

Project 404.0400

Onderzoek naar het voorkomen, gehalte en stapeling van bestrijdings-
middelen, organische contaminanten en (myco)toxinen in landbouw- en
visserijprodukten

Projectleider: ir L.G.M.Th. Tuinstra

Rapport 89.31

Juni 1989

Onderzoek naar Aflatoxine B1 in
mengvoeders en grondstoffen
Jaaroverzicht 1988

A.H. Roos

Afdeling: Organische Contaminanten

Medewerkers: R.J. van Mazijk, J.A. van Rhijn en J.M.P. van Trijp

Goedgekeurd door: ir L.G.M.Th. Tuinstra

Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT)

Bornsesteeg 45, 6708 PD WAGENINGEN

Postadres: Postbus 230, 6700 AE WAGENINGEN

Telefoon 08370-19110

Telex 75180 RIKIL

Telefax 08370-17717

Copyright 1989, Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten.

Overname van de inhoud is toegestaan, mits met duidelijke bronvermelding.

VERZENDLIJST

INTERN:

directeur

sectorhoofden

coördinator dierlijke produkten

projectleider

afd. Organische Contaminanten (3x)

programmabeheer en informatieverzorging

bibliotheek

drs W.J.H.J. de Jong

drs M.M.L. Aerts

circulatie

EXTERN:

Algemene Inspectie Dienst, Kerkrade

Laboratorium Ministerie van Financiën, Amsterdam

directie Veterinaire Dienst

directie Voedings- en Kwaliteitsaangelegenheden

directie Veehouderij en Zuivel

Dienst Landbouwkundig Onderzoek

LAC - Stuurgroep Zuivelverontreiniging (15x)

LAC - Werkgroep Mycotoxinen (15x)

Werkgroep Residuen in Voedingsmiddelen

Directeur Proefstation voor de Rundvee-, Schapen- en Paardenhouderij,

Lelystad

CAD Voedervoorziening, Lelystad

CAD Rundveeverbetering, Arnhem

CMMB, Wageningen

AGRALIN, PUDOC

Ware(n)-Chemicus

ABSTRACT

Onderzoek naar aflatoxine B1 in mengvoeders en grondstoffen
Jaaroverzicht 1988

Analysis of aflatoxin B1 in animal feeding stuffs and ingredients
Annual report 1988

Report 89.31 June 1989

A.H. Roos and ir L.G.M.Th. Tuinstra

State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT)
P.O. Box 230, 6700 AE WAGENINGEN, The Netherlands

3 tables, 3 annexes, 6 references

Results of routine analysis of aflatoxin B1 in Dutch cattle feed and groundnuts, based on solid phase extraction in combination with an HPLC system provided with a post column reaction (bromine) and fluorescence detection, are reported.

In cattle feed (n= 238) a median of 0,004 mg/kg aflatoxin B1 was found. The results are ranging from lower than 0,002 mg/kg to 0,080 mg/kg. Exceeding of the tolerance (0,010 mg/kg), using the official EC-method, was observed in 6 samples of cattle feed, 3 samples chicken feed and 2 samples swine feed.

The median of the groundnuts (n= 200) was 0,12 mg/kg aflatoxin B1 and the range was from lower than 0,01 mg/kg to 1,4 mg/kg. Exceedings of the tolerance (1,0 mg/kg) were observed in 4 samples from Soudan (max. 1,4 mg/kg).

The contamination in groundnuts depends strongly on the country of origin. Samples from Senegal (n= 47) are low contaminated (median 0,022 mg/kg range <0,01-0,081 mg/kg aflatoxin B1) and samples from Soudan (n= 87) are high contaminated (median 0,28 mg/kg, range 0,03-1,4 mg/kg aflatoxin B1).

Keywords: Aflatoxin B1, cattle feed, groundnuts

()

()

INHOUD	blz.
ABSTRACT	1
SAMENVATTING	5
1 INLEIDING	7
2 MATERIAAL EN METHODE	8
2.1 Monstername en monstermateriaal	8
2.2 Methoden van onderzoek	9
2.2.1 HPLC screeningsmethode	9
2.2.2 EEG bevestigingsmethode	9
3 RESULTATEN EN DISCUSSIE	9
3.1 Rundveevoeders	9
3.2 Grondnoten	11
3.3 Overige veevoeders en grondstoffen	12
4 CONCLUSIE	13
LITERATUUR	14
BIJLAGEN	
A FREQUENTIEVERDELING AFLATOXINE B1 IN RUNDVEEVOEDERS	
B FREQUENTIEVERDELING AFLATOXINE B1 IN GRONDNOTEN (TOTAAL)	
C FREQUENTIEVERDELING AFLATOXINE B1 IN GRONDNOTEN (HERKOMST)	

SAMENVATTING

Het rapport geeft een overzicht van de resultaten van het onderzoek naar aflatoxine B1 in rundveevoeders (n=238), grondnoten (n=200), varkensvoeder (n=8), legpluimveevoeder (n=3), mestpluimveevoeder (n=4), hondenvoer (n=1) en een monster maisgluten in 1988.

Overschrijdingen van het maximum toelaatbare gehalte voor aflatoxine B1 in rundveevoeders (0,010 mg/kg bij een vochtgehalte van 12%) werden met de officiële EEG-methode aangetoond in 6 rundveevoeders, 2 mestpluimveevoeders, 1 legpluimveevoeder en 2 varkensvoeders.

De mediaan bedroeg 0,004 en de range < 0,002 - 0,080 mg/kg aflatoxine B1. Beide zijn vergelijkbaar met die van de voorgaande verslagperiode (1987).

In grondnotenschroot bedroeg de mediaanbesmetting 0,12 mg/kg aflatoxine B1 op produkt (range <0,01-1,4 mg/kg). Een overschrijding van de norm voor grondnoten (1,0 mg/kg op produkt) werd aangetoond in 4 monsters afkomstig uit Soedan (max. 1,4 mg/kg). De besmetting in grondnotenschroot wordt sterk bepaald door het land van herkomst. Een relatief lage besmetting wordt gemeten in partijen (n= 47) afkomstig uit Senegal (mediaan 0,022 mg/kg, range <0,01-0,081 mg/kg aflatoxine B1). Een relatief hoge besmetting wordt gemeten in partijen (n=87) afkomstig uit Soedan (mediaan 0,28 mg/kg, range 0,03-1,4 mg/kg aflatoxin B1).

()

()

1 INLEIDING

De aanwezigheid van mycotoxinen, met name aflatoxine B1 in veevoeders en veevoedergrondstoffen kan ernstige gevolgen hebben voor de zuivelindustrie. Binnen Europa zijn of worden ontwerpnormen voor melk (produkten) en zuigelingenvoeding voor aflatoxine M1 voorgesteld. De norm voor aflatoxine M1 vastgelegd in het Algemeen Besluit (Warenwet) is medio 1988 van kracht geworden (Staatscourant nr. 340, 1988). Voor melk en uit of met melk bereide produkten is de norm 0,05 µg aflatoxine M1 per kg berekend op melkbasis. Voor boter geldt als maximum 0,02 µg/kg en voor kaas 0,3 µg/kg.

Met name in de winterperiode worden in Nederland door het Zuivelcontrole instituut te Leusden wel eens overschrijdingen gemeten voor aflatoxine M1.

Bij export van zuigelingenvoeding naar Zwitserland kan de daar voorgestelde norm van 0,01 µg/kg overschreden worden. Ook in Duitsland is een discussie gaande om de norm op 0,01 µg/kg vast te stellen voor melk respectievelijk zuigelingenvoeding.

Ter bewaking van de kwaliteit van de Nederlandse zuivelprodukten wordt in het kader van de Verordening Vvr Ongewenste Stoffen en Produkten 1988 en het Besluit Vvr Ongewenste Stoffen en Produkten 1988 een controle op aflatoxine B1 uitgevoerd in mengvoeders en grondstoffen.

In dit verslag worden ter ondersteuning van het beleid de resultaten van het aflatoxine B1 onderzoek voor de LAC Stuurgroep Zuivelverontreiniging en voor de LAC-werkgroep Mycotoxinen samengevat. De resultaten van het in 1988 aan de mengvoeders en grondstoffen uitgevoerde onderzoek zijn getoetst aan de volgende normen.

Produkt	Aflatoxine B1
(mg/kg, bij een vochtgehalte van 12%)	
Enkelvoudige diervoeders	0,050
Volledige diervoeders voor runderen, schapen en geiten (met uitzondering van melkvee, kalveren en lammeren)	0,050
Volledige diervoeders voor varkens en pluimvee (met uitzondering van jonge dieren)	0,020
Andere volledige diervoeders (o.a. mestpluimveevoeders)	0,010

Produkt	Aflatoxine B1
	(mg/kg, bij een vochtgehalte van 12%)
Aanvullende diervoeders voor runderen, schapen en geiten (met uitzondering van de aanvullende diervoeders voor melkvee, kalveren en lammeren)	0,050
Aanvullende diervoeders voor varkens en pluimvee (met uitzondering van jonge dieren)	0,030
Andere aanvullende diervoeders (o.a. melkvee)	0,010

Voor grondnoten, kopra, palmmnoten en palmpitten, katoenzaad, babassu, mais en daarvan afgeleide produkten geldt met ingang van 3 december 1988 een norm van 0,2 mg/kg aflatoxine B1, bij een vochtgehalte van 12%. Tot die tijd was er alleen een norm voor grondnoten, welke 1,0 mg/kg aflatoxine bedroeg op produktbasis.

2 MATERIAAL EN METHODE

2.1 Monsternamen en monstermateriaal

De monsternamen werden verzorgd door de Algemene Inspectiedienst en de Dienst Invoerrechten en Accijnzen in het kader van de controle op de Verordening Vvr Ongewenste Stoffen en Produkten 1988 en het Besluit Vvr Ongewenste Stoffen en Produkten 1988.

Door de Algemene Inspectiedienst werden voor onderzoek op aflatoxine B1 238 monsters rundveevoeder, 8 monsters varkensvoeder, 3 monsters legpluimveevoeder, 4 monsters mestpluimveevoeder, 1 monster hondevoer en 1 monster maisgluten en 13 monsters grondnoten aangeboden voor onderzoek op aflatoxine B1.

Door de Dienst Invoerrechten en Accijnzen werden voor onderzoek op aflatoxine B1 187 monsters grondnoten aangeboden.

2.2 Methoden van onderzoek

2.2.1 HPLC screeningsmethode

Een aliquot van het gehomogeniseerde gemalen produkt werd geëxtraheerd met chloroform. Na filtratie en zuivering over een Florisil cartridge en een C18 cartridge (van Egmond) werd een HPLC-scheiding op een C18 reversed-phase kolom uitgevoerd, gevolgd door post-column derivatisering met on-line gegenereerd broom voorafgaande aan de detektie met de fluorescentiedetektor (Kok). In elke serie monsters werden recovery-experimenten uitgevoerd en werden ter controle check-samples meegeanalyseerd. Bij overschrijding van de tolerantie werd de officiële analysemethode conform EEG richtlijn 76/372 gevolgd.

2.2.2 EEG bevestigingsmethode

Een aliquot van het gehomogeniseerde gemalen produkt werd geëxtraheerd met chloroform. Na filtratie en zuivering over een silicagelkolom werd het eluaat ingedampt en opgenomen in chloroform. Na tweedimensionale dunnelaagchromatografie werd de aflatoxine B1 door vergelijking met een standaardreeks densitometrisch bepaald.

Bij elke serie monsters werd een recovery experiment aan een monster en een blanco bepaling uitgevoerd.

3 RESULTATEN EN DISCUSSIE

3.1 Rundveevoeders

In tabel 1 zijn de aflatoxine B1 resultaten verkregen met de HPLC screeningsmethode in rundveevoeders in 1988 per maand en over de totale verslagperiode samengevat.

Tabel 1: Het aflatoxine B₁ gehalte van rundveevoeders in 1988 (mg/kg, bij een vochtgehalte van 12%) (HPLC-screeningsmethode)

Maand	Mediaan (mg/kg)	Max. gehalte (mg/kg)	Aantal monsters > 0,010 mg/kg	Aantal monsters (n)
Januari	0,003	0,080	6	41
Februari	0,004	0,024	1	30
Maart	0,002	0,003	0	14
April	0,003	0,011	1	20
Mei	0,002	0,009	0	13
Juni	0,004	0,015	5	14
Juli	0,007	0,020	3	9
Augustus	0,006	0,017	3	12
September	0,003	0,009	0	20
Oktober	0,005	0,015	2	22
November	0,004	0,015	1	24
December	0,005	0,013	6	19
Totaal	0,004	0,080	28	238

De mediaan van de aflatoxine B₁ besmetting van de rundveevoeders bedroeg in 1988 0,004 mg/kg bij een vochtgehalte van 12% en is vergelijkbaar met de mediaan in 1987 (Roos). In de voorgaande verslagperiode is er ook nu weer sprake van een toename van de besmetting in de stalperiode. Een en ander was het gevolg van de problemen in de USA met de maasoogst die in 1988 vanwege ongunstige weersomstandigheden sterk met aflatoxine B₁ was besmet. En daar mais een hoofdbestanddeel is in het voer nam de besmetting met aflatoxine B₁ toe. De frequentieverdeling van de aflatoxine B₁ besmetting in rundveevoeders is grafisch weergegeven in bijlage A. In 28 monsters werd m.b.v. de HPLC-screeningsmethode in een enkelvoudige analyse een aflatoxine B₁ gehalte groter dan 0,010 mg/kg bij een vochtgehalte van 12% aangetoond. Op basis van de onzekerheid in de analysemethode is er eerst sprake van een overschrijding van de norm als er met de EEG-bevestigingsmethode door 2 analisten een gehalte groter dan 0,015 mg/kg wordt aangetoond. In 1988 werd aldus na heranalyse met de EEG-methode in 6 van de

28 monsters, met een screeningsresultaat groter dan 0,010 mg/kg aflatoxine B₁ bij een vochtgehalte van 12%, een overschrijding vastgesteld. Met behulp van de HPLC-screeningsmethode zouden bij dezelfde grens (0,015 mg/kg) als bij de EEG-methode 9 overschrijdingen zijn aangetoond.

De recovery van aflatoxine B₁ toegevoegd aan rundveevoeders op het 0,040 mg/kg niveau bedroeg met de HPLC screeningsmethode gemiddeld 89%, range 81-104%. De variatiecoëfficiënt voor de herhaalbaarheid van deze recoverytest bedroeg 7,7% (n=16). De herhaalbaarheid van de screeningsmethode met een check-sample rundveevoeder dat van nature was besmet met aflatoxine op het 0,015 mg/kg niveau bedroeg 14% (n=10).

In recovery-experimenten uitgevoerd met de EEG-bevestigingsmethode aan rundveevoeders op het 0,040 mg/kg niveau bedroeg de recovery gemiddeld 91%, range 84-105%. De variatiecoëfficiënt voor de herhaalbaarheid van deze recoverytest bedroeg 7,7% (n=9).

3.2 Grondnoten

In tabel 2 wordt een overzicht gegeven van de mediaan, range en het aantal monsters grondnoten naar herkomst. De frequentieverdeling van de aflatoxine B₁ besmetting van grondnotenmonsters is grafisch weergegeven; in bijlage B van het totaal en in bijlage C naar herkomst.

Tabel 2: Overzicht van het aflatoxine B₁ gehalte naar herkomst in grondnotenschroot in 1988 (mg/kg op produkt)

Herkomst	Mediaan (mg/kg)	Range (mg/kg)	Aantal monsters
Soedan	0,28	0,03-1,4	87
Senegal	0,022	<0,01-0,081	47
Argentinië	0,091	<0,01-0,19	43
USA	0,20	0,047-0,61	7
Gambia	0,39	0,32-0,46	2
India	<0,01	<0,01	1
China	<0,01	<0,01	1
Onbekend	0,33	0,011-0,91	12
Totaal	0,12	< 0,01-1,4	200

De aflatoxine B₁ besmetting van de grondnoten in 1988 is vergelijkbaar met die van 1987. De mediaan van de aflatoxine B₁ besmetting bedroeg in 1988 0,12 mg/kg en in 1987 0,15 mg/kg.

Overschrijdingen van het maximum toegestane gehalte van 1,0 mg/kg aflatoxine B₁ werden aangetoond in 4 monsters grondnoten afkomstig uit Soedan.

De aflatoxine B₁ besmetting van partijen grondnoten afkomstig uit Senegal (n=47) is laag. De mediaan bedraagt 0,022 mg/kg. Het maximum gemeten aflatoxine B₁ gehalte in grondnoten uit Senegal bedroeg 0,081 mg/kg. De in december van kracht geworden norm van 0,2 mg/kg aflatoxine B₁, werd in 1988 niet overschreden in grondnoten afkomstig uit Senegal (n=47), Argentinië (n=43), India (n=1) en China (n=1). De aflatoxine B₁ besmetting van partijen grondnoten afkomstig uit Soedan (n=87) is hoog. De mediaan bedroeg 0,28 mg/kg. Het maximum aflatoxine B₁ gehalte in grondnoten uit Soedan bedroeg 1,4 mg/kg.

3.3 Overige veevoeders en veevoedergrondstoffen

In tabel 3 wordt een overzicht gegeven van de mediaan, range en het aantal monsters van de overige geanalyseerde veevoeders en grondstoffen.

Tabel 3: Overzicht van het aflatoxine B₁ gehalte van varkensvoeder, pluimveevoeder, maisgluten en een hondenvoer (m.u.v. grondnoten) in 1988.

Produkt	Mediaan (mg/kg)	Range (mg/kg)	Aantal monsters
varkensvoeder	0,016	0,006-0,047	8
mestpluimveevoeder	0,014	0,007-0,067	4
legpluimveevoeder	0,006	0,004-0,057	3
maisgluten		0,007	1
hondenvoer		<0,001	1

In 2 monsters varkensvoeder, 2 monsters mestpluimveevoeder en 1 monster legpluimveevoeder werd na bevestiging m.b.v. de EEG-methode het maximum toelaatbare gehalte aan aflatoxine B₁ overschreden.

4 CONCLUSIES

De mediaanbesmetting van het aflatoxine B1 gehalte in rundveevoeders (0,004 mg/kg, bij een vochtgehalte van 12%) is in 1988 vergelijkbaar met de mediaan in de voorgaande verslagperiode (1987).

Met behulp van de HPLC screeningsmethode werd in 28 van de geanalyseerde monsters rundveevoeder (n= 238) een gehalte groter dan het maximum toelaatbare gehalte, zijnde 0,010 mg/kg aflatoxine B1 bij een vochtgehalte van 12%, aangetoond. Na bevestiging m.b.v. de EEG-methode werd in 6 monsters een overschrijding vastgesteld.

In 2 monsters varkensvoeder, 2 monsters mestpluimveevoeder en 1 monster legpluimveevoeder werd na bevestiging m.b.v. de EEG-methode het maximum toelaatbare gehalte aan aflatoxine B1 overschreden.

In grondnoten wordt een mediaanbesmetting van 0,12 mg/kg aflatoxine B1 op produkt gemeten. In 1987 bedraagt de mediaan 0,15 mg/kg op produkt. De mediaanbesmetting in de partijen grondnoten wordt sterk bepaald door het land van herkomst. Een relatief lage besmetting wordt gemeten in partijen (n=47) afkomstig uit Senegal (mediaan 0,022 mg/kg, range <0,01-0,081 mg/kg aflatoxine B1). Een relatief hoge besmetting wordt gemeten in partijen (n=47) afkomstig uit Soedan (mediaan 0,28 mg/kg, range 0,03-1,4 mg/kg aflatoxine B1). Overschrijdingen van het maximum toelaatbare gehalte (1,0 mg/kg aflatoxine B1) werden aangetoond in 4 monsters afkomstig uit Soedan (max. 1,4 mg/kg).

LITERATUUR

Besluit Vvr Ongewenste Stoffen en Produkten 1988. Produktschap voor Veevoeder, 's-Gravenhage, 1988.

EEG-richtlijn 76/372, Bepaling van aflatoxine B1, Publikatieblad van de Europese Gemeenschappen Nr. L 102/8-18 (15.4.76).

Egmond H.P. van, E.A. Sizoo en W.E. Paulsch. Evaluation of new methods of analysis for the determination of aflatoxin B1 in feedingstuffs, Bilthoven 1985, RIVM-report no. 842066001.

Kok W.Th., Th.C.H. van Neer, W.A. Traag en L.G.M.Th. Tuinstra. Determination of aflatoxins in cattle feed by liquid chromatography and post-column derivatization with electrochemically generated bromine, Journal of Chromatography, 367 (1986) 231-236.

Tuinstra L.G.M.Th., A.H. Roos. Het gehalte aan aflatoxine B1 in mengvoeders en grondstoffen in 1986, Wageningen 1988, RIKILT rapport 88.27.

Verordening Vvr Ongewenste Stoffen en Produkten 1988, Produktschap voor Veevoeder, 's-Gravenhage, 1988.

FREQUENTIEVERDELING AFLATOXINE B₁ in rundveevoeders (ug/kg)



n

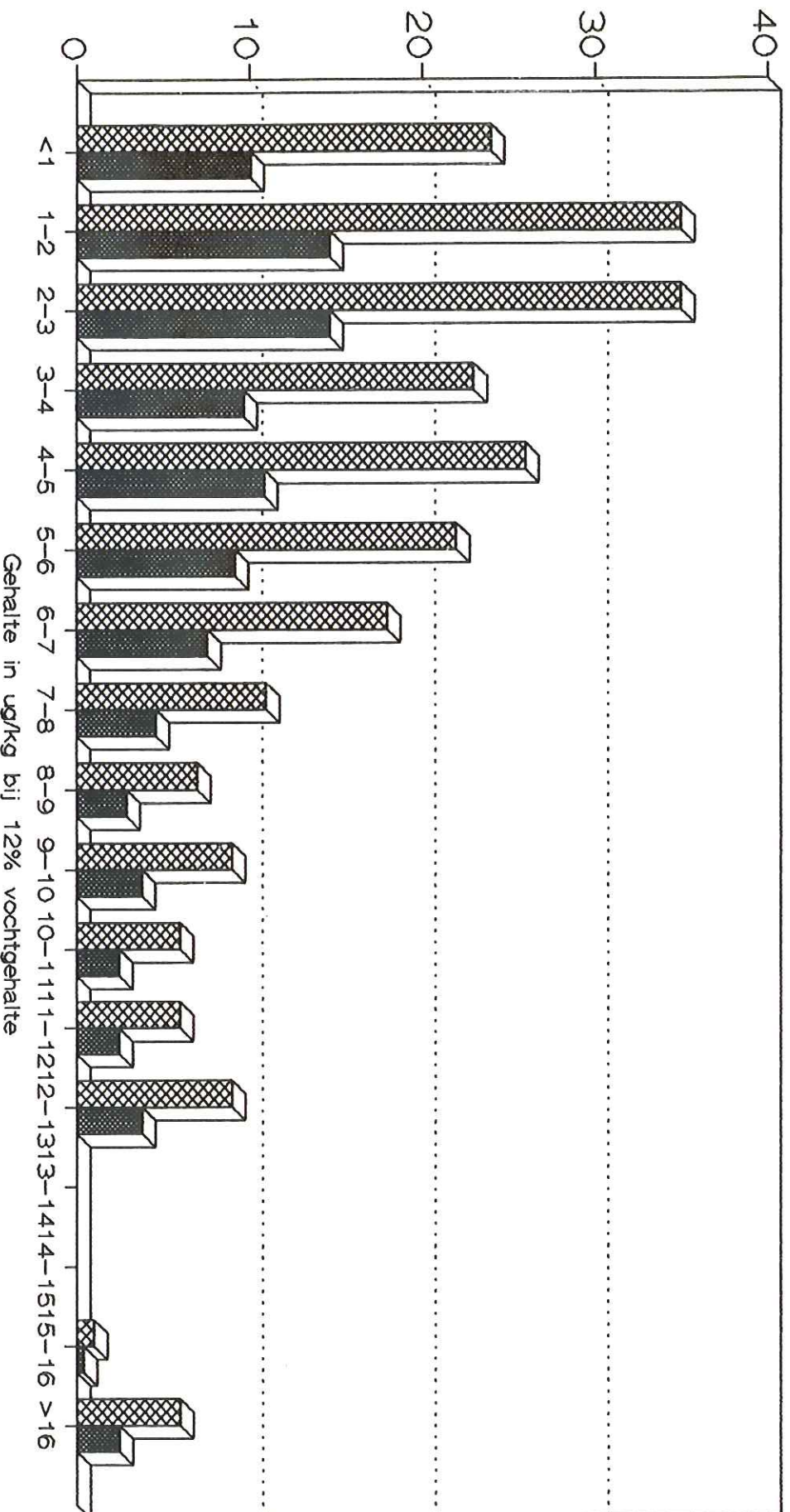
totaal = 238



%

totaal 99.9%

Frequentie / percentage



FREQUENTIEVERDELING AFLATOXINE B1 in grondnoten (10^{-2} mg/kg op produkt)

Bijlage B



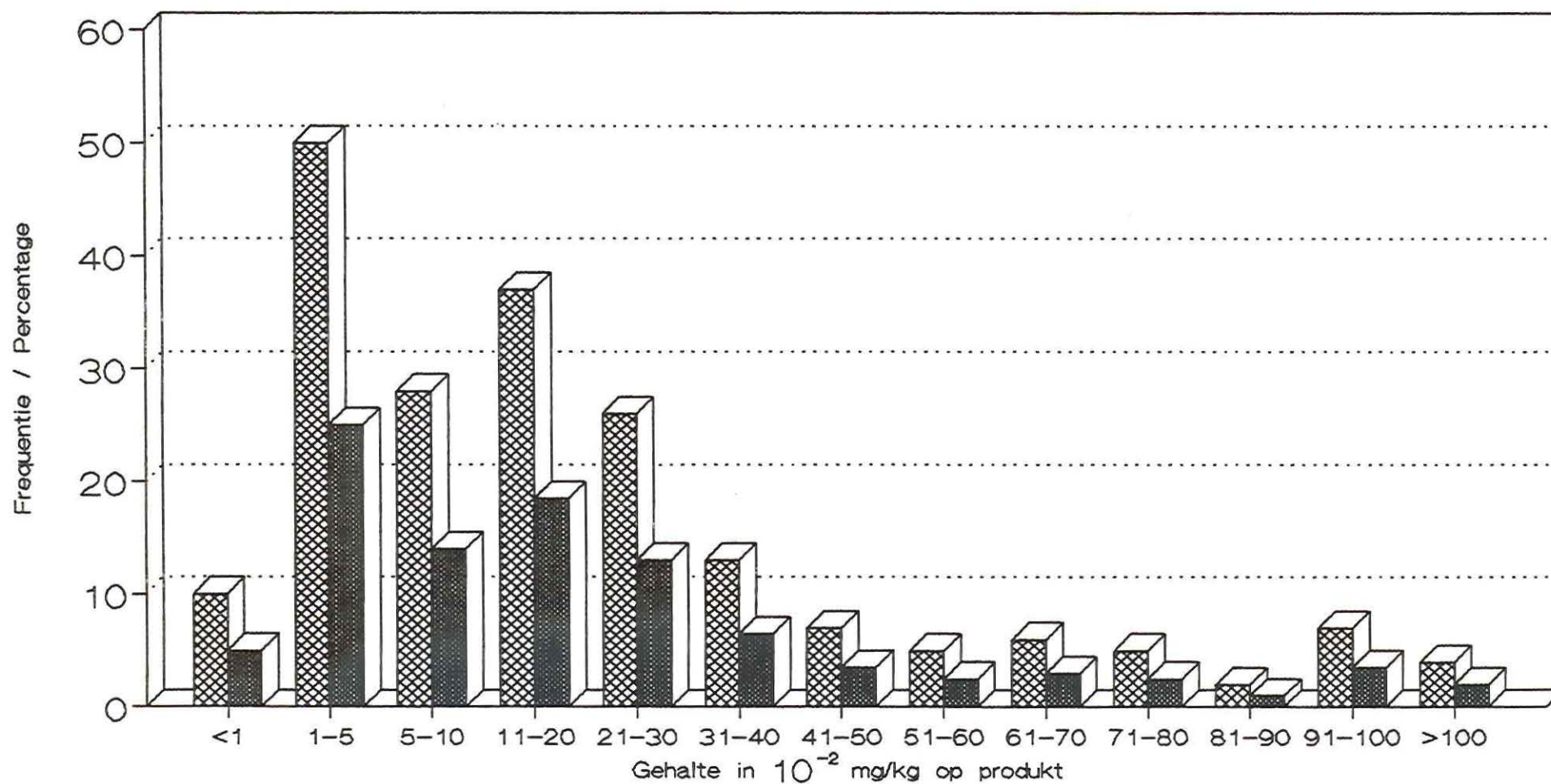
n

totaal = 200



%

totaal 100%



Frequentieverdeling Aflatoxine B1

Bijlage C

in grondnoten 1988 (mg/kg op produkt)



< 0,05

n= 60 (30%)



0,05-0,2

n= 64 (32%)



> 0,2

n= 76 (38%)

