



Gesunde Nutztiere, sichere Lebensmittel

Prof. Dr. Pablo Steinberg

Max Rubner-Institut

Carry-over von Kontaminanten in die Milch

- ▶ **Carry-over von Aflatoxin M₁ in die Milch** ←
- ▶ **Carry-over von Dioxinen und PCBs in die Milch** ←
- ▶ **Carry-over von Tropanalkaloiden in die Milch**
- ▶ **Carry-over von Pyrrolizidinalkaloiden in die Milch**
- ▶ **Carry-over von Per- und Polyfluorierten Alkylsubstanzen (PFAS) in die Milch (Neu!)**

Carry-over von Aflatoxin M₁ in die Milch

- ▶ über 300 Mykotoxine in Futtermitteln nachgewiesen
- ▶ häufigste Mykotoxine in Futtermitteln für Milchvieh
 - Deoxynivalenol
 - Zearalenon
 - **Aflatoxine (B₁, B₂, G₁, G₂)**
- ▶ Aflatoxin-produzierende Pilze
 - *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. nomius*
- ▶ Toxinproduktionssteigerung durch
 - heiße, trockene Witterung (> 30°C) während der Bestäubung und des Kornwachstums, warme Nächte (> 21°C)
 - Beschädigungen durch Insekten, Trockenheitsstress oder Hagel
 - Toxinbildung am höchsten bei einer Kornfeuchte von 18-20%; Stopp ab ≤ 15%



Foto: Robert Bellm

A. flavus, *A. parasiticus*
graugrüner oder olivgrüner Schimmel

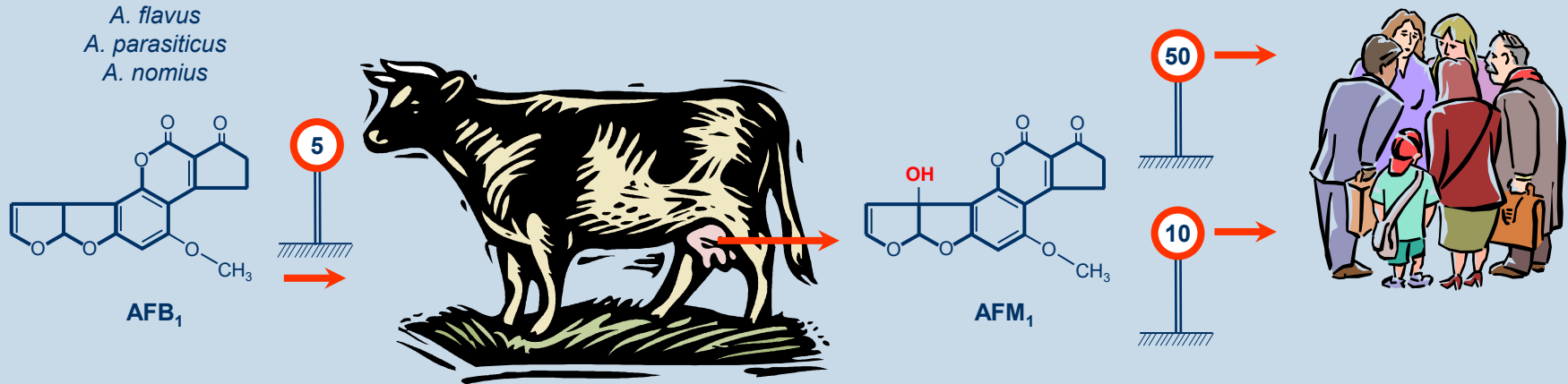
Zur Tierernährung bestimmte Erzeugnisse	Höchstgehalt (µg/kg) bei 88% Trockenmasse
Mischfuttermittel für Milchrinder und Kälber, Milchschafe und Lämmer, Milchziegen und Ziegenlämmer, Ferkel und Junggeflügel	5
Mischfuttermittel für Rinder (außer Milchrindern und Kälbern)	20
Ergänzungsfuttermittel und Alleinfuttermittel	10
Futtermittel-Ausgangserzeugnisse	20

¹ Futtermittelverordnung, § 23 Unerwünschte Stoffe, vom 27.07.2011 bzw. EU-VO 574/2011

Lebensmittel	AFM ₁ -Höchstgehalt (ng/kg)
Rohmilch, wärmebehandelte Milch und Werkmilch	50
Säuglingsanfangsnahrung und Folgenahrung, auch Säuglingsmilchnahrung und Folgemilch	25
Diätetische Lebensmittel für besondere medizinische Zwecke, die eigens für Säuglinge bestimmt sind	25 ²

¹ EU-VO 165/2010

² Nach der Kontaminanten-Verordnung aus 2010 in Deutschland liegt der AFM₁-Höchstgehalt bei diätetischen Lebensmitteln für besondere medizinische Zwecke, die eigens für Säuglinge bestimmt sind, bei 10 ng/kg



Höchstmenge in
Futtermitteln

Abbau,
Verdünnung

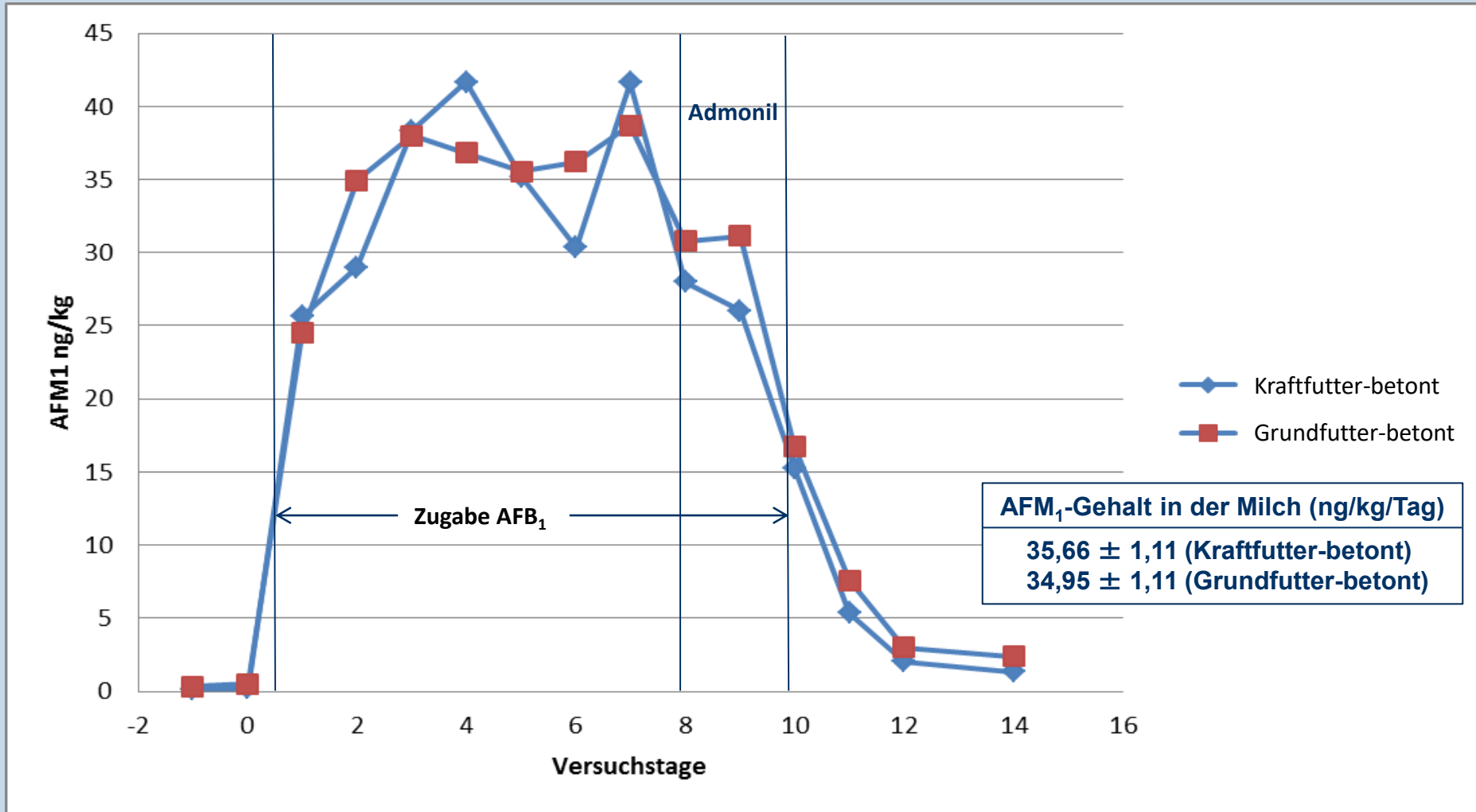
Carry-over-Rate???

Höchstmengen
in Lebensmitteln

Carry-over-Versuch im MRI-Versuchshof Schätb bek



- ▶ **Deutsche Holstein-Kühe > 11.000 Liter Milch/Jahr (\geq 35 Liter Milch/Tag)**
- ▶ **3 Gruppen: 1) Krafftutter-betonte Ration (n = 5 Kühe; 15 kg/Tag Krafftutter)**
 - 2) Grundfutter-betonte Ration (n = 5 Kühe; 5 kg/Tag Krafftutter)**
 - 3) Kontrollgruppe (n = 40; 10 kg/Tag Krafftutter)**
- ▶ **Aflatoxin B₁-Bolus (50 µg)**
- ▶ **Dauer des Versuchs: 2 Tage Anamnese**
 - 10 Tage Applikation (in den letzten 3 Tagen: + Mykotoxin-Binder)**
 - 4 Tage Abklingphase**
- ▶ **Erwarteter Aflatoxin M₁-Gehalt in der Milch:**
 - ~ 15 ng/kg (bei einer 1%igen Carry-over-Rate)**
 - ~ 90 ng/kg (bei einer 6%igen Carry-over-Rate)**

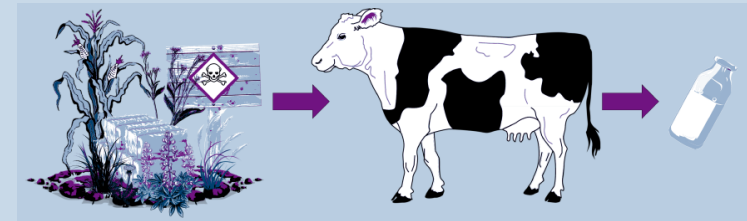


Carry-over-Rate ≈ 2%

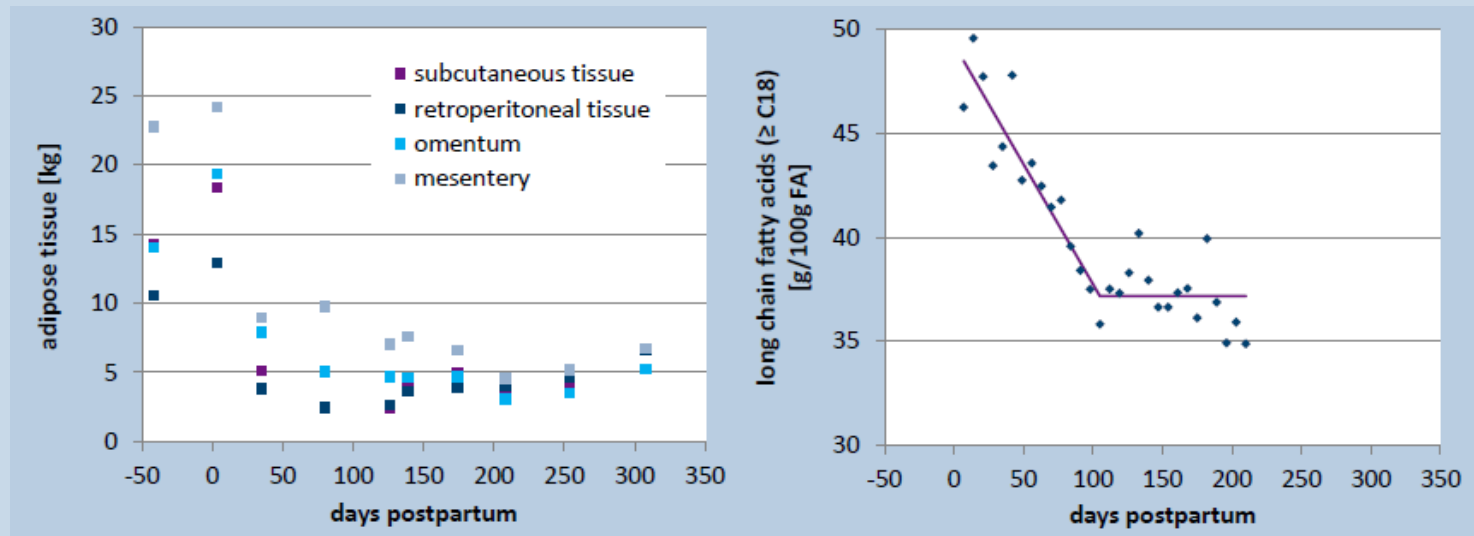
- ▶ **schneller Übergang von Aflatoxin M₁ in die Milch**
- ▶ **kein Einfluss der Krafftuttermittellration auf die Carry-over-Rate**
- ▶ **die Carry-over-Rate bei Hochleistungskühen beträgt ca. 2%**
- ▶ **Aflatoxinbinder (auf Bentonit-Montmorillonit-Basis) können zu einer Reduktion des Aflatoxingehaltes in der Milch führen**
- ▶ **schnelle Reduktion des Aflatoxingehaltes in der Milch nach Absetzen der Eintragsquelle (< 50 % nach 24 h)**
- ▶ **durch den Klimawandel muss mit einer Zunahme der Aflatoxin B₁-Belastung in Grundfuttermitteln gerechnet werden**

Carry-over von Dioxinen und PCBs in die Milch

- ▶ **fünf hochleistende Milchkühe der Rasse Deutsch-Holstein**
- ▶ **orale Gabe per Bolus eines PCDD/F-PCB-Gemisches mit einer mittleren Konzentration von 6,3 ng WHO-PCnDD/F-TEQ pro kg Trockenfutter über 28 Tage (Annahme: 24 kg Futter/Kuh/Tag)**
- ▶ **zwei Expositionsphasen über 28 Tage, gefolgt von je einer Auswaschphase**
- ▶ **erste Exposition direkt nach der Kalbung - *katabole* Phase, zweite Exposition zur Mitte der Laktation - *anabole* Phase**

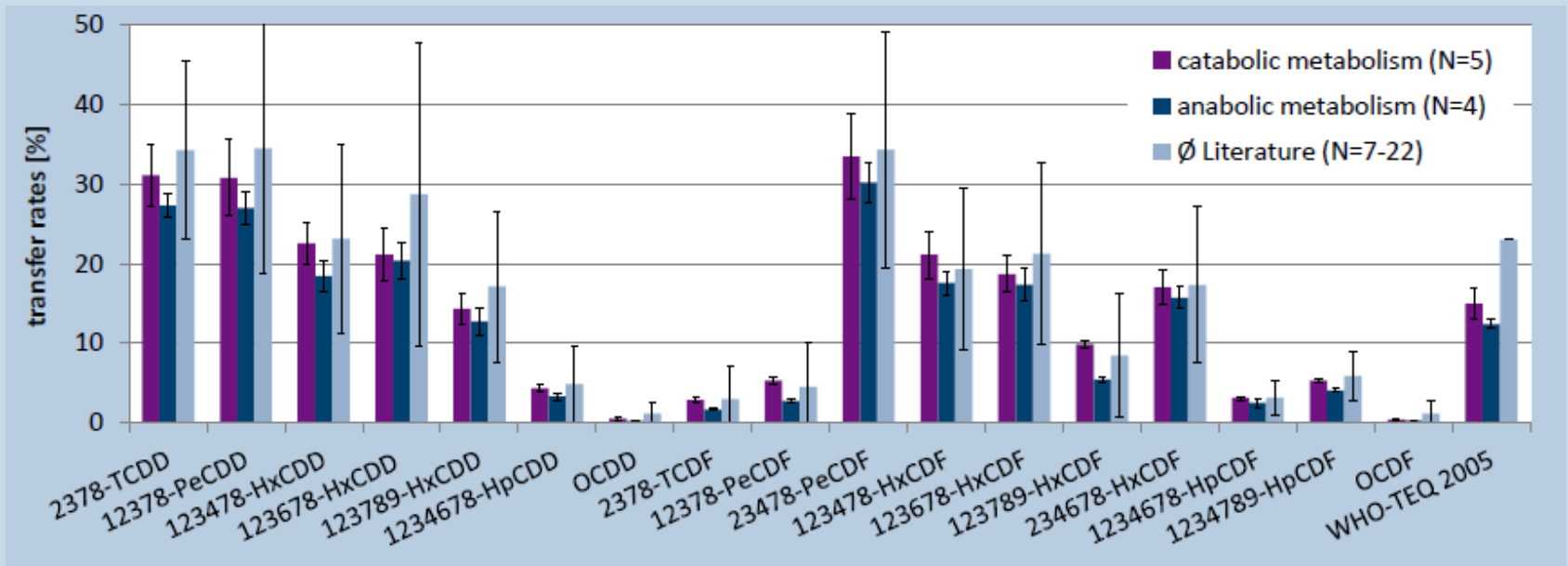


- ▶ **Bestimmung der Stoffwechsellage mit zwei verschiedenen Methoden:**

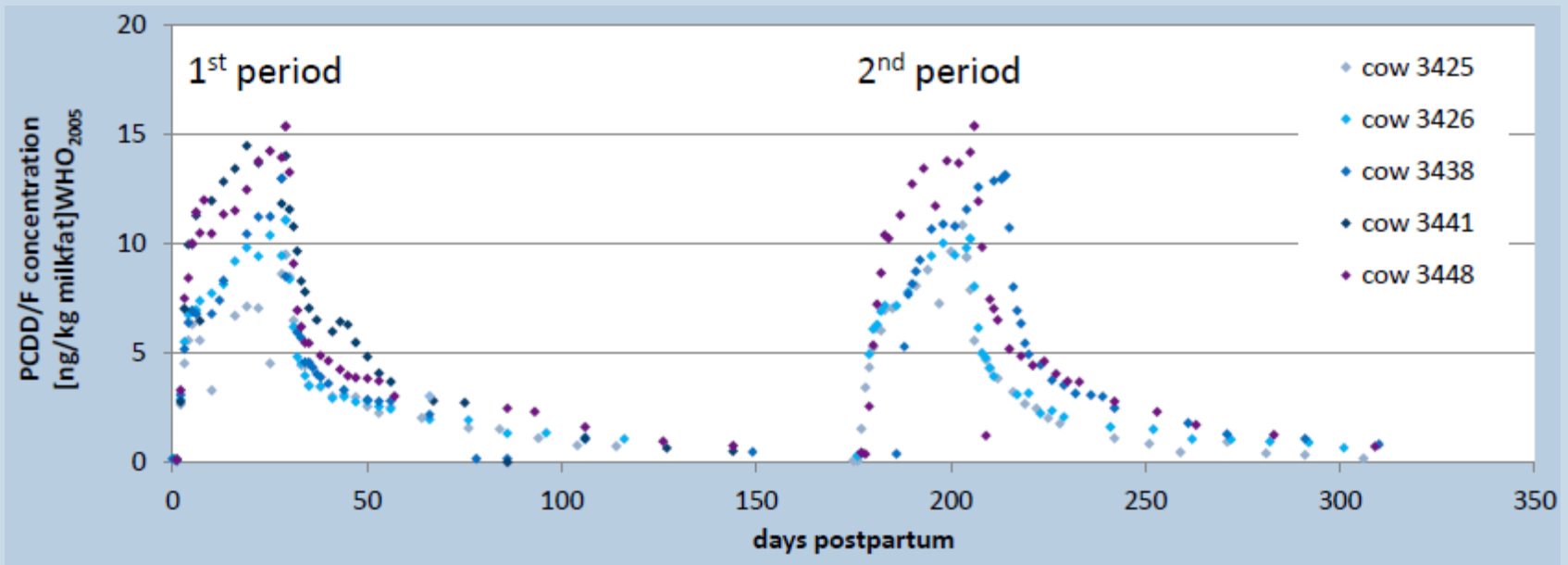


Veränderung der Fettdepots, gemessen mit Ultraschall (links); langkettige Fettsäuren in Milchfett, bestimmt mittels GC-FID (rechts) am Beispiel von Versuchskuh 3425.

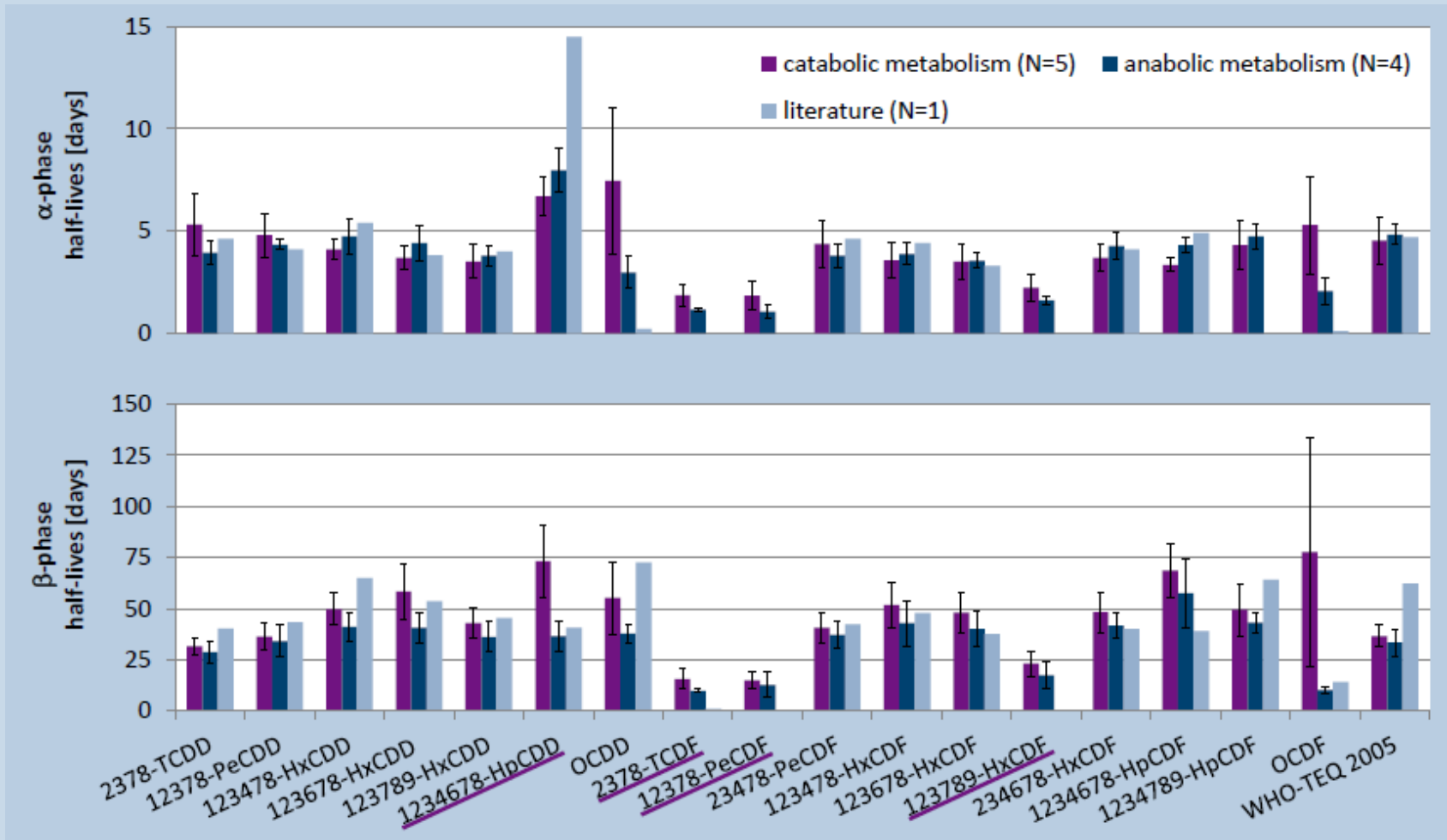
- ▶ **anhand der segmentierten Regression ergibt sich eine Änderung des Stoffwechsels um Tag 105 postpartum**



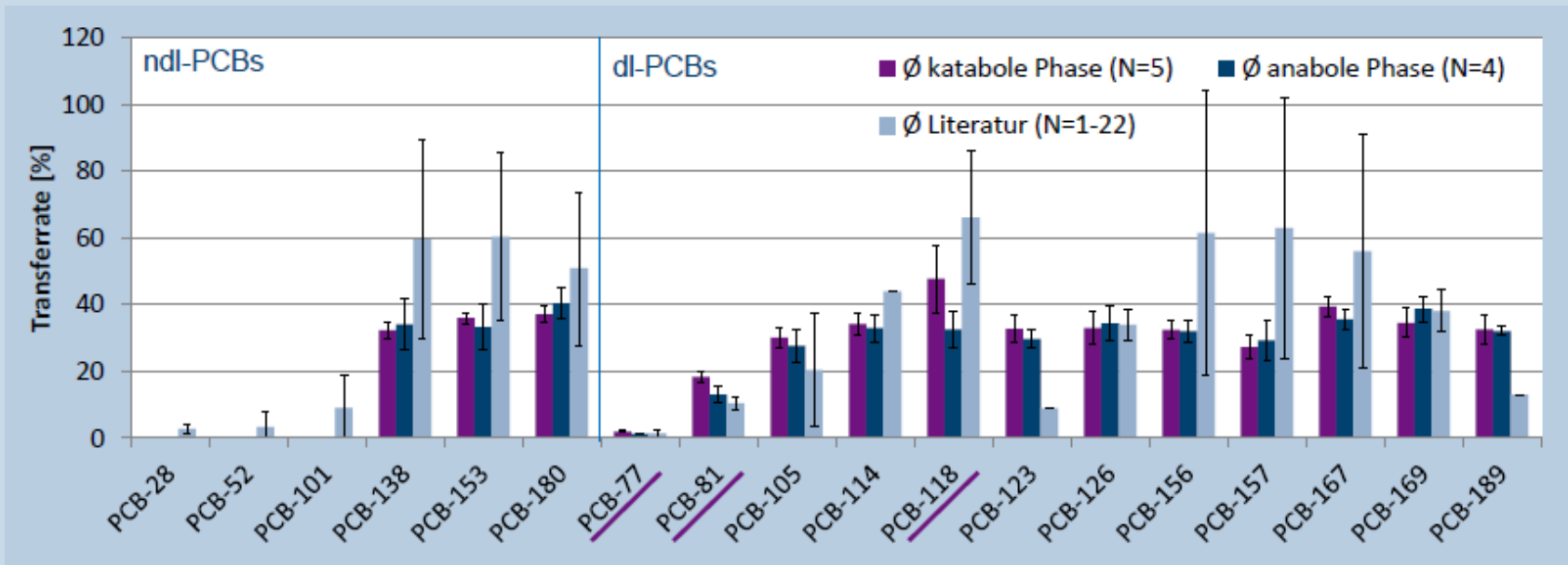
PCDD/F-Transferraten während der katabolen und anabolen Metabolismusphasen und Vergleich zu vorhandenen Literaturdaten



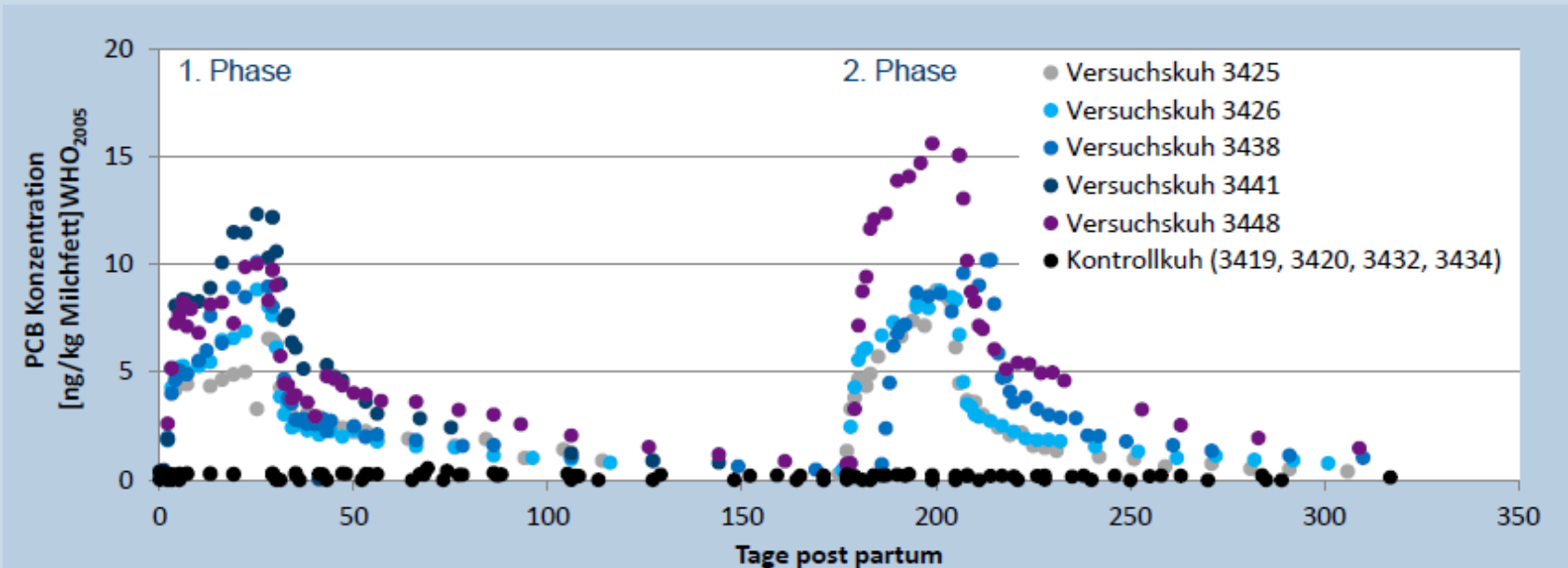
PCDD/F-Konzentration im Milchfett (TEQ) von fünf Versuchskühen, bestimmt mittels GC-HRMS



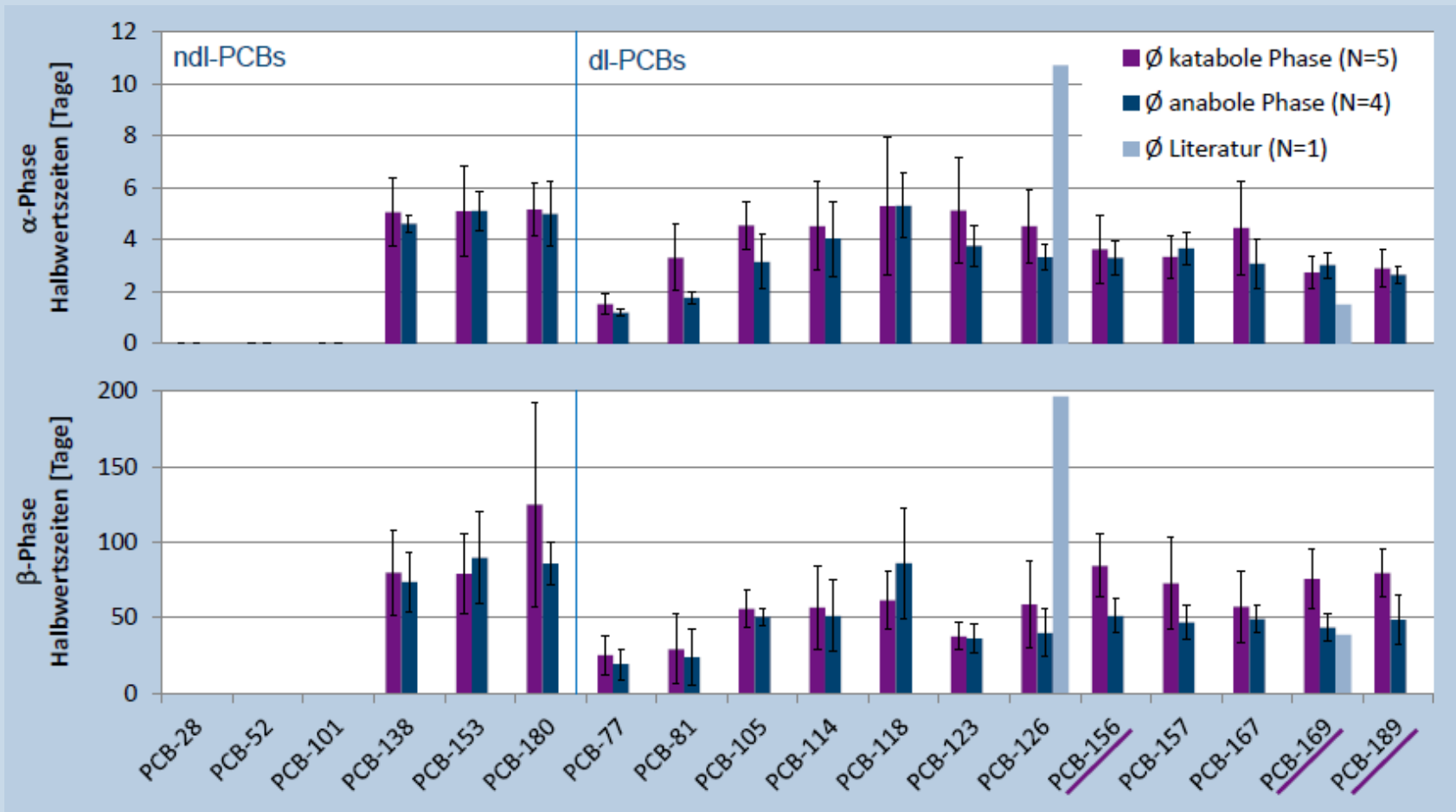
α- und β-Eliminationshalbwertszeiten der PCDD/F in der Milch während der katabolen und anabolen Stoffwechselphasen und Vergleich zu vorhandenen Literaturdaten



dl- und ndl-PCB-Transferraten während der katabolen und anabolen Metabolismusphasen und Vergleich zu vorhandenen Literaturdaten



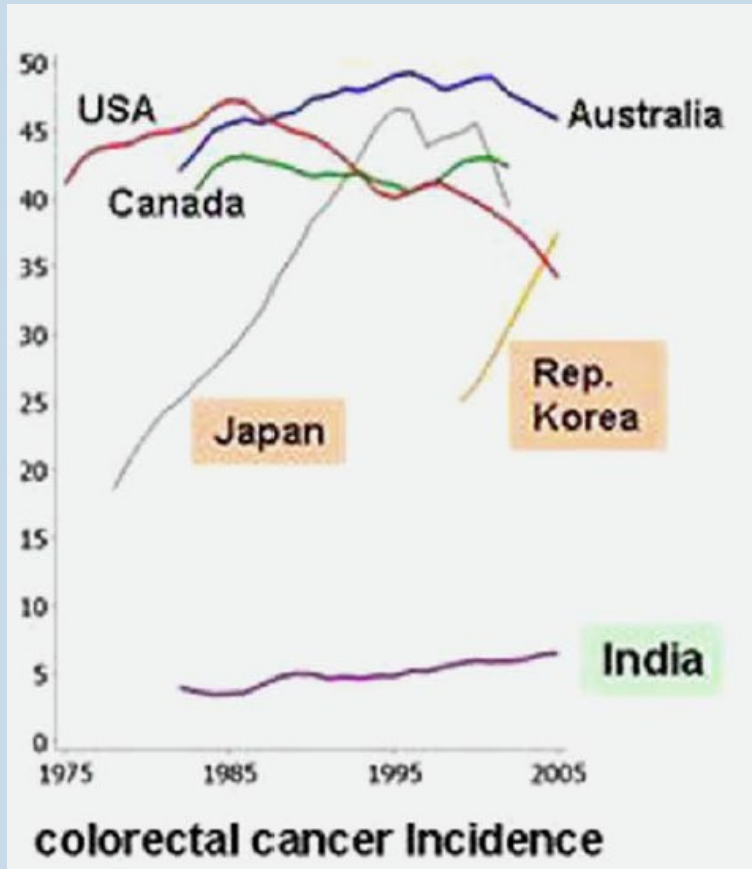
dl-PCB-Konzentration im Milchfett (TEQ) von fünf Versuchskühen und vier Kontrollkühen, bestimmt mittels GC-HRMS



α - und β -Eliminationshalbwertszeiten der dl- und ndl-PCBs in der Milch während der katabolen und anabolen Stoffwechselphasen und Vergleich zu vorhandenen Literaturdaten

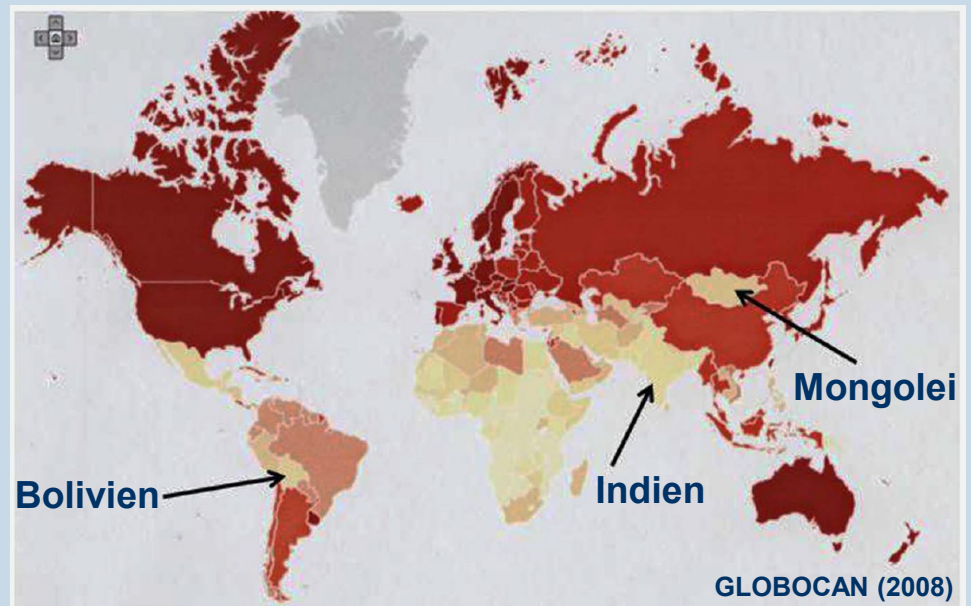
- ▶ ein Transfer von PCDD/F sowie dl- und ndl-PCBs in die Kuhmilch ist nach oraler Aufnahme der Substanzen nachweisbar
- ▶ die Carry-over-Rate der verschiedenen PCDD/F-Kongenere ist sehr unterschiedlich (1 bis ca. 30%)
- ▶ im Fall der PCDD/F wurden mittlere Halbwertszeiten von 4 und 39 Tagen für die schnelle α -Auswaschphase bzw. für die langsamere β -Auswaschphase ermittelt
- ▶ die Carry-over-Rate der dl-PCBs beträgt ca. 30% (Mittelwert aller Kongenere)
- ▶ im Fall der dl-PCBs wurden mittlere Halbwertszeiten von 4 und 60 Tagen für die schnelle α -Auswaschphase bzw. für die langsamere β -Auswaschphase ermittelt
- ▶ letztendlich soll ein toxikokinetisches Modell zur Expositionsabschätzung unter Berücksichtigung der Stoffwechsellage der Kühe erstellt werden (→ BfR)

Vorkommen von *bovine meat and milk factors* (BMMF) in Lebensmitteln tierischen und pflanzlichen Ursprungs

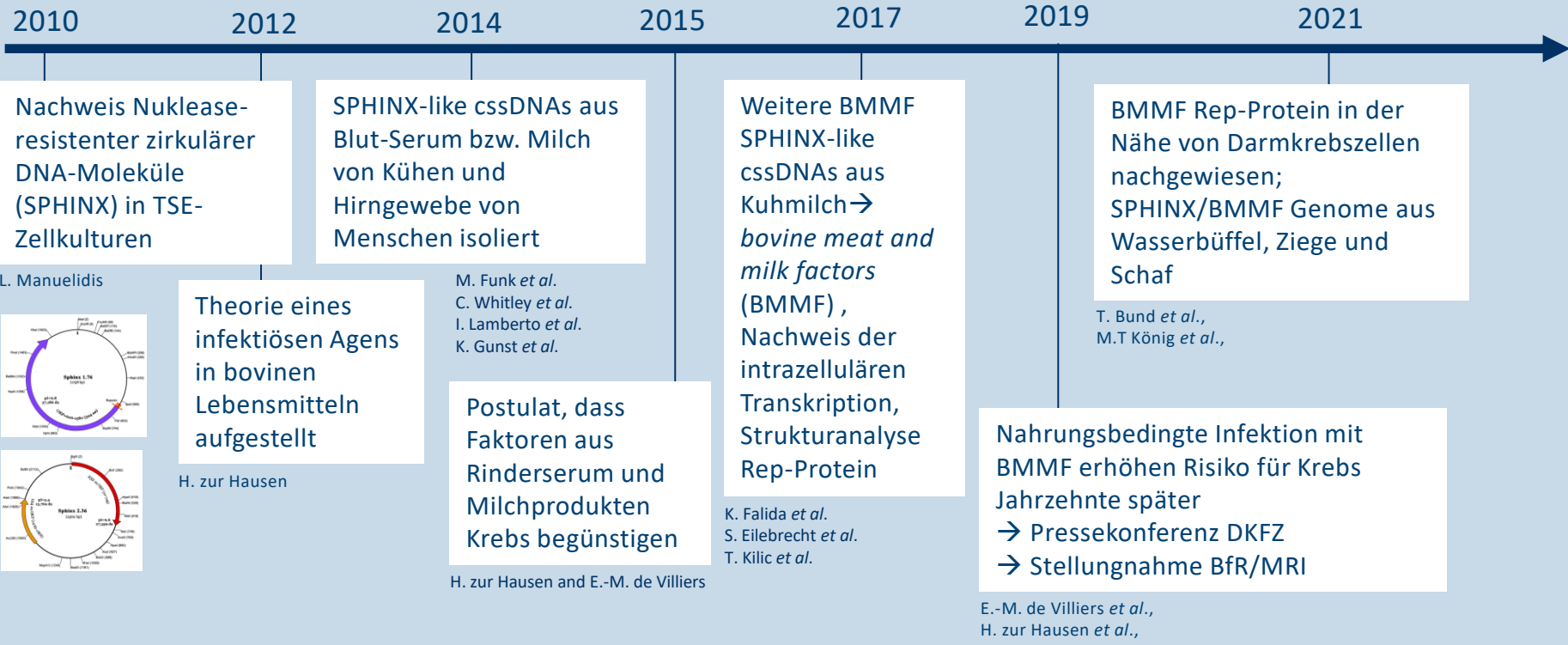


Meat consumption per capita (kg/year) in Japan, Korea and India between 1961 and 2002

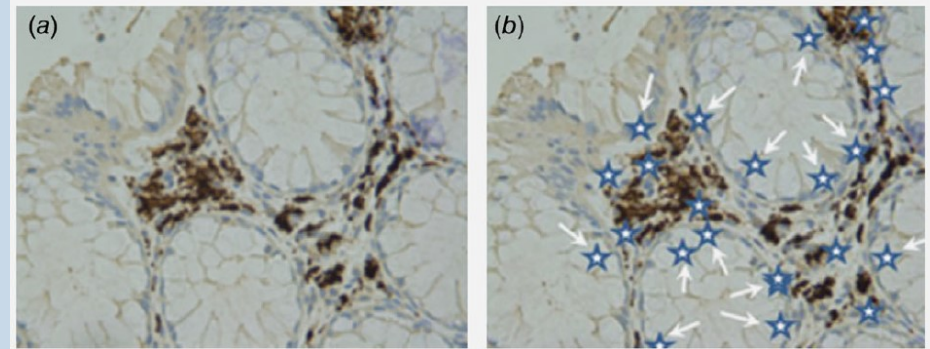
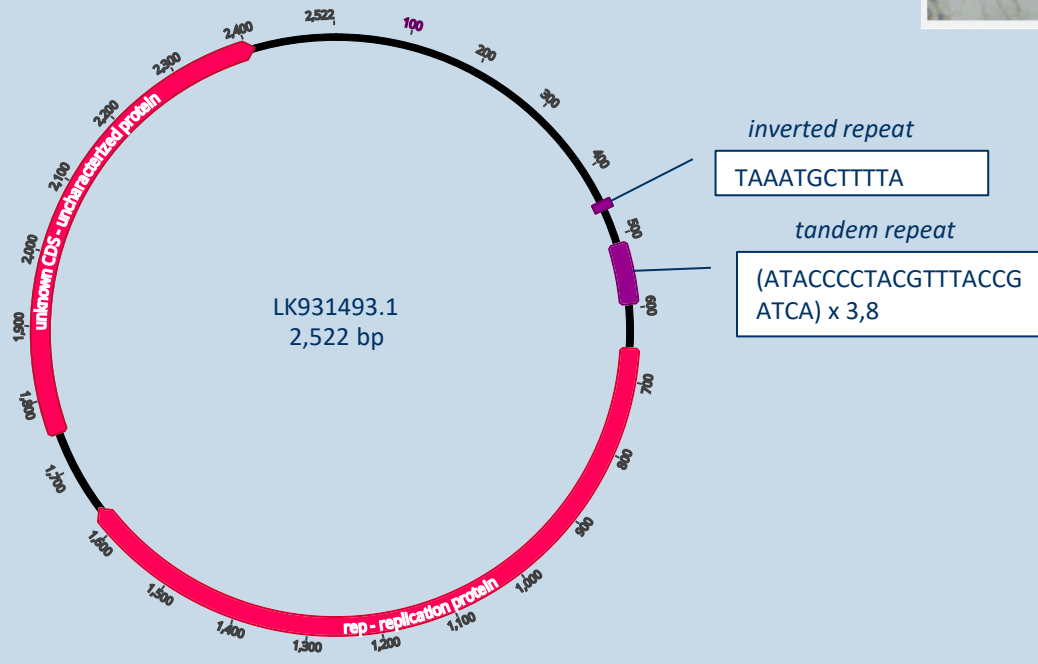
	Year					
	1961	1970	1980	1990	2000	2002
Japan	7.6	17.6	30.6	38.8	44.7	43.9
Korea	4.1	5.3	12.9	25.2	45.9	48.0
India	3.7	3.6	3.7	4.6	5.0	5.2



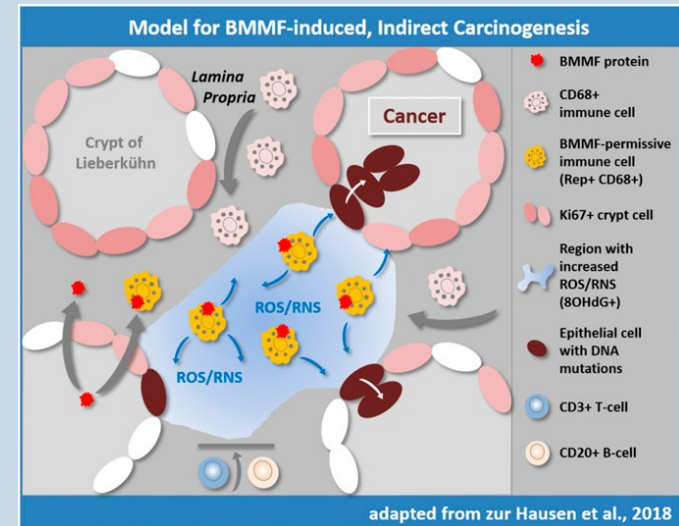
Quelle: zur Hausen, H., de Villiers, E.-M. (2015) Int. J. Cancer 137: 959-967.



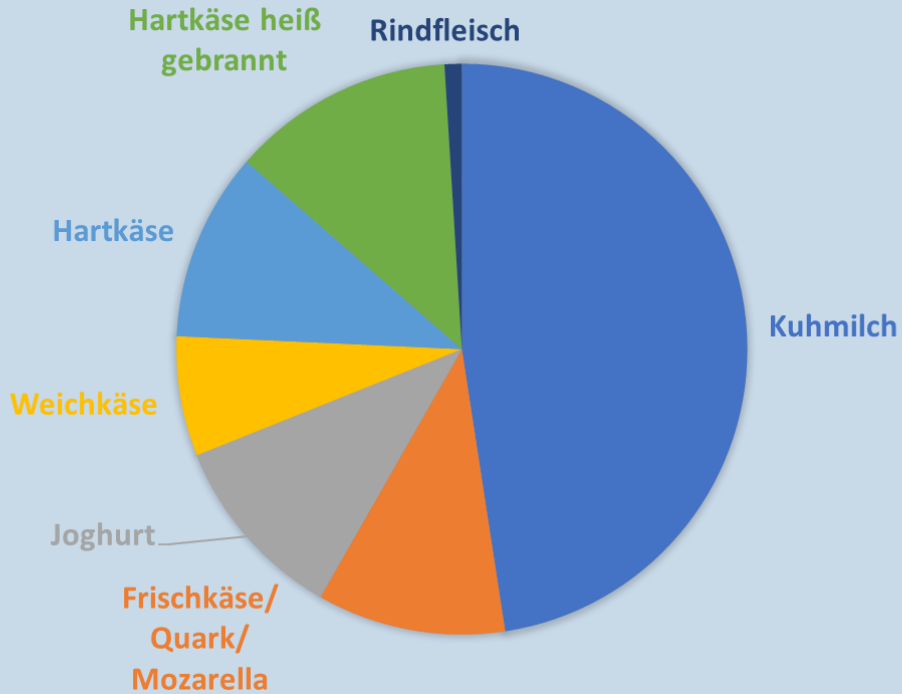
- ▶ Größe < 3000 Basen
- ▶ *inverted repeat* (10nt)
- ▶ *tandem repeat* (22nt, 3-4fache Wdh.)
- ▶ *rep-Gen*



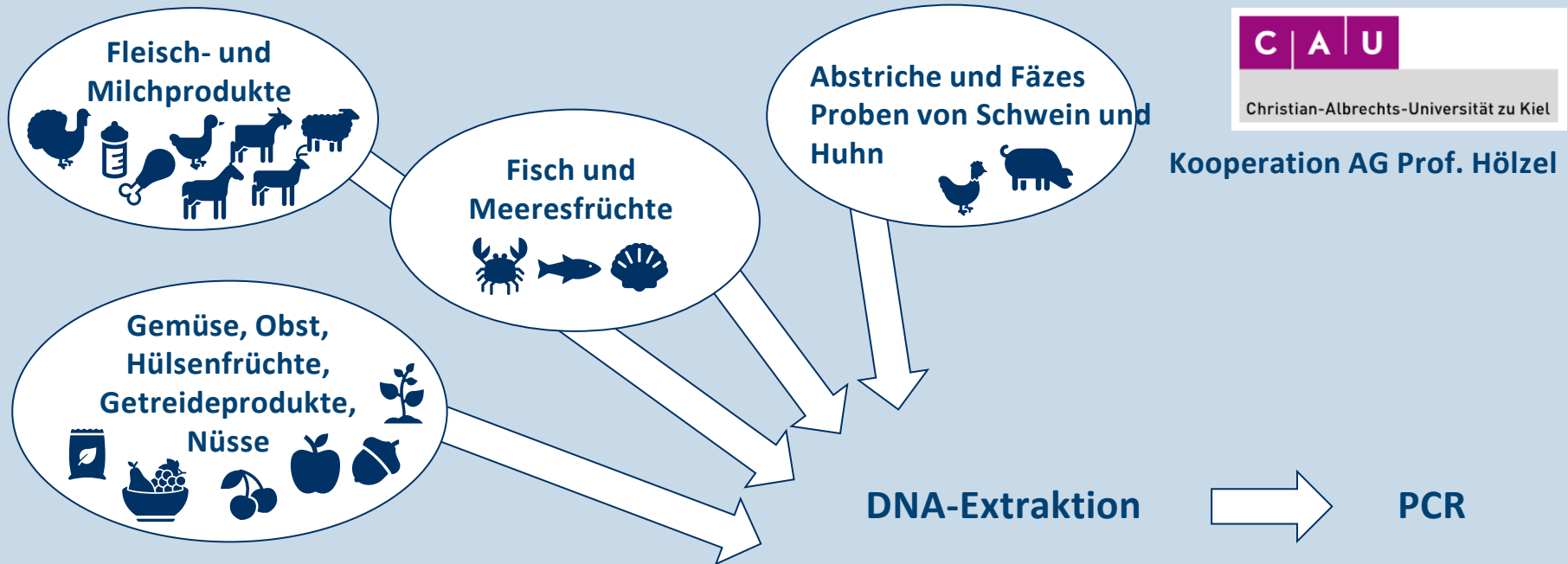
(a) BMMF1 anti-Rep monoclonal antibody staining of colon lamina propria cells surrounding Lieberkühn's crypts.
 (b) Stars exemplify hits of suspected ROS activity.
Int. J. Cancer 144: 1574-1583 (2019)



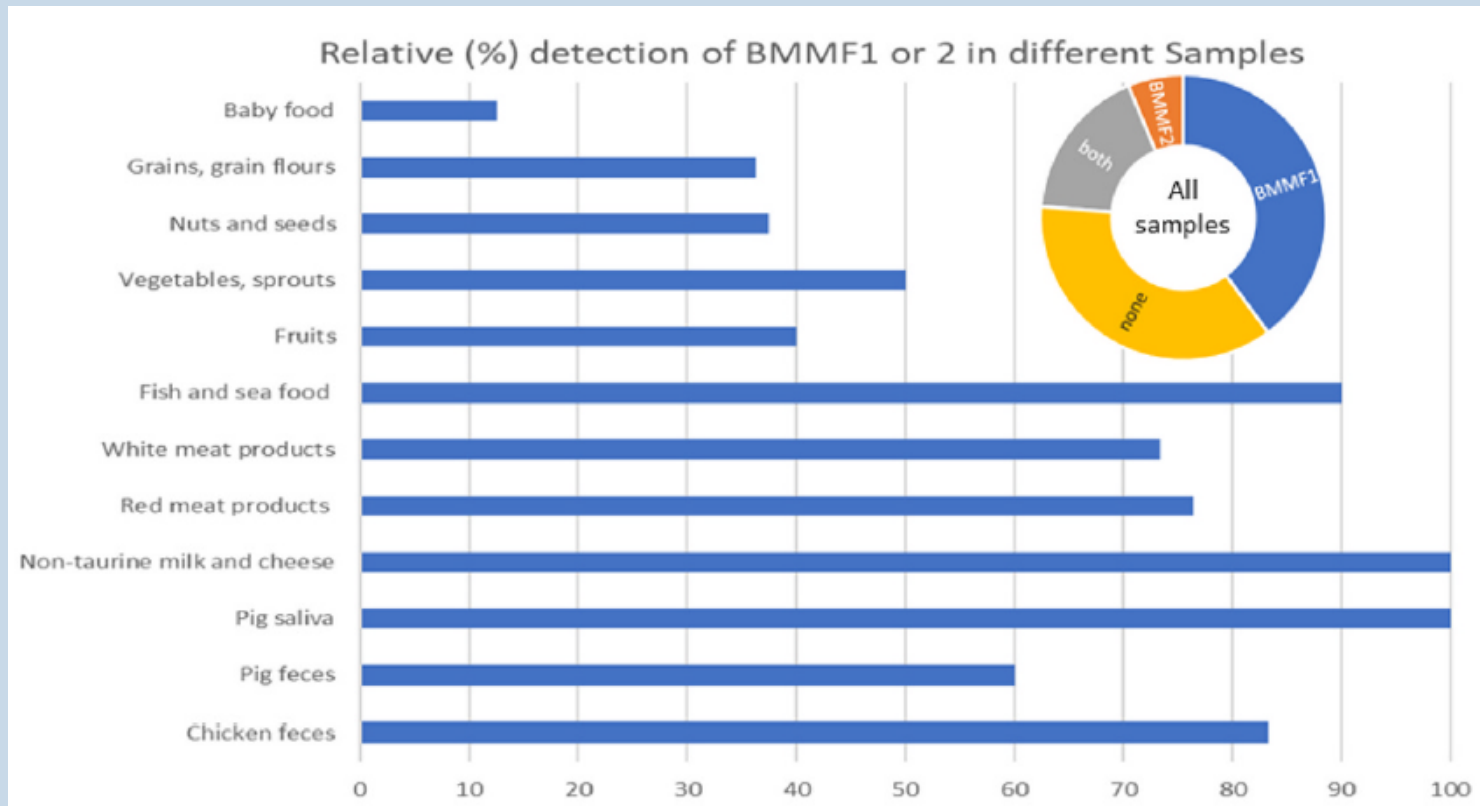
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 118: e2025830118 (2021)



Lebensmittel	n	PCR	%
Kuhmilch	49	42 +	86
		4 (+)	8
		3 -	6
Kuhmilchprodukte	53	50 +	94
		3 (+)	6
		0 -	0
Rindfleisch	1	+	100
Gesamt	103	93 +	90
		7 (+)	7
		3 -	3



Pohl et al. (2022) Detection of DNA sequences attributed to bovine meat and milk factors (BMMF/SPHINX) in food-related samples. Food Control 135: 108779



PCR-Ergebnisse durch Sequenzierung bestätigt

- Insgesamt 143 Proben untersucht
- 57 positiv für BMMF-Gruppe 1
- 9 positiv für BMMF-Gruppe 2
- 25 positiv für beide BMMF-Gruppen
- 52 Proben negativ für BMMF

Pohl et al. (2022) Detection of DNA sequences attributed to bovine meat and milk factors (BMMF/SPHINX) in food- related samples. Food Control 135: 108779

- ▶ 103 Lebensmittelproben vom Rind und 143 *non-aurine* Lebensmittelproben wurden untersucht
- ▶ PCR-basierter Nachweis von BMMF-Gruppe 1 und BMMF-Gruppe 2 sowohl in Lebensmitteln vom Rind als auch in anderen Lebensmitteln (Geflügel, Schwein, Fisch, Gemüse, Obst, Getreideprodukte, Sprossen usw.)¹
- ▶ BMMF sind auch in hochverarbeiteten Lebensmitteln (z.B. heißgebrannter Käse, Salami usw.) nachgewiesen worden
- ▶ die Herkunft der BMMF muss noch geklärt werden

Offene Fragen, u.a.

- ▶ *zur Infektiosität, Replikation und Expression von BMMF in eukaryotischen Zellen*
- ▶ *zur Inaktivierung der BMMF durch lebensmitteltechnologische Verfahren*

¹ Pohl et al. (2022) Detection of DNA sequences attributed to bovine meat and milk factors (BMMF/SPHINX) in food-related samples. Food Control 135: 108779



**Institut für Mikrobiologie und
Biotechnologie (MRI)**

**Charles M. A. P. Franz
Diana Habermann
Martin Klempt**

Institut für Tierzucht und Tierhaltung (CAU Kiel)

**Christina Hölzel
Sina Pohl
Christine L. Boldt**

Lehrstuhl für Virologie, Tierärztliche Fakultät (LMU München)

**Robert Fux
Ellen K. Link**

**Institut für Sicherheit und Qualität
bei Milch und Fisch (MRI)**

**Karin Knappstein
Torsten Krause
Julika Lamp
Ronald Maul
Hans-Georg Walte**



Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!