

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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 70 (1979)

Heft: 4

Artikel: Massenspektrometrie mit Hilfe des Direkteinlasses : Aflatoxine im Nanogrammbereich

Autor: Friedli, F. / Zimmerli, B.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-983731>

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: 02.02.2025

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

Massenspektrometrie mit Hilfe des Direkteinlasses: Aflatoxine im Nanogrammbereich

F. Friedli und B. Zimmerli

Bundesamt für Gesundheitswesen, Bern

Einleitung

Aflatoxine sind Substanzen, die infolge ihrer außerordentlichen Karzinogenität auch dann noch mit Sicherheit in Lebensmitteln erkannt werden müssen, wenn sie nur in geringsten Mengen vorhanden sind (1, 2). Chromatographische Routinemethoden stehen zur Verfügung (3), doch stellt sich gelegentlich die Frage, ob die nachgewiesene Substanz überhaupt ein Aflatoxin sei (4, 5, 6, 7). In der Regel wird diese Frage durch die Darstellung geeigneter Derivate geklärt (3).

Durch Elektronenstoß (70 eV) ionisierte Aflatoxine erzeugen sehr charakteristische Massenspektren mit intensiven Peaks im oberen Massenbereich und leicht erkennbarem Molekülionensignal (Abb. 1). Der direkte, massenspektrometrische Nachweis ist daher bei der erreichbaren hohen Empfindlichkeit die aussagekräftigste der üblichen Beweismethoden für die unerwünschte Präsenz dieser Toxine in Lebensmitteln. Da sich die unveränderten Aflatoxine nicht gaschromatographieren lassen (8, 9), fällt diese elegante Methode der simultanen Reinigung und Probenzuführung ins Massenspektrometer dahin. Direkte Kopplungen zu Flüssigkeitschromatographen existieren zwar und werden mit Erfolg eingesetzt (10), sind jedoch nicht weit verbreitet. Die «Off-line»-Probenzuführung mittels Tiegel und Schubstange (Direkteinlaß) kann bei kleinsten Substanzmengen Probleme stellen, die, wie im folgenden gezeigt wird, auf einfache Art lösbar sind.

Resultate und Diskussion

Einfluß der Probetiegel

Es muß damit gerechnet werden, daß Aflatoxine eine Affinität zu Glas aufweisen. Einmal eingetrocknet, lassen sie sich z. B. nicht mehr leicht mit Lösungsmittel abspülen (9, 11). Zusätzlich zu bedenken ist, daß die innere Oberfläche eines Probetiegels in der Regel mehr als 10 mm² beträgt, ein Aflatoxinmolekül aber nur etwa 1 nm² zu bedecken vermag. Bei Mengen im Bereich von etwa 5 ng,

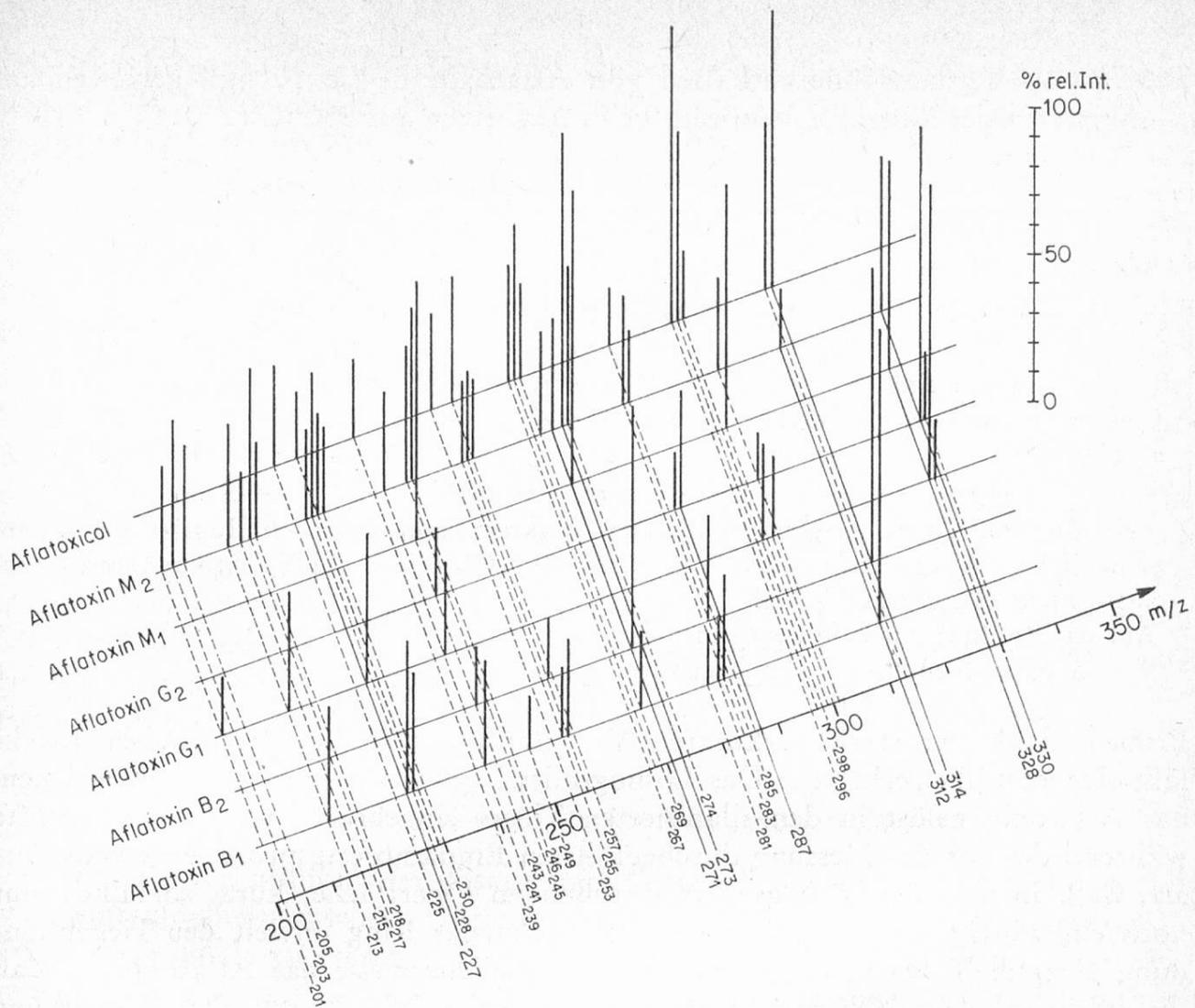


Abb. 1. Relative Intensitäten der wichtigsten Massenpeaks über 200 in Massenspektren von Aflatoxinen

(Aflatoxine B und G: CH-7A, je 50 ng, EI 70 eV/1 mA, Direkteinlaß 130 °C. Uebrige Proben: Finnigan 3100 D, 50 ng (M₁), ≥ 100 ng (Aflatoxicol, M₂), EI 70 eV/1,5 mA, Direkteinlaß). Vgl. auch «Mycotoxins Mass Spectral Data Bank» (19).

die für eine monomolekulare Belegung mindestens nötig sind, muß deshalb, im Hinblick auf die Verdampfung im Massenspektrometer, mit Oberflächeneffekten gerechnet werden. Es wurden deshalb verschiedene Tiegeloberflächen (Gold- und modifizierte Quarzglas-tiegel) getestet. Je 10 ng Aflatoxin B₁ wurden im Massenspektrometer rasch aufgeheizt auf 250 °C (220 °C in 5 s). Beurteilt wurden die Verdampfungszeit, die Halbwertsbreite und die Intensität des Auftretens des Molekülionenpeaks. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Eine kurze Verdampfungszeit ist anzustreben, damit das Ausmaß allfälliger thermischer Zersetzungen klein gehalten werden kann. Eine genügend lange Halbwertszeit ist für kleine Probemengen unerlässlich: Eine zu kurze Beobachtungsdauer verunmöglicht die notwendige Rauschunterdrückung mit möglichst großen Filterkonstanten. Obwohl völlig unbehandelte Quarztiegel zum Teil größere Signalintensitäten erwarten ließen, erscheinen silanisierte Tiegel geeigneter. Die mit ihnen erzielten Resultate sind reproduzierbarer und die thermische Belastung der

Tabelle 1. Verdampfungsverhalten von Aflatoxin B₁ (je 10 ng), gemessen am Auftreten des Molekülionenpeaks beim Aufheizen auf 250 °C (220 °C in 5 s)

	Verdampfungszeit ¹	Halbwertsbreite	Intensität ²
Goldtiegel	7 s	1,5 s	1,0
Quarzglas-tiegel	unbehandelt ³	29 s / 41 s / 40 s	2,0 / 1,1 / 0,8
	nur vorbereitet ³	42 s	0,8
	mit Wasser belegt ³	40 s	0,3
	mit Polyäthylenglykol belegt ³	40 s	0,3
	silanisiert ³	24 s	1,0

¹ Zeit, die vom Aufheizbeginn an bis zum Peakmaximum verstrich. Infolge der unterschiedlichen Wärmeleitfähigkeit von Gold und Glas war der effektive Temperaturanstieg pro Zeit unterschiedlich.

² Auf das Resultat mit Goldtiegel normiert.

³ Wie im experimentellen Teil angegeben.

Proben, dank der stark verkürzten Verdampfungszeit, geringer. Dieser Effekt läßt sich plausibel erklären: Das Lösungsmittel (gleich welcher Art), in welchem das Aflatoxin gelöst in den silanisierten Tiegel eingebracht wurde, verdampfte während des vor der Messung durchgeführten Eindampfungsprozesses jeweils derart, daß, infolge der lösungsmittelabstoßenden Oberfläche, kurz vor Ende nur noch ein winziger Tropfen bzw. ein sehr schmaler Ring unweit der Tiegel-mündung übrigblieb. Darin konzentrierte sich möglicherweise das Aflatoxin, so daß die effektiv belegte Oberfläche stark verringert wurde. Durch eine Verkürzung der inneren Tiegellänge wurde erreicht, daß diese Konzentrierungsstelle sicherer an die Tiegel-mündung (der Ionenquelle während der Messung am nächsten gelegen) zu liegen kam, zusätzlich zur Verringerung der totalen, möglicherweise belegten Oberfläche.

Aus den genannten Gründen wurden ausschließlich derartige, silanisierte Quarzglas-tiegel weiterverwendet. Sie konnten problemlos mehrmals benützt werden nach jeweiligem Ausheizen bei 300 °C im Vakuum.

Das Eindampfen der Probe vor der Messung

Die Aflatoxinproben werden zweckmäßigerweise in Lösung in den Probetiegel gebracht. Vor der Einführung des Tiegels ins Vakuum des Massenspektrometers muß die Probe vollständig vom Lösungsmittel befreit werden, um nicht durch eine unkontrollierte Verdampfung Verluste einzugehen. Die minimale, sichere Eindampfdauer wurde sorgfältig experimentell ermittelt (vgl. die experimentellen Angaben). Aflatoxine sind in der Literatur beschrieben als luft- und lichtempfindliche Substanzen (13). Es stellte sich somit die Frage, ob beim Eindampfen im Probetiegel an der Luft und im Kunstlicht von Neonröhren nicht etwa ein Teil der Probe bereits vor der Messung zerstört werde. Geprüft wurde der Sachverhalt an Lösungen von Aflatoxin M₁, die im Reagenzglas mit ausgezogener Spitze

im Druckluftstrom und bei demselben Neonlicht zur Trockne eingedampft wurden. Dabei wurde absichtlich von wesentlich größeren Lösungsmittelmengen ausgegangen (100 μ l bis 5 ml) als den Verhältnissen im Probetiegel entsprach (nur je 1 μ l, evtl. mehrmals nacheinander) bei vergleichbarer, z. T. wesentlich geringerer Aflatoxinkonzentration (2—100 pg/ μ l). Der Eindampfungsprozeß dauerte auch gleich lang oder länger (5—30 min) als im Probetiegel (2—15 min, je nach Lösungsmittel). Untersucht wurde mittels HPLC der mit Chloroform gelöste Rückstand.

Bei Chloroform als Lösungsmittel wurden, selbst bei Sättigung mit Wasser, bei 60 °C und einer Eindampf- bzw. Expositionszeit von 30 min noch keine nennenswerten Verluste gefunden (<5%).

Methanol/Wasser 1:2 als Lösungsmittel erscheint weniger geeignet: Zu hohe wie zu niedrige Eindampftemperaturen erhöhen die Verluste; zu niedrige durch Verlängerung der Expositionszeit. Optimal sind 70 °C, wo über 85% des Aflatoxins wiedergefunden wurden. Obschon sich das Aflatoxin mit NaCl leicht in Chloroform überführen ließ, wurden Proben in Methanol/Wasser direkt im Tiegel bei 70 °C eingedampft, um eine erneute Verunreinigung durch zusätzliche Reagenzien und Manipulationen zu vermeiden (vgl. unten).

Das Aufheizen der Probe im Massenspektrometer

Nach dem Einführen der lösungsmittelfreien Probe ins Massenspektrometer wäre eine möglichst rasche, vollständige Verdampfung wünschenswert, um intensive Massensignale zu erhalten. Dem stand eine apparative Eigenschaft des Finnigan-Massenspektrometers entgegen: Der eingebaute Ionendetektor, ein «Continuous-Dynode-Multiplier», kann bei erhöhtem Totaldruck mit erhöhtem Rauschen, erkennbar an einem Ansteigen der Nulllinie, reagieren (15). Störend wirkt dies speziell bei sehr geringen Substanzmengen unter Verwendung des Direktinlasses, wo bei der Erhöhung der Probetemperatur unvermeidbar eine Desorption, vor allem von Wasser, von der Tiegel- und Schubstangenoberfläche aus stattfindet. Arbeitet man mit Einzelmessung (PROMIM), was bei weniger als 1 ng Substanz unerlässlich ist, kann nur mit Hilfe des Intensitätsverhältnisses der beobachteten Massensignale bzw. mit der Beobachtung einer zusätzlichen Massenspur (z. B. $m/z = 305$), auf der kein Signal erwartet wird, erkannt werden, daß kein Substanzpeak vorliegt (vgl. Abb. 2).

Von den Aflatoxinen B₁, B₂, G₁ und G₂ stellten wir mit Mengen von je 50 ng (Standardlösung) eine optimale Verdampfungstemperatur von 130 °C fest (Goldtiegel). Bei maximaler Aufheizrate dauert bei dieser Temperatur die Oberflächen-desorption noch an; eine geringe Aflatoxinmenge könnte nicht erkannt werden. Deshalb wurden die Proben jeweils auf 100 °C, wo noch keine nennenswerte Aflatoxinverdampfung erwartet wird, vorgeheizt bis zur weitgehenden Beruhigung der Nulllinie. Erst dann wurde mit der größtmöglichen Heizrate weitergeheizt. Die Tauglichkeit dieser Methode wird durch die Abbildung 2 demonstriert.

Vorsicht ist geboten bei Proben, die Verunreinigungen enthalten: Ueberwiegt mengenmäßig die Verunreinigung, so ist es möglich, daß die Probesubstanz bei

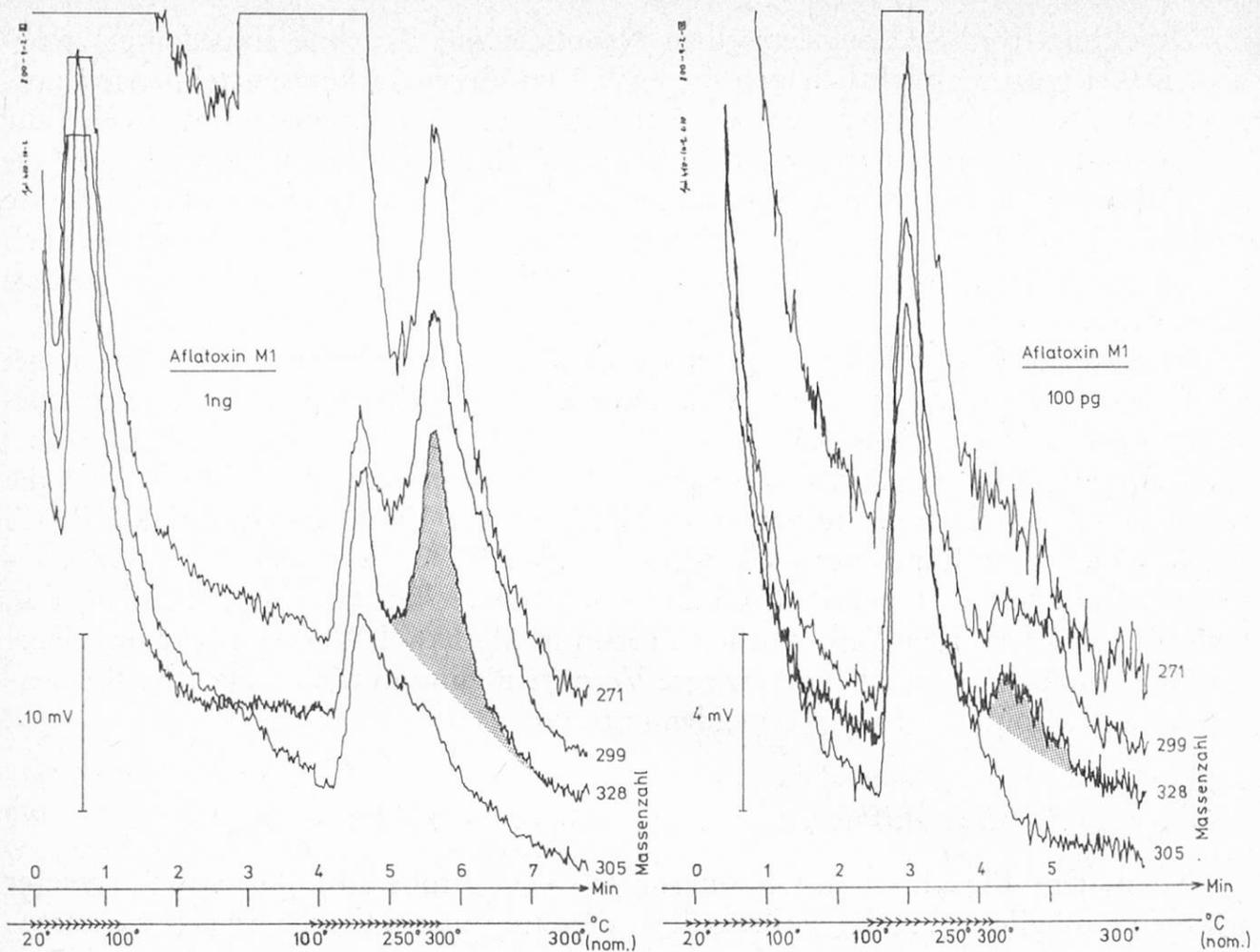


Abb. 2. Massenfragmentographie von Aflatoxin M₁: Durch optimiertes Aufheizen gelingt die Abtrennung der Massenpeaks von der druckabhängigen Nullinienschwankung durch Desorption von Wasser auf den beheizten Oberflächen. Eine Erniedrigung der Nachweisgrenze wird dadurch erreicht (3100 D, PROMIM, EI 70 eV/1,5 mA, 10⁻⁹ A/V)

wesentlich tieferer Temperatur als erwartet in die Ionenquelle gelangt. Gerne werden dann die Massensignale der Substanz übersehen. Zur Deutung dieses Verhaltens kommen in Frage: Oberflächeneffekte und/oder das Mitreißen der Probe bei raschem Verdampfen leichtflüchtiger Verunreinigungen. Die optimale Verdampfungstemperatur ist deshalb nicht zur zusätzlichen Charakterisierung der Substanz geeignet, wie auch schon vorgeschlagen wurde (12).

Meßergebnisse mit Standardlösungen

Die graphische Auswertung der Meßresultate (Abb. 3) zeigt die Intensität des Molekülionenpeaks der Aflatoxine B₁ und B₂ in Abhängigkeit von der Probenmenge. Analoge Verhältnisse wurden gefunden für die Aflatoxine G₁, G₂, M₁ und M₂. Die aktuelle Nachweisgrenze für Aflatoxine im Massenspektrometer betrug somit ca. 100 pg. Dies zeigt, daß mit der entsprechenden Vorsicht auch ohne großen apparativen Aufwand (9, 16) eine gute Nachweisgrenze erreicht werden kann.

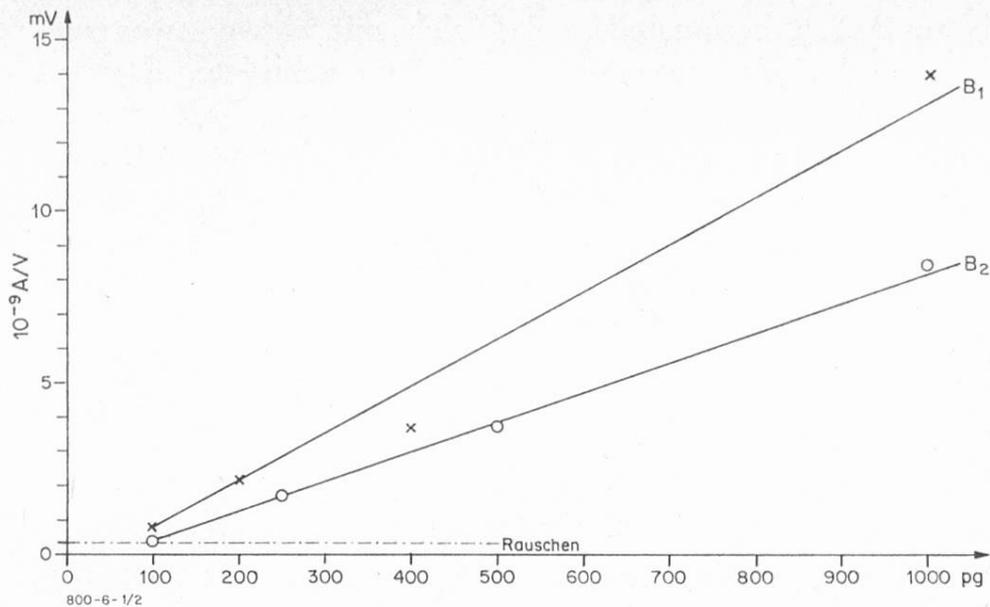


Abb. 3. Massenfragmentographie: Abhängigkeit der Intensität des Molekülionenpeaks der Aflatoxine B von der Probemenge (3100 D, PROMIM, EI 70 eV/1,5 mA, 10^{-9} A/V)

Die erhaltenen Eichgeraden lassen erwarten, daß auch quantitative Aflatoxinbestimmungen in Lebensmitteln möglich sind. Dazu müßten jedoch zu jeder Meßserie Eichkurven mittels entsprechend verstärkter Extrakte ermittelt werden.

Unter Berücksichtigung der relativen Intensitäten der entsprechenden Peaks (vgl. Abb. 1) sollten sich mit nur acht Massenkanälen auch aus Gemischen heraus die einzelnen Aflatoxine bestätigen lassen, falls die Aflatoxinfraktion vorgängig genügend rein dargestellt werden kann.

Matrixprobleme

Aus der Praxis ergeben sich als gereinigte Aflatoxinfraktionen ausgekrazte Dünnschichtchromatogramm-Flecken oder, wesentlich geeigneter, HPLC-Eluate. Die Aflatoxine werden dabei aufgrund ihrer Fluoreszenz erkannt. Es ist daher möglich und wahrscheinlich, daß durch Aufarbeitung von Lebensmitteln erhaltene Aflatoxinfraktionen auch andere Substanzen enthalten können (4, 5, 6) die, falls sie nicht selbst fluoreszieren oder etwa die Fluoreszenz der Aflatoxine unterdrücken, bei der Analyse unbemerkt bleiben. Deshalb gleichen die Massenspektren solcher Fraktionen gelegentlich in keiner Weise den erwarteten Aflatoxinspektren. Darf aus solchen Massenspektren geschlossen werden (7), daß kein Aflatoxin vorliegt?

Auch unsere Massenspektren fielen zuweilen anders aus als erwartet: Abbildung 4 zeigt oben z. B. das Massenspektrum einer Aflatoxin-M₁-Fraktion, die durch Aufarbeitung eines kontaminierten Milchpulvers und anschließender Trennung durch HPLC gewonnen wurde. Der gemessene Totalionenstrom zur Zeit dieses Spektrums betrug jedoch das Zehnfache des Wertes, wie er aufgrund der Fluoreszenz erwartet wurde.

Als sich zusätzlich herausstellte, daß sich mit einem zweiten Trennsystem (Umkehrphase) und einem mit Trifluoressigsäure gebildeten Derivat chromatographisch qualitativ und quantitativ übereinstimmende Resultate ergaben, blieb kein Zweifel über die Präsenz von Aflatoxin M₁. Sicher wurden die entsprechenden Peaks im Massenspektrum von denen einer Verunreinigung überdeckt. Ein einfacher Reinigungsschritt ermöglichte die Elimination der störenden Peaks im Bereich über 200 Masseneinheiten: Nach vollständigem Eindampfen der Fraktion und erneutem Lösen in wenig Methanol/Wasser 1:2, vor der Ueberführung in den Probetiegel, wurde das obere Massenspektrum der Abbildung 5 gemessen, das gut übereinstimmt mit dem Massenspektrum einer vergleichbaren Menge (40 ng) Aflatoxin M₁ (Abb. 5 unten).

Interessanterweise wurde das obere Spektrum der Abb. 5 bei 100 °C gemessen, das untere jedoch bei nominell 300 °C (kleinere effektive Temperatur, infolge geringer Wärmeleitfähigkeit der Quarztiegel). Dieses Beispiel belegt die uns bereits früher bekannte, oben erwähnte Erscheinung, daß Verunreinigungen die optimale Probetemperatur für schwerflüchtige Verbindungen herabsetzen können. Solche Substanzen, ohne Massensignale über 200, waren immer noch vorhanden, wie der Totalionenstrom anzeigte.

Die Ursache der Verunreinigungen, die sich auch in den verwendeten, destillierten Lösungsmitteln fanden, war wahrscheinlich ein Kontakt mit den Händen. Das Massenspektrum einer absichtlich mit den Fingern in Berührung gebrachten, eingedampften Cyclohexanprobe zeigt ein ähnliches Verunreinigungsmuster (Abb. 4 unten und oben), das in Vergleichsproben fehlt.

Experimentelles

Ein Quadrupol-Massenspektrometer Finnigan 3100 D, ausgerüstet mit Oel-diffusionspumpe bzw., gegen Ende der Arbeit, mit einer Turbomolekularpumpe (Leybold, 220 l/s), einer EI-Ionenquelle (70 V, 1,5 mA) und einem Continuous-Dynode-Multiplier als Detektor (Modell CEM 4751 Galileo Electro Optics Corp., in der Schweiz vertreten durch Elwet AG, Wettingen) wurde für die massenspektrometrischen Untersuchungen benützt. Die Turbomolekularpumpe erlaubt Messungen ohne störenden Untergrund. Eine Einrichtung zur gleichzeitigen Registrierung mehrerer, ausgewählter Massenpeaks (Finnigan PROMIM) wurde für die Empfindlichkeitsmessungen benützt. Die Proben wurden mittels der Original-Schubstange (Solid-Probe) in Tiegel (ä. ϕ 2 mm) ins Vakuumsystem eingeführt.

Zur Abklärung der geeigneten Tiegeloberfläche wurden kommerzielle Tiegel verwendet (Varian MAT, Goldtiegel 5,5 mm lang, Quarzglasiegel 11 mm, i. ϕ ca. 1,5 mm), für Empfindlichkeitsmessungen und Aflatoxinproben aus Lebensmitteln dagegen Quarzglasiegel mit reduzierter Innenlänge von 5 mm. Zur Vorbereitung der Tiegeloberfläche wurden die Quarztiegel in konz. Salzsäure 24 h am Rückfluß gekocht, einzeln in der Flamme gegläht und unter Schutzgas ausge-

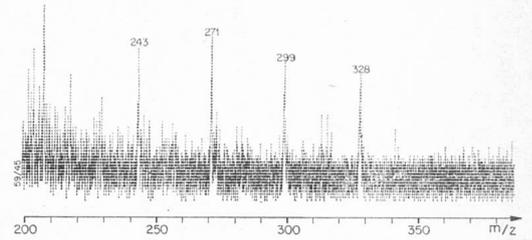
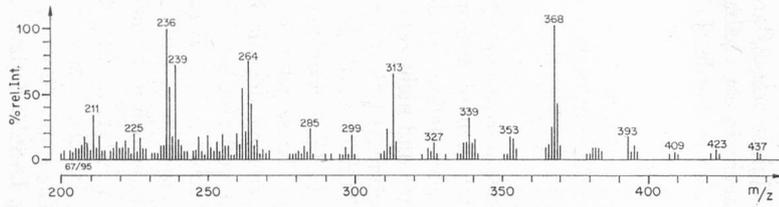
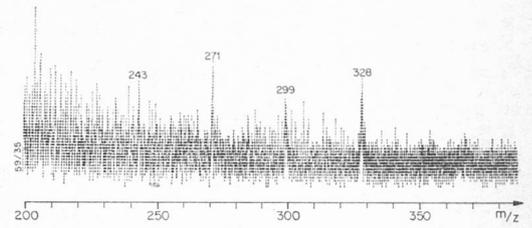
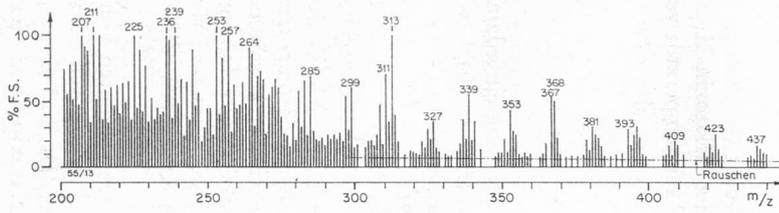


Abb. 4 oben Massenspektrum einer HPLC-Fraktion: mit Aflatoxin natürlich kontaminiertes Milchpulver, 3 Jahre gelagert (3100 D, Probe ca. 200 °C)

Abb. 5 oben Massenspektrum derselben Probe wie Abb. 4 oben, nach Reinigung (vgl. Text) (3100 D, Probe 100 °C)

Abb. 4 unten Massenspektrum einer eingedampften Cyclohexanlösung nach Kontakt mit der Haut von Händen (CH-7A, Probe 200 °C)

Abb. 5 unten Massenspektrum von 40 ng Aflatoxin M₁-Standard (gleiche Bedingungen wie oben, Probe nominell 300 °C)

kühlt. Mit Wasser gesättigte Tiegel wurden in Wasser (bidest.) aufbewahrt und erst kurz vor dem Gebrauch bei 100 °C knapp getrocknet. Mit Carbowax 20 M wurde belegt durch Einlegen der Tiegel in eine 1%ige Lösung in Methylenchlorid (15 min). Während 1 h wurde der Belag bei 280 °C eingebrannt und anschließend flüchtige Bestandteile mit Methylenchlorid extrahiert (12 h, Soxhlet). Silylierte Oberflächen wurden erhalten durch Einlegen vorbereiteter Tiegel in 10% Dichlordimethylsilan in Toluol (10 min), durch Abgießen und Trocknen (Erwärmen unter Schutzgas). Bedecken mit trockenem Methanol diente zur Absättigung noch reaktiver Stellen des Silylierungsreagenz. Eine Membranpumpe wurde verwendet, um die im Tiegelinnern jeweils eingeschlossenen Luftblasen zu entfernen. Abschließend wurden leichtflüchtige Oberflächenbestandteile durch Extraktion mit Methanol entfernt (12 h, Soxhlet). Derart behandelte Quarztiegel erzeugen erst ab ca. 300 °C einen leicht erkennbaren Untergrund in den Massenspektren (über 200 die Massen 207, 281, 355).

Die Prüfung der Tiegel auf ihre Eignung zur Aflatoxinanalyse erfolgte mit einem Massenspektrometer vom Typ Varian-MAT CH-7A (1 mA/70 eV EI, Ionisierungsgehäuse 250 °C, Direkteinlaß mit programmierbarer Aufheizrate). Dabei wurden je 10 ng Aflatoxin B₁ (eingedampfte Standardlösung in Benzol/Acetonitril 98:2) verdampft und die Intensität der Molekülionenmasse registriert.

Zur Prüfung der Beständigkeit von Aflatoxin M₁ diente ein Reagenzglas mit ausgezogener Spitze, eingetaucht in ein Oelbad (14), wobei ein Preßluftstrom auf die einzuengende Lösung gerichtet wurde. Je 10 µl einer Aflatoxin-M₁-Standardlösung von 1 ng/µl in Chloroform wurden vorerst bei Raumtemperatur vollständig eingedampft und anschließend in dem Lösungsmittel gelöst, das dem Test entsprach. Bei der Versuchstemperatur wurde nun wieder vollständig, im Luftstrom und bei Neonbeleuchtung, eingedampft. Der Rückstand wurde in 100 µl Chloroform aufgenommen und darin der Gehalt an Aflatoxin M₁ flüssigkeitschromatographisch bestimmt (17).

Im Probetiegel wurden nur je 1 µl Lösung vor der Messung eingedampft, evtl. mehrmals nacheinander. Für Benzol/Acetonitril als Lösungsmittel waren bei 60 °C 5 min optimal. Mit mehr als 1 µl ist der Zeitpunkt der vollständigen Verdampfung schwer abschätzbar und nicht reproduzierbare Resultate die Folge. Mit Methanol/Wasser als Lösungsmittel ist das Ende des Eindampfprozesses bei 70 °C visuell gut erkennbar. Eine Minute wurde zur Sicherheit jeweils zugegeben.

Die Aufarbeitung der Milchpulverproben erfolgte gleich wie in der Literatur (18) erwähnt mit einer Kieselgelsäule als flüssigkeitschromatographisches Trennsystem (17). Die Abtrennung der die Massenspektrometrie störenden Verunreinigungen gelang durch vollständiges Eindampfen der aufgefangenen Aflatoxin-M₁-Fraktion und Aufnehmen in 3 µl einer Mischung Methanol/Wasser 1:2. Aflatoxin M₁ wurde dabei noch genügend, die Verunreinigungen, die Störpeaks mit Massen über 200 ergaben, jedoch nicht mehr gelöst.

Die meisten verwendeten Aflatoxin-Standardlösungen stammten von der Firma Makor Chemicals Ltd., Israel (vertreten in der Schweiz durch Senn Chemicals, Dielsdorf). Aflatoxin M₂ stammte von Herrn Prof. Dr. L. Leistner, Bundesanstalt für Fleischforschung, D-8650 Kulmbach und Aflatoxicol von Herrn Dr. J.

Dank

Wir danken Herrn Dr. B. Marek, Chef der Sektion Pestizidrückstände und Kontaminationen, für seine stetige Förderung der vorliegenden Arbeit, Herrn Prof. Dr. F. Kiermeier, München-Weihenstephan, für die freundliche Ueberlassung von Milchpulverproben und Herrn O. Blaser für deren chromatographische Analyse. Herrn Prof. Dr. U. P. Schlunegger danken wir für seine Erlaubnis für die Benützung eines Massenspektrometers der Universität Bern.

Zusammenfassung

Am Beispiel der Aflatoxine werden die Probleme der Massenspektrometrie kleiner Substanzmengen mit Hilfe des Direkteinlasses diskutiert. Genügend reine Probelösungen wurden eingedampft in silanisierten Quarzglasziegeln, ins Massenspektrometer eingeführt und kontrolliert aufgeheizt. Derart ist es möglich, noch Mengen im Bereich von Nanogrammen und weniger der bekannten sechs Aflatoxine B, G und M, einzeln oder zusammen, zu messen. Die optimale Verdampfungstemperatur entspricht nicht notwendigerweise derjenigen der reinen Verbindung. Das Beispiel einer mit Aflatoxin M₁ kontaminierten Milchpulverprobe zeigt, daß die Registrierung des Totalionenstroms falsche negative Resultate vermeiden hilft.

Résumé

Les problèmes de la spectrométrie de masse par admission directe et pour de faibles quantités de substance sont discutés en prenant comme exemple les aflatoxines. Des solutions d'échantillon suffisamment pures sont évaporées dans des micro-creusets en quartz silanisés qui, introduits dans le spectromètre de masse, sont chauffés sous contrôle. Il est ainsi possible de déterminer, même simultanément, les six aflatoxines connues B, G et M, en quantités de l'ordre du nanogramme et plus faibles encore. La température d'évaporation ne correspond pas nécessairement à celle du composé pur. L'exemple d'un échantillon de poudre de lait contaminé à l'aflatoxine M₁ montre que l'enregistrement du courant total des ions permet d'éviter de faux résultats négatifs.

Summary

When small quantities of substances, e. g. aflatoxins, are determined by means of mass spectrometry using a direct introduction probe, several problems are encountered. Sufficiently pure test solutions can be evaporated preferably in silanised micro-crucibles of quartz, then introduced into the mass spectrometer and heated under controlled conditions. The procedure allows the determination of the six well known aflatoxins B, G and M in amounts of nanograms or less, single or together. The most suitable temperature of evaporation does not necessarily correspond to that of the pure com-

pound. The example of a milk powder, contaminated by aflatoxin M₁, shows that a record of the total ion current may help to avoid false negative results.

Literatur

1. Schlatter, Ch.: Gesundheitsgefahr durch Aflatoxine in der Nahrung? Chem. Rundschau **31** (15), 25 (1978).
2. Mücke, W.: Zur Kontrolle von Aflatoxinen in Futtermitteln und Lebensmitteln. Ernähr. Umschau **25**, 9—15 (1978).
3. Lütthy, J.: Uebersicht über Bestimmungsmethoden der Aflatoxine B, G und M in Lebens- und Futtermitteln. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **69**, 200—219 (1978).
4. Frank, H. K und Eyrich, W.: Ueber den Nachweis von Aflatoxinen und das Vorkommen Aflatoxin-vortäuschender Substanzen in Lebensmitteln. Z. Lebensm. Untersuch.-Forsch. **138**, 1—11 (1968).
5. Shotwell, O. L., Shannon, G. M., Goulden, M. L., Miburn, M. S. and Hall, H. H.: Factors in oats that could be mistaken for aflatoxin. Cereal Chem. **45**, 236—241 (1968).
6. Gedek, B. R. und Kahlau, D. I.: Nachweis von Aflatoxinen in Gegenwart von interferierenden Substanzen. I. Mitteilung: Vorkommen von vortäuschenden Stoffen in Futtermitteln. Zbl. Vet. Med. B, **23**, 216—229 (1976).
7. Weiß, G., Miller, M. und Behringer, G.: Vorkommen und Gehalt an Aflatoxin M₁ in Molkereiprodukten. Störungsmöglichkeiten beim Nachweis von Aflatoxin M₁. Milchwissenschaft **33**, 409—412 (1978).
Kiermeier, F., Miller, M., Weiß, G. and Behringer, G.: Possibilities of interference in the identification of aflatoxin M₁. Z. Lebensm. Untersuch.-Forsch. **166**, 274—279 (1978).
8. Bencze, K., Kiermeier, F. und Miller, M.: Zur Massenspektroskopie der Aflatoxine. Z. Lebensm. Untersuch.-Forsch. **159**, 7—14 (1975).
9. Haddon, W. F., Masri, M. S., Randall, V. C., Elskens, R. H. and Meneghelli, B. J.: Mass spectral confirmation of aflatoxins. J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists **60**, 107—113 (1977).
10. McFadden, W. H., Bradford, D. C., Games, D. E. and Gower, J. L.: Applications of combined liquid chromatography/mass spectrometry. Am. Lab. **9** (10), 55, 56, 58—60, 62, 64 (1977).
11. Rodricks, J. V.: Note on Adsorption of Aflatoxin Standard to Glass. J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists **52**, 979—980 (1969).
12. Haddon, W. F., Wiley, M. and Waiss, A. C.: Aflatoxin detection by thin-layer chromatography/mass spectrometry. Anal. Chem. **43**, 268—270 (1971).
13. Goldblatt, L. A. (Ed.): Aflatoxin, Academic Press, New York, London 1969.
14. Zimmerli, B.: Erfahrungen bei der Konzentrierung pestizidhaltiger Extrakte. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **64**, 528—532 (1973).
15. Baumgartner, W. E. and Huber, W. K.: Secondary electron emission multipliers as particle detectors. J. Phys. E, **9**, 321—330, (1976).
16. Spohn, J. A., Dreifuß, P. A. and Schulzen, H. R.: Field desorption mass spectrometry of mycotoxins and mycotoxin mixtures, and its application as a screening technique for foodstuffs. J. Assoc. Offic. Analyt. Chemists **60**, 73—82 (1977).
17. Zimmerli, B.: Beitrag zur Bestimmung von Aflatoxinen mittels Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **68**, 36—45 (1977).

18. Zimmerli, B. und Blaser, O.: Vorkommen von Aflatoxin M in Milch. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **70**, 287—293 (1979).
19. Dusold, L. R., Dreifuß, P. A., Pohland, A. E. and Sphon J. A.: Mycotoxins mass spectral data bank. Association of Official Analytical Chemists, Washington 1978.

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