneal appliziert, wirkt als Neurotoxin. Als weitere Zielorgane dieses Toxins sind die Leber, die Milz, der Pankreas oder auch die Nieren zu nennen. Bei den beobachteten Läsionen handelte es sich in der Mehr-

zahl der Fälle um Nekrosen. Bei der ip-Verabreichung wird Cyclopiazonsäure rasch im Organismus verteilt und die nervösen Symptome treten entsprechend bald auf. Wird das Toxin oral gegeben, können diese Symptome nicht beobachtet werden, wobei der Grund darin zu suchen ist, daß Cyclopiazonsäure in wässrigen Lösungen mit einem pH unter 7 nicht mehr löslich ist und so viel langsamer absorbiert wird.

Mycophenolsäure

Bei Mycophenolsäure handelt es sich um eines der ältesten bekannten Schimmelpilzantibiotika. Zusätzlich soll dieses Toxin antivirale, fungizide wie auch antitumorale Aktivitäten besitzen. Aufgrund der geringen Toxizität wurden bereits Hoffnungen wach, daß mit Mycophenolsäure ein Chemotherapeutikum gegen Krebs gefunden worden sei, die sich in der Folge jedoch nicht bestätigten. Eingehendere Toxizitätsstudien mit Ratten, Affen und anderen Spezies führten jedoch dazu, daß Mycophenolsäure später als Mykotoxin klassifiziert wurde.

Roquefortin

Von Roquefortin sind nur ganz spärliche Informationen bezüglich biologischer Aktivität vorhanden. So ist bekannt, daß es sich um eine neuro-toxische Verbindung handelt, die zudem gewisse antibakterielle Eigenschaften besitzt. In einer Untersuchung über den Einfluß von Roquefortin auf bakterielle Protein-, DNA- und RNA-Synthese wurde die letztere am stärksten gehemmt.

PR-Toxin

PR-Toxin wurde im Zusammenhang mit Rinderaborten zum ersten Mal aus mit *P. roqueforti* verschimmeltem Futtermittel isoliert.

Akute Dosen in Ratten bewirkten Atemschwierigkeiten und die Tiere hatten die Fähigkeit verloren, ihr Körpergewicht zu tragen. Das Sektionsbild zeigte übermäßige Mengen ödemischer Flüssigkeiten in der Bauchhöhle. Histologische Veränderungen bestanden in Oedemen und Blutstauungen in Lungen, Nieren und Gehirn.

Bei PR-Toxin handelt es sich um eine mutagene Substanz (3, 6). Genaue Abklärungen über ein allfälliges Auftreten in industriell verwendeten Stämmen sind deshalb nötig.

Basierend auf diesen Erkenntnissen war es das Ziel unserer Abklärungen, eine mögliche Toxinbildung durch in der Schweiz industriell zur Anwendung gelangende Penicillien-Stämme zu erfassen und das Verhalten im Produkt, in unserem Falle im Käse, zu untersuchen.

Eigene Untersuchungen

Sämtliche Stämme wurden zuerst auf semi-synthetischen Nährböden bei optimalen Toxinbildungsbedingungen gezüchtet, bevor Untersuchungen in den Lebensmitteln durchgeführt wurden.

Zur Anzucht wurden Roux-Flaschen verwendet, durch deren Form es möglich war, große Oberflächen bei vernünftigen Nährlösungsvolumina zu schaffen.

Der DC-Nachweis von Mycophenolsäure, Patulin, Penicillinsäure, PR-Toxin und Botryodiplodin in *P. roqueforti*-Kulturen fiel durchwegs negativ aus (Nachweisgrenze 0,05 ppm). Dagegen konnte in sämtlichen Rohextrakten, die durch Chloroform-Extraktion der im Mixer zerkleinerten Myzel-Nährlösung gewonnen wurden, Roquefortin bei allen gewählten T/t-Kombinationen nachgewiesen werden (Tabelle 2). Die Identität des von uns isolierten und als Standard verwendeten Roquefortins wurde mittels MS-Vergleich mit einer Originalprobe von Scott (7) bestätigt. Schmelzpunkt und UV-Spektrumsvergleiche vervollständigen diese Bestätigung.

Tabelle 2. Roquefortin-Konzentrationen in verschiedenen *P. roqueforti*-Stämmen

Stamm	Bildungsbedingungen			
	15 °C/14 d	15 °C/21 d	25 °C/14 d	25 °C/21 d
<i>P. roqueforti</i> MC 1		2,0 mg*	0,6 mg	20 mg
<i>P. roqueforti</i> MC 2		3,8 mg*	20,0 mg	40 mg
<i>P. roqueforti</i> MC 3		3,2 mg*	6,0 mg	6 mg
<i>P. roqueforti</i> DH 1	0,1 mg	6,0 mg	3,0 mg	6 mg
<i>P. roqueforti</i> WL 1	0,3 mg	8,0 mg	20,0 mg	20 mg
<i>P. roqueforti</i> WL 2	0,3 mg	8,0 mg	20,0 mg	30 mg
Mediumansatz	100 ml	250 ml	250 ml	250 ml

* Mediumansatz 100 ml.

Kultivierung in Roux-Nährboden-Flaschen.

Wie aus der Resultatezusammenstellung hervorgeht, wird die Verbindung auch bei Verhältnissen, wie sie während der Reifung im Käsekeller existieren (15 °C), in beträchtlichen Mengen gebildet. Obwohl höhere Temperaturen die Roquefortinbildung begünstigen, scheint diese Verbindung ein immer auftretender Metabolit von *P. roqueforti* zu sein. Von dieser Tatsache ausgehend überrascht der Nachweis von Roquefortin im Lebensmittel Käse nicht (Tabelle 3). Die nachgewiesenen Mengen von 0,2–2,3 mg/kg Käse in den untersuchten Handelsproben stimmen gut mit in der Literatur beschriebenen Werten überein (7). Käsesortenspezifische Unterschiede scheinen nicht zu bestehen. Neben einer

möglichen schimmelspezifischen Toxinbildungsrate scheint vor allem die Menge gebildeten Myzels eine Rolle für die Endkonzentration zu spielen. Die Frage der Toxinverteilung im Käse ergab, daß Roquefortin nur im Schimmelanteil zu finden ist (Tabelle 4).

Tabelle 3. Roquefortin-Konzentrationen in Blauschimmelkäsen des Handels

Herkunftsland	Käsesorte	Roquefortin (mg/kg Käse)
Dänemark	Danish Blue	0,96
	Danish Blue	1,70
	Blue Castello	2,29
	Danish Blue	0,95
Frankreich	Roquefort	0,20
	Roquefort	1,33
	Roquefort	0,48
	Bresse Bleu	0,56
Italien	Gorgonzola	0,49
	Gorgonzola	0,94
Schweiz	Blauschimmel	1,10
	Blauschimmel	0,62
	Blauschimmel	0,49

Tabelle 4. Lokalisation von Roquefortin im Käse

Probe	Roquefortin-Gehalt (mg/kg Käse)
Blauschimmelkäse, <i>myzelfrei</i>	—*
Isolierte Myzelmasse	0,640

* Nachweisgrenze 0,05 ppm.

PR-Toxin konnte bis dato noch nie in Käse festgestellt werden. In Experimenten mit Modellkäsen, die mit PR-Toxin versetzt wurden, konnte das Toxin nur zu einem geringen Anteil wiedergefunden werden. Nach wenigen Stunden war der Nachweis nicht mehr möglich. Sämtliches PR-Toxin hatte sich durch die Reaktion mit stickstoffhaltigen Bestandteilen zu einem wiederum instabilen Produkt, zu PR-Imin, umgewandelt.

Botryodiplodin wurde im Zusammenhang mit Käse noch nie erwähnt. Sämtliche Berichte beziehen sich auf *P. roqueforti*-Stämme aus Silage (8).

Mycophenolsäure konnte in Käse nur gefunden werden, wenn der jeweilige Reifungsstamm in semisynthetischer Nährlösung positiv war.

Etwas anders präsentiert sich die Situation bei Weißschimmelpilzen *P. camemberti* (Tabelle 5). Nach 21 Tagen Bebrütung bei 25 °C konnte aus den

Tabelle 5. Cyclopiazonsäure-Konzentrationen einiger *P. camemberti*-Stämme
Bildungsbedingungen: 25 °C/21 d

Stamm	Konzentration µg/500 ml NL*
<i>P. camemberti</i> DD 1	4 000
<i>P. camemberti</i> DD 2	2 000
<i>P. camemberti</i> WL 3	600
<i>P. camemberti</i> WL 4	400
<i>P. camemberti</i> FR 1	600
<i>P. camemberti</i> FR 2	1 000
<i>P. camemberti</i> FR 3	600
<i>P. camemberti</i> FR 4	100
<i>P. camemberti</i> FR 5	600
<i>P. camemberti</i> FR 6	35
<i>P. camemberti</i> FR 7	600
<i>P. camemberti</i> FR 8	360
<i>P. camemberti</i> FR 9	600
<i>P. camemberti</i> DH 2	70
<i>P. camemberti</i> DK 1	800

* NL = Nährlösung in Roux-Nährboden-Flaschen.

auf pH 3 angesäuerten Myzel-Nährlösungsgemischen mit Chloroform und anschließendem Clean-up Cyclopiazonsäure extrahiert werden. Die Konzentrationen differierten ganz beträchtlich. Offensichtlich wirken sich die stammesspezifischen Unterschiede bezüglich Toxinbildung in *P. camemberti* viel stärker aus als bei Blauschimmelpilzen.

Die Bestimmung von Cyclopiazonsäure im Käse erfolgte in Anlehnung an die Methode von *Le Bars* (9) durch saure MeOH/Chloroform-Extraktion, Entfettung mit Petrolbenzin, Ausschütteln der Verbindung aus wässrigem, saurem Milieu mit Chloroform und anschließender DC (Kieselgel-Platten, CHCl₃-Isobutylmethylketon [4:1] oder Toluol-Ethylacetat-Ameisensäure [5:4:1] als Laufmittel). Die Nachweisgrenze betrug 0,05 ppm.

In Weißschimmelkäse (Tabelle 6) konnte nur in 3 von 14 Handelsproben das Toxin nachgewiesen werden. Dieser Befund ist aufgrund von Literaturangaben (9) nicht unerwartet. Als mögliche Gründe sind zu nennen:

- Cyclopiazonsäure-Konzentrationen im Käse unterhalb der Nachweisgrenze;
- Anwendung von Reifungsorganismen mit sehr hoher Toxinbildungsrate in den positiven Proben;
- Unterbrüche in der Kühlkette der einzelnen Käse und dadurch Begünstigung der Toxinbildung durch zeitweise höhere Temperaturen.

Für beide Käsetypen läßt sich zusammenfassend festhalten, daß mit dem Vorkommen von Mykotoxinen, im speziellen von Roquefortin und Cyclopiazonsäure, gerechnet werden muß.

Tabelle 6. Cyclopiazonsäure-Konzentrationen in Weißschimmelkäsen des Handels

Herkunftsland	Käsesorte	Cyclopiazonsäure (mg/kg Käse)
Frankreich	Weißschimmelkäse*	—
	Weißschimmelkäse	—
	Weißschimmelkäse	—
	Weißschimmelkäse	0,37
	Weißschimmelkäse	0,25
	Weißschimmelkäse	—
	Camembert	—
	Camembert	—
	Camembert	—
Schweiz	Brie	—
	Weißschimmelkäse	—
	Camembert	—
	Camembert	—
	Camembert	0,08

* Unterschiedliche Herkunft und Marken.

Die toxikologischen Daten zur Abschätzung einer allfälligen Gesundheitsschädigung durch Mykotoxine von Schimmelkäsen sind noch ungenügend. Die Mutagenitätsprüfung von Cyclopiazonsäure ist in der Literatur beschrieben und negativ (10). Für Roquefortin sind solche Werte nicht verfügbar.

Mit Hilfe des Ames-Testes wurde die Mutagenität von Roquefortin abgeklärt, und wir sind in der Lage, zum ersten Mal überhaupt, Mutagenitätsdaten von Roquefortin zu veröffentlichen (Tabelle 7). Beim Ames-Test (11) handelt es sich um einen Bakterien-Mutagenitätstest mit *Salmonella typhimurium*. Es gibt eine Reihe von verschiedenen Stämmen, von denen jeder eine spezifische Mutation trägt. Gemeinsam ist allen, daß sie Histidin-auxotroph sind. Durch Kultivierung auf Histidin-freiem Medium können nur solche Stämme Kolonien ausbilden, die

Tabelle 7. Mutagenitätsprüfung von Roquefortin
Salmonellen/Mikrosomen-Test nach Ames

Substanz	Konzentration $\mu\text{g}/\text{Platte}$	Revertanzahl pro Platte			
		Stamm TA 98		Stamm TA 100	
		+ S-9	- S-9	+ S-9	- S-9
Roquefortin	0	33 ± 2	21 ± 4	126 ± 9	104 ± 14
	0,1	28 ± 5	31 ± 7	131 ± 14	108 ± 10
	1,0	32 ± 5	20 ± 4	139 ± 18	123 ± 7
	10	27 ± 2	24 ± 3	125 ± 10	108 ± 13
	100	35 ± 8	25 ± 3	124 ± 5	124 ± 7
	1000	44 ± 8	24 ± 5	109 ± 14	70 ± 12
Nitrofluoren	7,5		1094 ± 69		
Na-Azid	5				1020 ± 50
Benz(a)pyren	5	417 ± 39		1060 ± 23	

durch die gleichzeitig auf die Petri-Schale gegebene Testsubstanz zu Histidinprototrophen Stämmen mutiert worden sind. Die zu prüfende Substanz wird in steigenden Konzentrationen aufgetragen, in der Regel bis zum Erreichen der Toxizitätsschwelle gegenüber den Bakterien. Durch Zugabe von S-9, einem Enzym-Mix aus Rattenleber, können Mutagene erfaßt werden, die auf ein Aktivierungssystem, wie es auch im menschlichen Körper vorkommt, angewiesen sind.

Resultate werden als positiv gewertet, wenn die Revertanzahl der Probe um mindestens das Zweifache gegenüber dem Leerwert erhöht ist. Durch die Verwendung von Positivkontrollen, d. h. von bekannten Mutagenen, erhält man zusätzlich Gewißheit bezüglich des richtigen Versuchsablaufes.

Aufgrund unserer Resultate handelt es sich bei Roquefortin um eine im Ames-Test negative Substanz.

Schlußbetrachtung

Als weitere Entscheidungshilfe zur Risikoabschätzung steht uns noch umfassendes Zahlenmaterial aus einem 30tägigen Mäuse-Fütterungsversuch von Weiß-/Blauschimmel, isoliert aus Käse zur Verfügung, das jedoch noch nicht vollständig ausgewertet ist (Publikation in Vorbereitung). In Verbindung mit den bereits erwähnten gesicherten Werten ergeben sich bis jetzt keine Anhaltspunkte für eine Gesundheitsgefährdung für den Menschen durch den Genuß von schimmelreifem Käse.

Zusammenfassung

In sechs auf Roquefortin untersuchten *P. roqueforti*-Stämmen konnte die Verbindung nachgewiesen werden. Die ermittelte Konzentration hängt neben den gewählten T/t-Bedingungen auch vom Ausmaß des gebildeten Myzels ab. Andere *P. roqueforti*-Toxine (PR-Toxin, Mycophenolsäure, Botryodiplodin, Patulin, Penicillinsäure) konnten in den geprüften Käsestämmen nicht gefunden werden. In sämtlichen geprüften Blauschimmel-Käseproben des Handels konnte Roquefortin nachgewiesen werden (maximale Konzentration 2,3 mg/kg Käse).

Zum ersten Mal überhaupt werden Mutagenitätsdaten von Roquefortin veröffentlicht. Das Toxin wurde im Ames-Test getestet und ergab ein negatives Resultat.

Während Cyclopiazonsäure aus allen mit *P. camemberti* (15 verschiedene Stämme) bebrüteten semi-synthetischen Nährmedien extrahiert werden konnte, wurde dieses Toxin nur in drei von vierzehn Käseproben gefunden (maximale Konzentration 0,4 mg/kg Käse).

Résumé

Les six souches testées de *P. roqueforti* produisent de la roquefortine. La concentration ne dépend pas seulement des conditions de temps ou de température mais encore de la masse de mycelium.

Il n'a pas été possible de déceler d'autres toxines que *P. roqueforti* (PR-toxine, botryodiplodine, patuline, acide mycophénolique, acide pénicillique) dans ces souches industrielles. Dans tous les échantillons de fromage du commerce, la roquefortine a été trouvée (concentration maximale 2,3 mg/kg fromage).

Pour la première fois des résultats sur la mutagénicité de la roquefortine sont publiés. La toxine a été testée par l'Ames-test et le résultat était négatif.

Les acides cyclopiazoniques étaient présents dans toutes les souches de *P. camemberti* (15 souches différentes), cultivées sur un milieu semi-synthétique. Mais dans le fromage trois de quatorze échantillons seulement ont donné un résultat positif (concentration maximale 0,4 mg/kg fromage).

Summary

In six out of six *P. roqueforti*-strains the mycotoxin roquefortine could be detected. The concentration not only depends on the chosen T/t-conditions but also on the amount of mycelia. Other *P. roqueforti*-toxins (PR-toxin, botryodiplodin, mycophenolic acid, penicillic acid, patulin) could not be detected in that six strains, cultivated on a semi-synthetic medium. In all of the tested commercial cheese samples roquefortine was detected (maximal concentration 2.3 mg/kg cheese).

For the first time mutagenicity data of roquefortine are reported. The toxin was tested using the Ames-test and the result was negative.

Cyclopiazonic acid could be detected in all 15 *P. camemberti*-strains. In cheese only three of fourteen samples (maximal concentration 0.4 mg/kg cheese) gave positive results.

Literatur

1. Kinsella, J. E. and Hwang, D. H.: Enzymes of *Penicillium roqueforti* involved in the biosynthesis of cheese flavor. *Critical Rev. Food Sci. Nutr.* **8**, 191–228 (1976).
2. Giebel, W., Wegner, K. und Wildner, G. P.: Experimentelle Untersuchungen zur Frage einer kanzerogenen Wirkung von *Penicillium camemberti* var. *candidum*. *Arch. Geschwulstforsch.* **38**, 1–6 (1971).
3. Schoch, U.: Mykotoxine in schimmelgereiften Käsen — eine Literaturübersicht. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **72**, 380–395 (1981).
4. Orth, R.: Mykotoxine von Pilzen der Käseherstellung. In: *Mykotoxine in Lebensmitteln*, pp. 273–296. Reiss, J. (Ed.). Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, New York 1981.
5. Scott, P. M.: Toxins of *Penicillium* species used in cheese manufacture. *J. Food Prot.* **44**, 702–710 (1981).
6. Levin, D. E., Yamasaki, E. and Ames, B. N.: A new *Salmonella* tester strain, TA 97, for the detection of frameshift mutagens. *Mut. Res.* **94**, 315–330 (1982).
7. Scott, P. M. and Kennedy B. P. C.: Analysis of blue cheese for roquefortine and other alkaloids from *Penicillium roqueforti*. *J. Agric. Food. Chem.* **24**, 865–868 (1976).
8. Douce, C., Moreau, S., Decloitre, F. and Moulé, Y.: Relationships between the biological effects and chemical structure of the genotoxic mycotoxin, botryodiplodin. *Carcinogenesis* **3**, 587–588 (1982).
9. Le Bars, J.: Cyclopiazonic acid production by *Penicillium camemberti* Thom and natural occurrence of this mycotoxin in cheese. *Appl. Environ. Microbiol.* **38**, 1052–1055 (1979).
10. Webner, F. C., Thiel, P. G., van Rensburg, S. J. and Demasius, I. P. C.: Mutagenicity to *Salmonella typhimurium* of some *Aspergillus* and *Penicillium* mycotoxins. *Mut. Res.* **58**, 193–203 (1978).
11. Ames, B. N., McCann, J. and Yamasaki, E.: Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/Mammalian-microsome mutagenicity test. *Mut. Res.* **31**, 347–364 (1975).

U. Schoch
Dr. J. Lüthy
Prof. Ch. Schlatter
Institut für Toxikologie der
Eidgenössischen Technischen Hochschule
und der Universität Zürich
CH-8603 Schwerzenbach