

# Vorkommen von Aflatoxin M in Milch

Autor(en): **Zimmerli, B. / Blaser, O.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **70 (1979)**

Heft 2

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983725>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

## Vorkommen von Aflatoxin M in Milch

*B. Zimmerli und O. Blaser*

Bundesamt für Gesundheitswesen, Bern

### Einleitung

Wegen ihrer Leberkrebs erzeugenden Wirkung sollte die Aufnahme von Aflatoxinen (AF) durch den Menschen so gering wie möglich sein. Aufgrund der im Tierversuch (1) gefundenen starken Karzinogenität wurde vorgeschlagen, daß die tägliche Aufnahme an Aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) möglichst nicht höher als 1 ng pro erwachsener Mensch sein sollte (2, 3). Wird Milchkühen aflatoxinhaltiges Futter verabreicht, so gelangt ca. 1% der aufgenommenen AFB<sub>1</sub>-Menge in hydroxylierter Form als Metabolit AFM<sub>1</sub> in die Milch (vergleiche die in (4) aufgeführten Arbeiten). AFM<sub>1</sub> ist ebenfalls krebserzeugend, jedoch vermutlich 4- bis 10mal weniger stark als AFB<sub>1</sub> (3). Lagerung, Pasteurisierung und Uperisierung von Milch ergibt, wenn überhaupt, eine nur äußerst geringe Reduktion des AFM<sub>1</sub>-Gehaltes (5, 6). Auch bei der Joghurt- und Käseherstellung sowie während der Käsureifung findet kein wesentlicher Abbau von AFM<sub>1</sub> statt (5—10). Wird berücksichtigt, daß in der Schweiz der mittlere tägliche Pro-Kopf-Konsum an Milch und Milchprodukten ca. 1,2 kg Milchäquivalente beträgt, so wird deutlich, welche Bedeutung einem möglichst tiefen AFM<sub>1</sub>-Gehalt der Milch zukommt. Da Erdnußprodukte besonders häufig mit Aflatoxinen kontaminiert sind, wurde mit Wirkung ab 1. August 1977 von den zuständigen Landwirtschaftsbehörden als erste Maßnahme die Verwendung von Erdnußprodukten mit nachweisbaren Aflatoxinmengen zur Milchviehfütterung verboten. In dieser Arbeit werden die Resultate von AFM<sub>1</sub>-Bestimmungen in Mischmilchproben, die in der Zeit vom 22. Februar 1977 bis 22. Februar 1979 erhoben wurden, mitgeteilt.

### Experimentelles

#### *Probenerhebung*

Bei den neun größten Milchverbänden mit Milcheinlieferungen von über 90% der gesamten Verkehrsmilchproduktion wurden Mischmilchproben erhoben\*. Die

\* Herrn Dr. H. Gerber und Herrn Dr. G. Steiger von der Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Liebefeld sei an dieser Stelle für die Organisation von Probenahme und Transport in unser Laboratorium bestens gedankt.

Anzahl Proben pro Verband richtete sich nach seinem Anteil an der Verkehrsmilchproduktion. Die ca. 1 l umfassenden Proben wurden gekühlt, in einer Blutplasmaflasche per Post nach Liebefeld geschickt und anschließend in unser Laboratorium überbracht, wo sie sofort tiefgefroren wurden. In der Regel verstrichen zwischen Probenahme und Analyse 5—20 Tage; bei einigen wenigen Proben der ersten Untersuchungsserie maximal 60 Tage. Es wurden daher einige orientierende Versuche zur Stabilität von AFM<sub>1</sub> in Rohmilch während der Lagerung bei —22 °C durchgeführt. Es zeigte sich, daß bei Lagerzeiten von bis zu 60 Tagen kein Abbau von AFM<sub>1</sub> stattfindet, was mit den Ergebnissen von *Stoloff* und Mitarbeitern (6) übereinstimmt. Ueber die Versuche wird an anderer Stelle im Detail berichtet werden (11).

### *Analytik*

Die Extraktion von AFM<sub>1</sub> aus der Milch sowie die Vorreinigung des Rohextraktes wurde in der Regel nach der Vorschrift von *Pons* und Mitarbeitern (12) und die anschließende Säulenchromatographie an Kieselgel nach den Angaben von *Tuinstra* und *Bronsgest* (13) durchgeführt. Zur quantitativen Bestimmung diente stets die Flüssigkeitschromatographie in Verbindung mit einem Fluoreszenzdetektor (14, 15). In der ersten Untersuchungsserie wurde der AFM<sub>1</sub>-Gehalt jeder Probe in zwei Trennsystemen (Kieselgel, Umkehrphase), als Trifluoressigsäurederivat sowie als Essigsäureanhydridderivat bestimmt. In der letzten Serie wurde im Kieselgeltrennsystem die dem AFM<sub>1</sub>-Peak entsprechende Fraktion aufgefangen und das AFM<sub>1</sub> als Trifluoressigsäurederivat in einem Umkehrphasentrennsystem bestimmt.

Die Wiederfindungsraten wurden an verstärkten Rohmilchproben (50 und 1000 ng/kg) ermittelt. Aus total 14 Versuchen ergab sich eine mittlere Wiederfindungsrate von 88% (Streubereich der Einzelwerte 11%, P = 95%). Die detaillierte Beschreibung der Analysenmethode, der Derivatbildung sowie der massenspektrometrischen Untersuchung von AFM<sub>1</sub> werden Gegenstand zweier späterer Publikationen sein.

### **Resultate und Diskussion**

In der ersten Untersuchungsserie wurde neben AFM<sub>1</sub> auch AFM<sub>2</sub> bestimmt, das im Tierkörper aus AFB<sub>2</sub> gebildet wird. Die Ausscheidung von AFM<sub>2</sub> in die Milch ist mit derjenigen von AFM<sub>1</sub> vergleichbar (16, 17). Für Erdnußprodukte läßt sich aus Literaturdaten (18—20) für das Gehaltsverhältnis AFB<sub>1</sub> zu AFB<sub>2</sub> ein Mittelwert mit Vertrauensbereich von  $3,6 \pm 0,6$  (P = 95%, N = 59, Bereich der Einzelwerte 0,1—10) berechnen. In den untersuchten Milchproben ergab sich für das Gehaltsverhältnis AFM<sub>1</sub> zu AFM<sub>2</sub> ein Mittelwert mit Vertrauensbereich von  $3,2 \pm 0,4$  (P = 95%, N = 25, Bereich der Einzelwerte 0,9—5,8), der gut mit dem aufgrund des Verhältnisses AFB<sub>1</sub> zu AFB<sub>2</sub> in Erdnußprodukten zu erwartenden Wert übereinstimmt.

Tabelle 1 enthält alle AFM<sub>1</sub>-Meßwerte in ng/kg zusammen mit den Milchmengen in Tonnen, für welche die untersuchte Probe als repräsentativ betrachtet werden kann. Die Einzelwerte sind in Tabelle 2 zusammengefaßt. Es ist ersichtlich, daß sich infolge der verfügbaren behördlichen Maßnahmen der Anteil an Proben mit AFM<sub>1</sub>-Gehalten von über 50 ng/kg im Winter 1977/78 bereits von 76,7% im Winter 1976/77 auf 37,5% verminderte. Im Winter 1978/79 lag die

Tabelle 1. Aflatoxin-M<sub>1</sub>-Gehalte von Mischmilchproben in ng/kg<sup>1)</sup>

Winter 1976/77 (22. 2.—14. 4. 1977)		Sommer 1977 (31. 8.—7. 9. 1977)		Winter 1977/78 (1. 4.—7. 4. 1978)		Winter 1978/79 (22. 1.—22. 2. 1979)	
5	(12)	7	(81)	25	(165)	4	(114)
280	(7)	9	(110)	21	(3)	6	(16)
310	(100)	11	(15)	37	(12)	9	(7)
340	(15)	33	(15)	27	(25)	3	(10)
520	(15)	10	(10)	7	(8)	5	(10)
170	(8)	23	(124)	40	(10)	2	(400)
150	(8)	8	(15)	27	(430)	6	(15)
130	(4)	5	(3)	27	(127)	3	(40)
70	(6)	9	(—)	63	(60)	6	(69)
140	(56)	4	(13)	24	(12)	5	(10)
40	(30)	7	(158)	50	(20)	1	(5)
40	(7)	< 2	(16)	47	(10)	7	(18)
8	(12)	5	(60)	178	(2)	19	(30)
34	(2)	< 2	(—)	50	(9)	6	(24)
80	(660)	2	(—)	45	(7)	2	(23)
110	(9)	5	(—)	153	(7)	21	(100)
76	(150)			52	(13)	9	(22)
79	(—)			60	(14)	9	(25)
49	(—)			122	(120)	1	(20)
58	(10)			17	(180)	70	(45)
39	(3)			65	(30)	38	(32)
91	(—)			15	(8)		
76	(90)			609	(8)		
142	(—)			244	(8)		
80	(35)						
99	(25)						
187	(8)						
84	(2)						
119	(30)						
95	(7)						

<sup>1)</sup> in Klammern Milchmenge in Tonnen aus der die Probe stammte  
— Keine Angabe erhalten

Tabelle 2. Prozentuale Häufigkeit der AFM<sub>1</sub>-Gehalte in Abhängigkeit vom Konzentrationsbereich

Untersuchungsperiode	Zahl der untersuchten Proben	Konzentrationsbereich in ng/kg				
		1-10	11-50	51-100	101-200	201-600
Winter 1976/77	30	6,7 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	16,7 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	36,7 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	26,7 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	13,3 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> : <sup>1)</sup>
Sommer 1977	16	81,3 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	18,7 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>			
Winter 1977/78	24	4,2 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	58,3 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	16,7 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	12,5 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	8,3 <sup>0</sup> / <sub>0</sub> : <sup>2)</sup>
Winter 1978/79	21	81,0 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	14,3 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>	4,8 <sup>0</sup> / <sub>0</sub>		

1) = 76,7<sup>0</sup>/<sub>0</sub>; 2) = 37,5<sup>0</sup>/<sub>0</sub>

überragende Mehrzahl der Proben im Bereich von 1 bis 10 ng/kg. Aus den ausgedehnten Untersuchungen von Hüni (21, 22) kann der mittlere Gehalt an AFB<sub>1</sub> im Milchviehmischfutter, das in den Untersuchungsperioden vermutlich verfüttert wurde, ermittelt werden. Da die jeweils während einer Trockenfütterungsperiode untersuchten Milchproben als repräsentativ für rund 25<sup>0</sup>/<sub>0</sub> der gesamtschweizerischen täglichen Verkehrsmilchmenge gelten können, sollte ein mit der Milchmenge, aus der die Probe stammte, gewogener Mittelwert eine Schätzung des mittleren AFM<sub>1</sub>-Gehaltes der schweizerischen Milch ergeben (Tabelle 3). Die Zusammenstellung in dieser Tabelle zeigt, wie erwartet, daß in den Wintermonaten der geschätzte mittlere AFM<sub>1</sub>-Gehalt der Milch proportional dem mittleren AFB<sub>1</sub>-Gehalt der Futtermittel ist. Der Proportionalitätsfaktor ergibt sich zu rund  $2 \cdot 10^{-3}$ . — Korrekterweise müßte allerdings in dieser Gegenüberstellung ebenfalls der mit der Futtermittelmenge gewichtete mittlere AFB<sub>1</sub>-Gehalt eingesetzt werden. — Eine ähnliche in Deutschland durchgeführte Untersuchung (23) ergab nur einen qualitativen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von AFM<sub>1</sub> in Milch und AFB<sub>1</sub>

Tabelle 3. Vergleich der mittleren Gehalte an AFB<sub>1</sub> in Futtermitteln und AFM<sub>1</sub> in Milch

Untersuchungsperiode	AFB <sub>1</sub> <sup>1)</sup> (µg/kg)	AFM <sub>1</sub> <sup>2)</sup> (ng/kg)
Winter 1976/77	45	109
Sommer 1977	45	11
Winter 1977/78	25	44
Winter 1978/79	5	10

1) Ungefährer arithmetischer Mittelwert der von Hüni (23, 24) untersuchten Futtermittelproben

2) Mit der Milchmenge aus der die Probe stammte gewogener arithmetischer Mittelwert

in Futtermitteln. Wird berücksichtigt, daß auch in der Periode 1978/79 noch ca. 7% der untersuchten Futtermittelproben Erdnuß enthielten (22), so kann aus den vorliegenden Daten geschlossen werden, daß durch die konsequente Verwendung erdnußfreier Milchviehmischfutter das Grundnahrungsmittel Milch nahezu aflatoxinfrei gehalten werden kann.

### *Dank*

Wir danken Herrn Dr. B. Marek, Chef der Sektion Pestizidrückstände und Kontaminationen, für seine stetige Förderung der vorliegenden Arbeit und den beteiligten Milchverbänden und Milchsammelstellen für ihre Bereitschaft, bei der vorliegenden Studie mitzuwirken. Herrn Dr. K. Hüni von der Forschungsanstalt für viehwirtschaftliche Produktion, Grangeneuve, und Herrn Prof. Dr. Ch. Schlatter vom Toxikologischen Institut der ETH und Universität Zürich, danken wir für wertvolle Diskussionen.

### *Zusammenfassung*

In der Zeit vom 22. Februar 1977 bis 22. Februar 1979 wurden 91 rohe Mischmilchproben von Milchsammelstellen und Molkereien auf die Aflatoxine  $M_1$  ( $AFM_1$ ) und zum Teil  $M_2$  ( $AFM_2$ ) untersucht. Während den Winterfütterungsperioden ergaben sich folgende, mit der Milchmenge aus der die Proben stammten gewogene mittlere  $AFM_1$ -Gehalte: 109 ng/kg (1976/77), 44 ng/kg (1977/78) und 10 ng/kg (1978/79). Diese Werte korrelieren sehr gut mit den in den entsprechenden Perioden in Milchviehfutter gefundenen mittleren Gehalten an Aflatoxin  $B_1$  ( $AFB_1$ ). Das Verhältnis von  $AFM_1$  zu  $AFM_2$  ergab sich zu  $3,2 \pm 0,4$  (95% Vertrauensbereich, 25 Proben), was recht gut mit dem aus Literaturdaten berechneten Verhältnis  $AFB_1 : AFB_2$  in Erdnußprodukten übereinstimmt.

### *Résumé*

Pendant la période du 22 février 1977 au 22 février 1979, 91 échantillons de lait cru provenant de centres collecteurs et de laiteries ont été examinés quant à leur teneur en aflatoxine  $M_1$  ( $AFM_1$ ) et, en partie également, en aflatoxine  $M_2$  ( $AFM_2$ ). Pour les périodes d'affouragement hivernal, on a obtenu les moyennes pondérées suivantes des teneurs en  $AFM_1$  (compte tenu de la quantité de lait ayant servi à l'échantillonnage): 109 ng/kg (1976/77), 44 ng/kg (1977/78) et 10 ng/kg (1978/79). Ces valeurs présentent une très bonne corrélation avec les teneurs moyennes des fourrages destinés aux vaches laitières en aflatoxine  $B_1$  ( $AFB_1$ ) pour les périodes correspondantes. Le rapport trouvé entre  $AFM_1$  et  $AFM_2$  de  $3,2 \pm 0,4$  (95% intervalle de confiance, 25 échantillons) correspond assez bien au rapport  $AFB_1 : AFB_2$  calculé sur la base de données bibliographiques pour les produits à base de cacahuètes.

### *Summary*

In the period from 22 February 1977 to 22 February 1979 91 raw milk samples from dairy stations have been analyzed for the aflatoxins  $M_1$  ( $AFM_1$ ) and partially also for  $M_2$  ( $AFM_2$ ). During the winter seasons the following mean values, weighted with the quan-

tity of milk from which the samples were drawn, were obtained: 109 ng/kg (1976/77), 44 ng/kg (1977/78) and 10 ng/kg (1978/79). It exists a very good correlation between these figures and the corresponding mean aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) content in dairy cow feeds. A ratio of AFM<sub>1</sub> to AFM<sub>2</sub> of  $3.2 \pm 0.4$  (95% confidence interval, 25 samples) was found which is in a good agreement with the ratio AFB<sub>1</sub>:AFB<sub>2</sub> in groundnut products calculated according literature datas.

### Literatur

1. Wogan, G. N., Paglialunga, S. and Newberne, P. M.: Carcinogenic effects of low dietary levels of aflatoxin B<sub>1</sub> in rats. *Food Cosmet. Toxicol.* **12**, 681—685 (1974).
2. Schlatter, Ch.: Mykotoxine — ein altes Problem erneut von großer Bedeutung. *Chem. Rundschau* **30**, (22), 50 (1977).
3. Schlatter, Ch.: Zur Karzinogenität der Aflatoxine. Vortrag anlässlich «Arbeitstagung Gesundheitsgefährdung durch Aflatoxine Zürich 21./22. März 1978», S. 51—64. Eigenverlag Institut für Toxikologie der ETH und der Universität Zürich, CH 8603 Schwerzenbach, 1978.
4. Sieber, R. und Blanc, B.: Zur Ausscheidung von Aflatoxin M<sub>1</sub> in Milch und dessen Vorkommen in Milch und Milchprodukten — eine Literaturübersicht. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **69**, 477—491 (1978).
5. Van Egmond, H. P., Paulsch, W. E., Veringa, H. A. and Schuller, P. L.: The effect of processing on the aflatoxin M<sub>1</sub> content of milk and milk products. Vortrag anlässlich IIIe International I.U.P.A.C. sponsored symposium on mycotoxins in foodstuffs, Paris 16th to 18th September 1976.
6. Stoloff, L., Trucksess, M., Hardin, N., Francis, O. J., Hayes, J. R., Polan, C. E. and Campbell, T. C.: Stability of aflatoxin M in milk. *J. Dairy Sci.* **58**, 1789—1793 (1975).
7. Kiermeier, F. und Buchner, M.: Zur Verteilung von Aflatoxin M<sub>1</sub> auf Molke und Bruch. *Z. Lebensm. Untersuch. -Forsch.* **164**, 82—86 (1977).
8. Kiermeier, F. und Buchner, M.: Verhalten von Aflatoxin M<sub>1</sub> während der Reifung und Lagerung von Käse. *Z. Lebensm. Untersuch. -Forsch.* **164**, 87—91 (1977).
9. Polzhofer, K. P.: Hitzestabilität von Aflatoxin M<sub>1</sub>. *Z. Lebensm. Untersuch. -Forsch.* **164**, 80—81 (1977).
10. Stubblefield, R. D. and Shannon, G. M.: Aflatoxin M<sub>1</sub>: Analysis in dairy products and distribution in dairy foods made from artificially contaminated milk. *J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists* **57**, 847—851 (1974).
11. Zimmerli, B. und Blaser, O.: *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **70**, in Vorbereitung.
12. Pons, W. H. Jr., Cucullu, A. F. and Lee, L. D.: Method for the determination of aflatoxin M<sub>1</sub> in fluid milk and milk products. *J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists* **56**, 1431—1436 (1973).
13. Tuinstra, L. G. M. Th. and Bronsgeest, J. M.: Determination of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk at the parts per trillion level. *J. Chromatog.* **111**, 448—451 (1976).
14. Zimmerli, B.: Verbesserung der Nachweisgrenze von Aflatoxinen in der Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie durch Verwendung eines kieselgelgefüllten Fluoreszenzdetektors. *J. Chromatog.* **131**, 458—463 (1977).
15. Zimmerli, B.: Beitrag zur Bestimmung von Aflatoxinen mittels Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie. *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **68**, 36—45 (1977).
16. Holzappel, C. W., Steyn, P. S. and Purchase, I. F. H.: Isolation and structure of aflatoxins M<sub>1</sub> and M<sub>2</sub>. *Tetrahedron Letters* **25**, 2799—2803 (1966).

17. *Kiermeier, F.*: Ueber die Aflatoxin-M-Ausscheidung in Abhängigkeit von der aufgenommenen Aflatoxin-B<sub>1</sub>-Menge. *Milchwissenschaft* **28**, 683—685 (1973).
18. *Eppley, R. M.*: A versatile procedure for assay and preparatory separation of aflatoxins from peanut products. *J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists* **49**, 1218—1223 (1966) [11 Werte].
19. *Krogh, P.* and *Hald, B.*: Forekomst af aflatoksine i importerede jordnødprodukter. *Nord. Vet. Med.* **21**, 398—407 (1969) [33 Werte].
20. *Krogh, P.*, *Hald, B.* and *Korpinen, E. L.*: Forekomst af aflatoksine i jordnød- og kokosprodukter indført til Finland. *Nord Vet. Med.* **22**, 584—589 (1970) [15 Werte].
21. *Hüni, K.*: Die Kontamination der Futtermittel im Winter 1977/78. Vortrag anlässlich «Arbeitstagung Gesundheitsgefährdung durch Aflatoxine Zürich 21./22. März 1978», S. 303—306. Eigenverlag Institut für Toxikologie der ETH und der Universität Zürich, CH 8603 Schwerzenbach, 1978.
22. *Hüni, K.*: Persönliche Mitteilung 1979.
23. *Kiermeier, F.*, *Weiß, G.*, *Behringer, G.*, *Miller, M.* und *Ranft, K.*: Vorkommen und Gehalt an Aflatoxin M<sub>1</sub> in Molkerei-Anlieferungsmilch. *Z. Lebensm. Untersuch.-Forsch.* **163**, 171—174 (1977).

Dr. B. Zimmerli  
 Bundesamt für Gesundheitswesen  
 Abteilung Lebensmittelkontrolle  
 Sektion Pestizidrückstände  
 und Kontaminationen  
 Haslerstraße 16  
 CH-3008 Bern