

Originalien

Analysenverfahren zur Bestimmung von ausgewählten PCB-Einzelkomponenten in Lebensmitteln

Von H. BECK und W. MATHAR

Übersicht

Zusammenfassung

Einleitung

1. Prinzip der Untersuchungen

2. Probenvorbehandlung

3. Fettbestimmung / Fettextraktion

3.1 Allgemeine Hinweise

3.2 SOXHLET-Extraktion

3.3 Säulenextraktion

4. Reinigung der Probenextrakte

4.1 Methode nach STIJVE

4.2 Gelpermeationschromatographie nach SPECHT

4.3 Aufarbeitung von fetthaltigen Lebensmitteln mittels Wasserdampfdestillation

5. Zusätzliche Reinigungsmethoden

5.1 Allgemeine Hinweise

5.2 Nachreinigung mit konz. Schwefelsäure

5.3 Nachreinigung durch eine Mini-Kieselgelsäule

5.4 Nachreinigung und Auf trennung der Organochlorverbindungen durch eine Kieselgelsäule, insbesondere zur Abtrennung der PCBs von Camphechlor

6. Gaschromatographische Bestimmung

6.1 Allgemeine Hinweise

6.2 Anforderungen an die Kapillar-Gaschromatographie

6.3 Gaschromatographische Bedingungen

6.4 Bestimmungsgrenze

7. Auswertung der Untersuchungsergebnisse

7.1 Standardsubstanzen

7.2 Berechnung und Angabe der Ergebnisse

7.3 Streubereich der Meßwerte

8. Literatur

Zusammenfassung

Nach einem hier erarbeiteten Konzept wird für die Untersuchung auf Rückstände an polychlorierten Biphenylen (PCB) der Gehalt von 6 ausgewählten PCB-Einzelkomponenten mittels Kapillar-GC genau bestimmt und als Ergebnis ohne weitere Umrechnung angegeben. Diese PCB-Einzelkomponenten sind als Indikatoren für den Gehalt an allen anderen PCBs anzusehen.

Summary

Analytical Procedure for the Determination of Selected PCB-Components in Food

Following a procedure for the investigation of residues of polychlorinated biphenyls (PCB) elaborated in this laboratory, the concentration of 6 selected PCB-components will be determined exactly by capillary GLC and expressed as

Zur Bestimmung dieser definierten Einzelkomponenten wird eine ausführliche Beschreibung der Analysenverfahren gegeben, die hier überprüft wurden und vom Bundesgesundheitsamt für die quantitative PCB-Rückstandsanalytik von Lebensmitteln tierischer Herkunft empfohlen werden.

the result without any further calculation. These PCB-components are considered as indicators for the concentration of all the other PCBs.

A detailed description of the analytical procedures for the determination of these defined PCB-components is given, which were examined in this laboratory and are recommended by the Federal Health Office for the quantitative PCB residue analysis of food of animal origin.

Einleitung

Seit 1929 wurden polychlorierte Biphenyle in mindestens 9 verschiedenen Firmen durch Chlorierung von Biphenyl hergestellt. Die technischen Produkte sind Gemische aus unterschiedlichen Mengen von mehr als 100 Einzelkomponenten (theoretisch wären 209 Einzelkomponenten möglich). Selbst bei Produkten mit gleichem Chlorgehalt zeigen die Erzeugnisse je nach Herstellerfirma (z. B. Clophen A 60 und Arochlor 1260) unterschiedliche Zusammensetzungen.

Die in der Umwelt auftretenden PCB-Rückstände resultieren aus unterschiedlichen Mischungen dieser technischen Produkte, die jedoch durch Abbau bzw. Metabolisierung einzelner Komponenten in ihrem Verteilungsmuster verändert sein können. In Abhängigkeit von dem jeweiligen Substrat treten somit unterschiedliche Verteilungsmuster der PCB-Einzelkomponenten in den Rückständen auf: Beispielsweise weisen PCB-Rückstände in Fischen eine andere Zusammensetzung auf als die in Milchfett.

In analytischer Hinsicht verhalten sich die polychlorierten Biphenyle ebenso wie die meisten Organochlor-Pestizide. Daher werden diese Verbindungen gewöhnlich in einem gemeinsamen Analysenverfahren extrahiert, gereinigt und gaschromatographisch mittels ECD bestimmt. Wegen der komplexen Zusammensetzung aus zahlreichen Einzelkomponenten ist die gaschromatographische Bestimmung des PCB-Gehalts jedoch sehr problematisch. Diese erfolgte bisher überwiegend auf gepackten Säulen mit geringer Trennleistung. Dabei werden gewöhnlich breite Peaks gemessen, die aus einer Vielzahl von PCB-Einzelkomponenten oder auch anderen interferierenden Stoffen bestehen können. Da außerdem die Größe des Detektorsignals (Peakfläche) für die einzelnen Stoffe unterschiedlich ist, können bei gleicher Peakfläche durchaus unterschiedliche Mengen an Einzelkomponenten vorliegen; eine qualitative Zuordnung der Peaks zu bestimmten Verbindungen sowie deren Absicherung ist dabei nicht möglich. Für die quantitative Auswertung wurden die Flächen von einigen Peaks einer Probe mit jeweils zeitgleichen Peaks aus einem Handelsprodukt (z. B. Clophen A 60) verglichen und daraus auf einen »PCB-Gehalt (berechnet als Clophen A 60)« hochgerechnet, obwohl bekannt war, daß dessen PCB-Verteilungsmuster mit dem der Probe nicht übereinstimmte.

Seit einiger Zeit erfolgt die Bestimmung bereits in vielen Laboratorien durch Gaschromatographie mit Kapillarsäulen hoher Trennleistung, so daß die meisten PCB-Einzelkomponenten separate Peaks ergeben. Eine quantitative Bestimmung aller Einzelkomponenten zur Ermittlung des »wahren« Gesamtgehaltes an PCBs [10, 11] ist dabei jedoch mit

sehr hohem Aufwand (Eichung mit etwa 100 Einzelkomponenten) verbunden, der für Routineuntersuchungen nicht vertretbar ist. Als Notbehelf wurden daher auch bei der Kapillar-Gaschromatographie nur einige willkürlich gewählte Peaks auf technische Handelsprodukte bezogen und auf einen scheinbaren PCB-Gesamtgehalt hochgerechnet. Bei derartigen Hochrechnungen kann der tatsächliche PCB-Gehalt erheblich höher sein, wenn z. B. in Fischen neben den Komponenten aus dem (hochchlorierten) Clophen A 60 auch niedrlichchlorierte (etwa aus Clophen A 30) enthalten sind. Andererseits liegt der tatsächliche Gehalt in der Muttermilch bei nur etwa 50 % des hochgerechneten PCB-Gehalts, weil zahlreiche Einzelkomponenten der technischen Handelsprodukte in der Muttermilch nicht mehr enthalten sind [11].

Im Bundesgesundheitsamt wurde daher für die PCB-Rückstandsanalytik in mehrjährigen Vorarbeiten ein Konzept entwickelt, nach dem statt der Hochrechnung auf einen fiktiven PCB-Gehalt nunmehr die tatsächlich gemessenen Gehalte an ausgewählten PCB-Einzelkomponenten anzugeben sind. Hierfür wurden folgende 6 Einzelkomponenten ausgewählt (die in Klammern nachgestellten Zahlen beziehen sich auf die systematische Numerierung gemäß [1]):

- 1) 2,4,4'-Trichlorbiphenyl (28)
- 2) 2,2',5,5'-Tetrachlorbiphenyl (52)
- 3) 2,2',4,5,5'-Pentachlorbiphenyl (101)
- 4) 2,2',3,4,4',5'-Hexachlorbiphenyl (138)
- 5) 2,2',4,4',5,5'-Hexachlorbiphenyl (153)
- 6) 2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorbiphenyl (180).

Diese definierten Einzelverbindungen sollen als Indikatoren für das gesamte PCB-Verteilungsmuster in den Proben fungieren. Sie stellen sowohl für die technischen PCB-Produkte, die ja die Ursache der weltweiten Umweltkontamination bilden, als auch für die durch Metabolisierung bzw. Anreicherung im Verlauf der Nahrungskette auftretenden unterschiedlichen PCB-Muster in Umweltproben limitierende Größen dar, die daher für die Festsetzung von Grenzwerten geeignet sind. Die Gehalte an diesen Einzelkomponenten in Umweltproben sind analytisch ohne Schwierigkeiten bestimmbar. Wie im ersten Ringversuch [5] gezeigt werden konnte, weisen die Untersuchungsergebnisse unterschiedlicher Laboratorien auch eine relativ gute Vergleichbarkeit aus.

Als Ergebnis einer gemeinsamen Beratung von Sachverständigen aus den Bereichen der Lebensmittelüberwachung, der Wissenschaft und der beteiligten Wirtschaft am 30. 11. 1983 werden zur Überwachung der Einhaltung der Schadstoff-Höchstmengenverordnung (hier: PCB) die nachstehenden Untersuchungsmethoden für die Bestimmung der ausge-

wählten PCB-Einzelkomponenten in Lebensmitteln tierischer Herkunft vom Bundesgesundheitsamt vorläufig empfohlen.

1. Prinzip der Untersuchungen

Die PCBs verhalten sich in analytischer Hinsicht genauso wie die meisten Organochlor-Pestizide, wobei die größte Verwandtschaft zu den unpolaren Verbindungen besteht. Daher werden beide Stoffgruppen üblicherweise simultan in einem Analysenverfahren bestimmt. Für die Untersuchung von Lebensmitteln tierischer Herkunft können dabei auch die Analysenmethoden für Organochlor-Pestizide, die als Empfehlung des Bundesgesundheitsamtes veröffentlicht wurden [2], zur PCB-Bestimmung übernommen werden.

Zusätzlich dazu kann auch die Reinigung über eine Kieselgelsäule nach STEINWANDTER [13] angewendet werden.

Ausführlich beschrieben wird hier die Extrakteinigung mittels Florisilsäule nach STIJVE [14] und mittels Gelpermeationschromatographie nach SPECHT [12]. Beide Methoden wurden im Bundesgesundheitsamt eingehend überprüft und haben sich auch in zahlreichen anderen Laboratorien gut bewährt. Ferner wird noch ein Reinigungsverfahren mittels Wasserdampfdestillation beschrieben, das für die alleinige Bestimmung der PCBs geeignet ist.

Die Analysenverfahren umfassen mehrere Teilschritte:

Das Fett der Proben einschließlich der Organochlorverbindungen wird extrahiert und in einem Teil des Extraktes gravimetrisch bestimmt.

Ein anderer Teil des Extraktes wird mittels Säulen- oder Gelpermeationschromatographie gereinigt.

Mit zusätzlichen Reinigungsmethoden werden andere Stoffe (z. B. Pestizide, insbesondere Camphechlor) abgetrennt, die die nachfolgende Bestimmung stören könnten.

Im gereinigten Extrakt werden die ausgewählten PCB-Einzelkomponenten mittels Kapillarsäulen-Gaschromatographie unter Verwendung eines Elektroneneinfangdetektors (ECD) identifiziert und quantitativ bestimmt.

2. Probenvorbehandlung

Die Probeneinwaage richtet sich nach dem Fettgehalt der Lebensmittel und der für die Reinigung ausgewählten Methode. Im allgemeinen sollte der extrahierte Fettanteil pro Analysenprobe etwa 1–3 g betragen.

Für die Analysenprobe wird nur der eßbare Anteil des Lebensmittels verwendet. Knochen, Gräten, Schuppen, Schalen oder dergl. werden vor der Einwaage entfernt.

Reine Fette und Öle werden direkt eingewogen und für die Reinigung nach 4. gelöst.

Milchpulver wird vor der Extraktion zu rekonstituierter Milch suspendiert, indem 10 g Milchpulver mit 90 ml Wasser bei 40–50° C homogenisiert werden (ca. 15 Minuten).

Falls die Proben nicht sofort untersucht werden können, sind sie in verschlossenen Gefäßen bzw. entsprechender Verpackung möglichst tiefgekühlt (üblicherweise bei -20° C) zu lagern.

3. Fettbestimmung / Fettextraktion

3.1 Allgemeine Hinweise

Das Fett der Proben wird gemeinsam mit den Organochlorverbindungen mit n-Hexan im SOXHLET oder mit einer Mischung aus n-Hexan und Aceton in einer Säule extrahiert. In einem aliquoten Teil dieses Extraktes wird der Fettgehalt nach dem Abdampfen des Lösungsmittels gravimetrisch bestimmt. Der dabei erhaltene Wert dient einerseits der Berechnung des Fettgehaltes in der Probe, gleichzeitig aber auch der Berechnung der Fettmenge, die im anderen aliquoten Teil für die Reinigung der Probenextrakte eingestellt werden muß. Daher wird eine Fettbestimmung auch dann empfohlen, wenn der PCB-Gehalt für das betreffende Lebensmittel auf das Gesamtgewicht der Probe bezogen werden soll.

Als »Fettgehalt« wird der Anteil des Lebensmittels definiert, der mittels der Verfahren 3.2 oder 3.3 extrahiert wird.

Der damit bestimmte Fettgehalt bleibt auch dann Bezugsbasis für die Berechnung der PCB-Rückstände, wenn nach anderen herkömmlichen Methoden ein davon abweichender Wert ermittelt wird.

3.2 SOXHLET-Extraktion

3.2.1 Geräte

Trockenschrank

Extraktionsapparat nach SOXHLET, bestehend aus

Rundkolben (500 ml)

Extraktionsaufsatz (ca. 200 ml)

Rückflußkühler

Heizquelle (z. B. Pilz-Heizhaube)

Rotationsverdampfer mit Zubehör

Vorrichtung zum Zerkleinern der tierischen Lebensmittel

Uhrglas

Mörser

Faltenfilter, ca. 30 cm Ø

Die Verwendung von Extraktionshülsen führt häufig zur Verunreinigung der Proben (Interferenzpeaks im Gaschromatogramm).

Watte, chemisch rein, extrahiert

Rundkolben für die Fettbestimmung

3.2.2 Reagenzien

Natriumsulfat, p. a. wasserfrei

Vor Verwendung 5 Std. auf 650° C erhitzen, danach im Exsiccator abkühlen lassen.

Seesand, mit Säure gereinigt, p. a. (z. B. Merck Nr. 7712) 5 Std. auf 600° C erhitzt, im Exsiccator abgekühlt

n-Hexan, zur Rückstandsanalyse

3.2.3 Arbeitsvorschrift

Der Rundkolben für die Fettbestimmung wird 30 Min. im Trockenschrank auf 105° C erhitzt und nach dem Abkühlen gewogen. Das Ausheizen wird bis zur Gewichtskonstanz ($\pm 0,01$ g) wiederholt.

Fleisch, Fleischerzeugnisse, Fisch, Fischerzeugnisse, gegebenenfalls auch Käse werden weitgehend zerkleinert und auf einem Uhrglas eingewogen. Tierische

Fette, Milcherzeugnisse und Eier werden direkt einge- wogen.

Die Probe wird in einen Mörser gegeben und mit gleichen Mengen Seesand und Natriumsulfat intensiv zu einem trockenen Mahlgut verrieben. Die erforderliche Menge Natriumsulfat richtet sich nach Menge und Wassergehalt des Lebensmittels. Beispielsweise sind für 10 g Fisch 40 g Natriumsulfat erforderlich. Das Mahlgut wird quantitativ in ein Faltenfilter überführt. Mörser, Pistill und Uhrglas werden mit einem Wattebausch, der mit n-Hexan getränkt ist, abgewischt. Der Wattebausch wird mit in das Faltenfilter gelegt, das danach verschlossen in den SOXHLET- Aufsatz gegeben wird.

Nachdem der 500-ml-Rundkolben mit ca. 5 Siedeperlen (Glas) und 250 ml n-Hexan gefüllt wurde, wird die Probe 6 Std. lang am Rückfluß extrahiert. Danach wird von einem aliquoten Teil zur Fettbestimmung das Lösungsmittel in einem zweiten Rundkolben am Rotationsverdampfer bei ca. 50° C im schwachen Luftstrom bei geringem Unterdruck abgezogen, der Kolben 30 Min. im Trockenschrank auf 105° C erhitzt und nach dem Abkühlen gewogen. Dieser Vorgang wird wiederholt, bis Gewichtskonstanz erreicht ist.

3.3 Säulenextraktion [6]

3.3.1 Geräte

Mörser bzw. Mörsermühle (z. B. »Pulverisette 2« mit Achat-Mahlgarnitur der Fa. FRITSCH)
Extraktionssäule, 12 mm i. D., 300 mm lang, unten spitz ausgezogen, oben in einer Länge von 100 mm auf 50 mm i. D. erweitert

3.3.2 Reagenzien

Natriumsulfat, p. a., wasserfrei, 2 Std. bei 650° C geglüht
Quarzsand, p. a., 2 Std. bei 650° C geglüht
n-Hexan, zur Rückstandsanalyse
Aceton, zur Rückstandsanalyse
Quarzwatte, gewaschen mit n-Hexan / Aceton (2 : 1)
Rundkolben für die Fettbestimmung

3.3.3 Arbeitsvorschrift

Der Rundkolben für die Fettbestimmung wird 30 Min. im Trockenschrank auf 105° C erhitzt und nach dem Abkühlen gewogen. Das Ausheizen wird bis zur Gewichtskonstanz ($\pm 0,01$ g) wiederholt.

In einem Mörser oder einer Mörsermühle wird eine ausreichende Probemenge (s. 2) mit gleichen Teilen einer Mischung aus Quarzsand und Natriumsulfat zu einem trockenen Mahlgut verrieben (s. a. 3.2.3). Dieses wird dann als oberste Schicht in eine Extraktions- säule gefüllt, in die zuvor eine etwa 1 cm hohe Schicht Quarzwatte und eine etwa 2 cm hohe Schicht Natriumsulfat gegeben wurden.

Auf die trockene Säule wird dann eine Mischung aus n-Hexan/Aceton (2 : 1) gegeben. Für 10 g Fischeinwaage sind etwa 250 ml dieser Mischung erforderlich. Ein aliquoter Teil des langsam (z. B. über Nacht) durchgesickerten Extraktionsgemisches wird für die

Fettbestimmung in einem Kolben am Rotationsverdampfer im schwachen Luftstrom bei geringem Unterdruck abgezogen, 30 Min. im Trockenschrank auf 105° C erhitzt und gewogen. Dieser Vorgang wird wiederholt, bis Gewichtskonstanz erreicht ist.

4. Reinigung der Probenextrakte

Die nach 3. gewonnenen Extrakte enthalten neben den Organochlorverbindungen noch Fette und andere fettähnliche Substanzen. Zu deren Abtrennung können insbesondere die Reinigungsverfahren nach 4.1 und 4.2 angewendet werden, die sich bereits in zahlreichen Laboratorien gut bewährt haben. Ferner wird noch eine einfache Aufarbeitungsmethode mittels Wasserdampfdestillation beschrieben.

4.1 Methode nach STIJVE [14]

4.1.1 Prinzip und Bewertung der Methode

Die Lösung des Probenextraktes wird auf eine Säule mit teilweise desaktiviertem Florisil gegeben, die mit 300 ml eines Petroläther-Dichlormethan-Gemisches eluiert wird.

Diese Methode, die eine Modifizierung des Verfahrens nach LANGLOIS [7] darstellt, zeichnet sich durch geringen Zeitaufwand und durch eine sehr gute Wiederfindung für alle hier diskutierten Pestizide und PCBs aus. In einigen Fällen ist die Reinheit der Extrakte nicht ganz zufriedenstellend, so daß eine Nachreinigung erforderlich ist.

4.1.2 Geräte

Rotationsverdampfer mit Zubehör (Badtemperatur 30–40° C)
Chromatographiesäulen, 22 mm i. D. mit Teflonkü- ken

Bewährt haben sich Säulen von 25 cm Länge, die am oberen Ende eine Erweiterung von etwa 250 ml Fassungsvermögen haben.

4.1.3 Reagenzien

Petroläther, KP: 40–60° C oder n-Hexan, zur Rück- standsanalyse
Dichlormethan, zur Rückstandsanalyse
Elutionsgemisch: 80 Vol.-% Petroläther (oder n- Hexan) + 20 Vol.-% Dichlormethan

Florisil, 60–100 mesh; über Nacht auf etwa 550° C erhitzt, nach dem Abkühlen gut verschlossen aufzubewahren.

Zum Gebrauch wird das Florisil mindestens 5 Std. auf 130° C erhitzt und mit 3 Gew.-% dest. Wasser versetzt. Diese Mischung wird mindestens 20 Min. geschüttelt und danach 10–12 Std. verschlossen aufbewahrt, um eine gleichmäßige Verteilung zu erreichen.

iso-Octan, zur Rückstandsanalyse

4.1.4 Arbeitsvorschrift

In eine Chromatographiesäule, die mit 100 ml Petroläther gefüllt ist, werden auf einen Wattestopfen langsam 25 g Florisil (desaktiviert mit 3 % Wasser) eingeschlämmt. Wenn sich die Säulenfüllung abgesetzt hat, läßt man das Lösungsmittel ablaufen, bis es etwa 1 cm hoch über der Florisilschicht steht.

0,5–1 g des extrahierten Fettes werden in 10 ml Petroläther gelöst und quantitativ auf die Florisilsäule gebracht. Anschließend wird mit 300 ml des Elutionsgemisches eluiert. Die Tropfgeschwindigkeit sollte 5 ml/min nicht überschreiten. Das Eluat wird nach Zusatz von 5 ml iso-Octan im Rotationsverdampfer bei leichtem Unterdruck bis auf 1 ml eingeengt.

4.2 Gel permeations chromatographie nach SPECHT [12]

4.2.1 Prinzip der Methode

In einem Gerät zur automatischen Gelchromatographie werden die Rückstände der zu bestimmenden Verbindungen an dem Polystyrolgel Bio Beads S-X3 von den zumeist höhermolekularen Begleitstoffen in den Rohextrakten abgetrennt. Zur Elution dient ein Gemisch aus gleichen Volumenanteilen Cyclohexan und Essigsäureäthylester, das eine gute Trennung bei einem relativ geringen Elutionsvolumen ermöglicht. Die gesuchten Rückstände werden dabei nach den Begleitstoffen eluiert. Die Trennsäule ist praktisch beliebig oft verwendbar.

4.2.2 Geräte

Automatisches Gerät zur Gelchromatographie, z. B. Gelchromatograph GPC Autoprep 1001 oder 1002 (Fa. ANALYTICAL BIOCHEMISTRY LABORATORIES, Columbia/Mo., USA, Vertrieb Fa. N. Foss ELECTRIC GmbH, Hamburg)

Ausstattung: Chromatographierohr i. D. 25 mm, Länge 40 cm, 23 Probenaufgabeschleifen von je 5 ml Inhalt

Rundkolben 100 ml, mit Schliff und 9 cm langem Hals
Meßreagenzglas: Reagenzglas mit Schliffstopfen und
Meßmarke bei 5 ml

Injektionsspritze 10 ml

Vakuum-Rotationsverdampfer, Badtemperatur
30–40° C

Papierfilter Ø 6 cm, Schwarzbänder, mit Dichlormethan erschöpfend extrahiert

4.2.3 Reagenzien

Cyclohexan, zur Rückstandsanalyse

Essigsäureäthylester, zur Rückstandsanalyse

Elutionsgemisch: Cyclohexan-Essigsäureäthylester-Gemisch 1 + 1 Volumenanteile

iso-Octan zur Rückstandsanalyse

Bio Beads S-X3, 200–400 mesh (Fa. BIO-RAD LABORATORIES GmbH, München)

Natriumsulfat, p. a., mindestens 2 h auf 550° C erhitzt

4.2.4 Arbeitsvorschrift

Man läßt die Bio Beads (etwa 50 g) über Nacht im Elutionsgemisch quellen und füllt die Suspension in einem Guß in die Säule (Fassungsvermögen etwa 180 ml). Wenn sich das Gel luftblasenfrei abgesetzt hat, soll die Füllhöhe des Gelbettes etwa 32 cm betragen. Anschließend wird der Verschlußstempel eingeführt und verschraubt. Wenn sich nach längerem Arbeiten das Gelbett weiter verdichtet, muß der Verschlußstempel nachgeschoben werden. Im einzelnen ist die Gebrauchsanweisung der Herstellerfirma zu beachten.

Man löst bis zu 5,0 g des extrahierten Fettes im Elutionsgemisch, füllt damit auf 25,0 ml auf und injiziert einen Teil dieser Lösung in eine der Probenaufgabeschleifen, deren Volumen genau 5 ml betragen. Man eluiert die Gelsäule mit dem Elutionsgemisch bei einer Elutionsgeschwindigkeit von 5,0 ml/min. Dabei werden für Multirückstandsanalysen folgende Gerätewerte eingestellt:

Verwerfen (»Dump«)	20 min (entspr. 100 ml)
Auffangen (»Collect«)	13 min (entspr. 65 ml)
Waschen (»Wash«)	2 min (entspr. 10 ml)

Das in der Phase »Collect« aufgefangene Volumen wird nach Zusatz von 5 ml iso-Octan im Rotationsdampfer bei langsamer Rotation und geringer Eintauchtiefe des Kolbens auf etwa 1 ml eingeengt. Wenn die Lösung noch nach Essigsäureäthylester riecht, wird das Einengen nach erneuter Zugabe von iso-Octan wiederholt.

4.2.5 Besondere Hinweise

Wird eine neue Säulenfüllung eingesetzt, so sind die Elutionsbedingungen an einigen Stoffen aus dem vorderen und dem hinteren Elutionsbereich (vgl. Tab. 1) und an entsprechenden Rohextrakten zu überprüfen.

Tabelle 1: Elutionsbereiche für eine Anzahl von Organochlorverbindungen unter den Bedingungen der Gelchromatographie nach 4.2.4

Stoff	Elutionsbereich in ml
Aldrin	120–150
Camphechlor	110–150
α-Chlordan	110–140
γ-Chlordan	100–130
Chlorfenson	120–150
o,p'-DDD	110–140
p,p'-DDD	100–140
o,p'-DDE	120–150
p,p'-DDE	120–150
o,p'-DDT	120–150
p,p'-DDT	110–140
Dicofol	100–150
Dieldrin	120–150
α-Endosulfan	110–150
β-Endosulfan	110–150
Endosulfansulfat	100–140
Endrin	130–160
Fenson	130–160
α-HCH	120–150
β-HCH	100–130
γ-HCH (Lindan)	110–140
δ-HCH	100–130
Heptachlor	110–140
Heptachlorepoxyd	110–140
Hexachlorbenzol	140–165
Isodrin	120–150
Methoxychlor	125–155
Oxychlordan	100–160
Quintozan	135–165
Tecnazan	130–160
Tetradifon	120–150
Tetrasul	125–155
Polychlorierte Biphenyle	
Clophen A 30	120–165
Clophen A 60	120–160

Man injiziert dazu ein Gemisch von Standardlösungen bzw. rohe Extrakte in die Probenaufgabeschleifen, eluiert nach 4.2.4 und stellt mit einem geeigneten Analysenverfahren fest, ob die zugesetzten Stoffe vollständig wiedergefunden werden bzw. ob sich Störungen durch nicht abgetrennte Begleitstoffe ergeben. Dasselbe gilt für Säulenfüllungen nach längerem Betrieb.

Für die Rückstandsbestimmungen einzelner Stoffe kann ein dem betreffenden Wirkstoff angepaßtes, engeres Auffangvolumen (»Collect«) nach den Werten der Tab. 1 eingestellt werden. Soll nur der Gehalt an PCBs bestimmt werden, so ist der Elutionsbereich von 120–165 ml aufzufangen.

4.3 Aufarbeitung von fetthaltigen Lebensmitteln mittels Wasserdampfdestillation [8]

4.3.1 Prinzip der Methode

Die Aufarbeitungsmethode beruht auf einer Wasserdampfdestillation modifiziert nach CLEVENGER. Fette müssen zunächst durch Kochen mit alkoholischer KOH verseift werden, um die Flüchtigkeit der PCBs zu erhöhen. Andernfalls sind die Wiederfindungsraten bei der Wasserdampfdestillation unbefriedigend.

Die einzelnen Arbeitsschritte sind einfach und schnell durchzuführen und benötigen keine teuren Chemikalien oder Geräte. Bei der Fettverseifung werden einige Organochlor-Pestizide (z. B. DDT, DDD, HCH-Iso-mera, Camphechlor) dehydrochloriert, was die gleichzeitige Bestimmung dieser Stoffe ausschließt, hinsichtlich der PCB-Bestimmung aber häufig zu einfacheren Chromatogrammen führt.

4.3.2 Geräte

Modifizierte CLEVENGER-Apparatur gemäß [8]
 Rundkolben, 100 und 250 ml
 Scheidetrichter, 250 ml
 Rückflußkühler
 Siedeperlen
 Wasserbad
 elektrische Heizquelle
 Rotationsverdampfer mit Zubehör (Badtemperatur 30–40° C)

4.3.3 Reagenzien

Alkoholische KOH: 7 g KOH in 100 ml Ethanol, stets frisch ansetzen
 Petroläther, KP: 40–60° C, p. a.
 iso-Octan, zur Rückstandsanalyse

4.3.4 Arbeitsvorschrift

Aus den Lebensmittelproben wird das Fett nach den o. a. Methoden extrahiert, 2 g des auf diese Weise erhaltenen Fettes werden mit 20 ml alkoholischer KOH 1 Stunde am Rückfluß (Wasserbad: 90° C) in einem 100-ml-Rundkolben verseift. Anschließend überführt man die Reaktionslösung in einen Scheidetrichter, der 20 ml Wasser enthält und spült mit 30 ml Petroläther nach. Die Petrolätherphase wird abgetrennt und die wässrige Phase noch zweimal mit je 30 ml Petroläther extrahiert. Die vereinigten Petrol-

ätherphasen werden in einem 250-ml-Rundkolben vorsichtig zur Trockene eingeengt, danach mit 5 ml iso-Octan, 130 ml Wasser und Siedeperlen versetzt. Auf den Kolben wird die modifizierte CLEVENGER-Apparatur aufgesetzt und mit einem Kühler versehen. Der Kolbeninhalt wird 2 Stunden lang intensiv am Rückfluß gekocht. Ein aliquoter Teil der iso-Octan-Phase wird gemäß 5 nachgereinigt.

4.3.5 Besondere Hinweise

Zusatzversuche mit Clophen A 60 ergaben Wiederfindungsraten zwischen 80 und 105 % für die einzelnen PCB-Komponenten bis zur Verbindung 2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorbiphenyl (PCB Nr. 180), wobei die niedrig chlorierten Biphenyle höhere Wiederfindungsraten als die höher chlorierten Biphenyle haben. Das 2,2',3,3',4,4',5-Heptachlorbiphenyl (PCB Nr. 170) findet man zu 75 % wieder. Eine Verlängerung der Rückflußdauer ergibt keine wesentliche Steigerung der Ausbeute.

5. Zusätzliche Reinigungsmethoden

5.1 Allgemeine Hinweise

Wegen der hohen Empfindlichkeit und der geringen Spezifität der gaschromatographischen Untersuchungen mit dem Elektroneneinfangdetektor müssen sämtliche verwendeten Chemikalien, Lösungsmittel und Laborgeräte speziell für die Rückstandsanalytik vorgereinigt werden. Durch häufig wiederholte Kontrollproben (Konzentrieren der Lösungsmittel, Leerwertuntersuchungen) muß nachgeprüft werden, ob der Untersuchungsgang nicht durch störende Verunreinigungen beeinträchtigt wird.

In einigen Fällen sind die nach den Methoden 4.1 und 4.2 erhaltenen Extrakte ausreichend sauber für die Bestimmung mittels Gaschromatographie nach Abschnitt 6. Hierzu müssen die eingeengten Endeluate mit wenig iso-Octan in einen Meßkolben überführt und auf ein definiertes Volumen aufgefüllt werden. In vielen Fällen ist jedoch eine zusätzliche Nachreinigung erforderlich. Diese kann im einfachsten Fall aus einem Ausschütteln mit konz. Schwefelsäure nach 5.2 bestehen, wobei allerdings einige Organochlor-Pestizide zerstört werden. Für die gleichzeitige Bestimmung der Organochlor-Pestizide und der PCBs hat sich als Nachreinigung die Chromatographie über eine Mini-Kieselgelsäule nach 5.3 besonders bewährt, zumal dadurch eine teilweise Abtrennung der PCBs von einigen Pestiziden möglich ist. Eine weitergehende Abtrennung von Organochlor-Pestiziden, die bei Anwesenheit von Camphechlor-Rückständen obligatorisch ist, wird durch eine größere Kieselgelsäule nach 5.4 erreicht. In beiden Fällen ist durch Kontrolluntersuchungen sicherzustellen, daß die PCBs vollständig in den angegebenen Eluaten enthalten sind, und daß das Endeluat keine anderen interferierenden Peaks enthält.

5.2 Nachreinigung mit konz. Schwefelsäure

5.2.1 Geräte

Standzylinder mit Glasstopfen, 5 bzw. 10 ml
 Pipette, 2 ml

5.2.2 Reagenzien

Schwefelsäure, konzentriert, p. a.

5.2.3 Arbeitsvorschrift

Ein aliquoter Teil der nach 4.1 bis 4.3 erhaltenen gereinigten Probenextrakte in iso-Octan (üblicherweise 2 ml) wird mit der Pipette in den Standzylinder überführt. Nach Zugabe des gleichen Volumens konz. Schwefelsäure wird intensiv geschüttelt. Danach lässt man die Mischung bis zur vollständigen Trennung der Phasen stehen. Die iso-Octanlösung kann unmittelbar in den Gaschromatographen injiziert werden.

Bei stärkerer Verschmutzung der Extrakte kann das Ausschütteln wiederholt werden, indem man die iso-Octanlösung vorsichtig abpipettiert und mit frischer Schwefelsäure schüttelt.

5.3 Nachreinigung durch eine Mini-Kieselgelsäule [12]

5.3.1 Geräte

Chromatographierohr, 7 mm i. D., Länge 23 cm mit ausgezogenem Auslauf

Rundkolben, 50 ml

Rotationsverdampfer mit Zubehör (Badtemperatur 30–40° C)

5.3.2 Reagenzien

n-Hexan, zur Rückstandsanalyse

iso-Octan, zur Rückstandsanalyse

Toluol, zur Rückstandsanalyse

Wasser, destilliert in Glasapparatur

Elutionsmittel 1: Hexan-Toluol-Gemisch 65 + 35 Volumenanteile

Elutionsmittel 2: Toluol

Kieselgel, desaktiviert mit 1,5 % Wasser: Kieselgel 60, 70–230 mesh (Merck Nr. 7734) erhitzt man mindestens 5 h auf 130° C, lässt im Exsikkator abkühlen und bewahrt es in einem dicht schließenden Gefäß im Exsikkator auf. 98,5 g davon versetzt man in einem 300-ml-Erlenmeyerkolben mit Schliff tropfenweise mit 1,5 ml Wasser aus einer Bürette unter laufendem Umschwenken. Der Kolben wird sofort mit einem Schliffstopfen verschlossen, 5 min lang intensiv geschüttelt, so daß keine Klumpen mehr sichtbar sind, 2 h lang auf einer Schüttelmaschine geschüttelt und danach dicht verschlossen aufbewahrt.

Glaswolle, mit Dichlormethan erschöpfend extrahiert
Natriumsulfat, p. a., wasserfrei, mind. 2 Std. auf 550° C erhitzt

5.3.3 Arbeitsvorschrift

Das Chromatographierohr wird über dem Auslauf mit einem Glaswollepropfen verschlossen. Darauf schichtet man 1,0 g desaktiviertes Kieselgel und darüber 5–10 mm hoch Natriumsulfat. Die Füllung wird schließlich mit Glaswolle abgedeckt.

Vor dem Gebrauch wäscht man die Säule mit 5 ml Hexan und verwirft das Eluat. Sobald das Hexan zur Oberfläche der Säulenfüllung abgelaufen ist, wird der nach 4. erhaltene Probenextrakt in iso-Octan mit einer Pipette auf die Kieselgelsäule überführt und mit etwa 1 ml Hexan nachgespült. Anschließend spült man den Kolben mit 2 ml Elutionsmittel 1, die man auf die Säule gibt, sobald das Hexan die Oberfläche der Säulenfüllung erreicht hat. Von diesem Zeitpunkt an wird das Eluat in einer Vorlage aufgefangen. Man eluiert mit weiteren 6 ml Elutionsmittel 1. Diese Lösung bildet das Eluat 1.

Der zum Einengen verwendete Kolben wird weiterhin mit 2 ml Toluol (Elutionsmittel 2) ausgespült, die als nächstes auf die Säule gegeben werden. Man fängt die Lösung in einer zweiten Vorlage auf und eluiert mit 6 ml Toluol. Diese Lösung bildet das Eluat 2.

Die Verteilung der Organochlorverbindungen auf die beiden Eluate ist in Tab. 2 wiedergegeben.

Tabelle 2: Verteilung der Organochlorverbindungen bei der Kieselgel-Säulenchromatographie nach 5.3.3

Stoff	Eluat 1	Eluat 2
Polychlorierte Biphenyle	+++	—
Aldrin	+++	—
Campechchlor	+++	—
α-Chlordan	+++	—
γ-Chlordan	+++	—
Chlorfenson	(+)	+++
o,p'-DDD	+++	—
p,p'-DDD	+++	—
o,p'-DDE	+++	—
p,p'-DDE	+++	—
o,p'-DDT	+++	—
p,p'-DDT	+++	—
Dicofol	+	+++
Dieldrin	—	++++
α-Endosulfan	+	+++
β-Endosulfan	—	++++
Endosulfansulfat	—	++++
Endrin	—	++++
Fenson	—	++++
Heptachlor	+++	—
Heptachlorepoxyd	++	+
Hexachlorbenzol	+++	—
α-Hexachlorcyclohexan	+++	—
β-Hexachlorcyclohexan	+++	—
γ-Hexachlorcyclohexan	+++	—
δ-Hexachlorcyclohexan	+++	—
Isodrin	+++	—
Methoxychlor	—	+++
Oxychlordan	+++	(+)
Quintozen	+++	—
Tecnazen	+++	—
Tedradifon	—	+++
Tetrasul	+++	—

(+) unter 10 %
+ etwa 10–30 %
++ etwa 30–60 %
+++ etwa 60–90 %
++++ über 90 %

Soll nur der Gehalt an polychlorierten Biphenylen bestimmt werden, so wird die Mini-Kieselgelsäule nach dem Auftragen des Probenextraktes nur mit 12 ml n-Hexan eluiert. In dem so erhaltenen Eluat sind die PCBs vollständig enthalten, darüber hinaus auch ein Teil der Organochlor-Pestizide aus Eluat 1 gemäß Tab. 2.

Für die gaschromatographische Untersuchung nach 6. werden die erhaltenen Eluate mit 5 ml iso-Octan versetzt und bis zur Entfernung des n-Hexans bzw. Toluols eingeengt. Der Rückstand (etwa 1 ml) wird mit wenig iso-Octan in einen Meßkolben überführt und auf ein definiertes Volumen aufgefüllt.

5.4 Nachreinigung und Auftrennung der Organochlorverbindungen durch eine Kieselgelsäule, insbesondere zur Abtrennung der PCBs von Camphechlor [9]

5.4.1 Geräte

Chromatographiesäule, i. D. 1 cm, ca. 30 cm lang, mit Teflonküken

Rotationsverdampfer mit Zubehör (Badtemperatur 30–40°C)

Rundkolben

5.4.2 Reagenzien

Kiegelgel 60, 70–230 mesh (Merck Nr. 7734), durch mind. 5stündiges Erhitzen auf 130°C aktiviert

Natriumsulfat, p. a., wasserfrei, 2 Std. bei 650°C geglättet

Dichlormethan, zur Rückstandsanalyse

n-Hexan, zur Rückstandsanalyse

iso-Octan, zur Rückstandsanalyse

Elutionsmittel 1 : n-Hexan

Elutionsmittel 2 : 60 Vol.-% Dichlormethan + 40 Vol.-% n-Hexan

5.4.3 Arbeitsvorschrift

In die Chromatographiesäule werden nacheinander Glaswolle (Stopfen), eine 1 cm hohe Schicht Natriumsulfat, 5 g Kieselgel und nochmals eine 1 cm hohe Schicht Natriumsulfat gegeben. Die Säule wird zunächst mit 60 ml n-Hexan vorgewaschen. Wenn das n-Hexan fast in die Säulenfüllung eingedrungen ist, wird der nach 4. erhaltene Extrakt in iso-Octan quantitativ auf die Säule gebracht. Danach wird mit 60 ml des Elutionsmittels 1 eluiert. Nach dem Wechseln der Vorlage wird anschließend mit 60 ml des Elutionsmittels 2 eluiert. Die Eluate werden jeweils mit 5 ml iso-Octan versetzt und am Rotationsverdampfer vorsichtig auf etwa 1 ml eingeengt. Der Rückstand wird mit wenig iso-Octan in einen Meßkolben überführt und auf ein definiertes Volumen aufgefüllt.

Das Eluat 1 enthält alle PCBs, einige Organochlor-Pestizide (Hexachlorbenzol, Pentachlornitrobenzol, Heptachlor, Aldrin, p,p'-DDE, Mirex, zu einem Teil Tetrachlornitrobenzol, o,p'-DDE und o,p'-DDT) sowie unbedeutende Anteile an Camphechlor, die jedoch die Bestimmung der PCB-Einzelkomponenten nicht stören. Im Eluat 2 sind Camphechlor und die restlichen Organochlor-Pestizide enthalten.

5.4.4 Besondere Hinweise

Das Elutionsverhalten der einzelnen Stoffe ist in starkem Maße von der Aktivität des Kieselgels abhängig und muß daher regelmäßig überprüft werden. Gegebenenfalls sind die Mengen der Elutionsmittel den Bedingungen anzupassen, so daß eine optimale Trennung zwischen PCBs und Camphechlor erreicht wird.

6. Gaschromatographische Bestimmung

6.1 Allgemeine Hinweise

Die qualitative und quantitative Bestimmung der PCBs in den gereinigten Extrakten erfolgt mittels Kapillar-Gaschromatographie unter Verwendung eines Elektroneneinfang-Detektors. Diese Aufgabe setzt voraus, daß dafür erfahrene Kräfte eingesetzt werden können, die mit der Technik der Kapillar-Gaschromatographie gut vertraut sind. Weiterhin wird vorausgesetzt, daß dafür leistungsfähige Geräte zur Verfügung stehen.

Die Praxis hat gezeigt, daß trotz Anwendung unterschiedlicher gaschromatographischer Bedingungen, die teilweise auch durch die unterschiedliche apparative Ausrüstung bedingt sind, gleichwertige Ergebnisse erzielt werden können. Andererseits garantiert die Festlegung einheitlicher Parameter für die Gaschromatographie keineswegs die gleiche Qualität der Ergebnisse.

Daher wird davon abgesehen, Einzelheiten der gaschromatographischen Bedingungen im Rahmen dieser Empfehlung festzulegen. Es wird erwartet, daß der Rückstandsanalytiker selbst in der Lage ist, die einwandfreie Qualität der Kapillar-Gaschromatogramme zu garantieren. Er muß insbesondere darauf achten, daß die ausreichende Trennleistung der GC-Säulen durch wiederholte Einspritzung von Testgemischen sowie durch Berechnung der theoretischen Böden kontrolliert wird und daß die Empfindlichkeit des Detektors konstant bleibt.

6.2 Anforderungen an die Kapillar-Gaschromatographie

Das hier verwendete gaschromatographische System muß die einwandfreie qualitative und quantitative Bestimmung der ausgewählten PCB-Einzelkomponenten gewährleisten. Hierzu sind die GC-Bedingungen, insbesondere Säulenlänge und Temperaturprogramme, soweit zu optimieren, daß diese Bedingung erfüllt wird. Vor allem müssen Interferenzen mit anderen Organochlorverbindungen ausgeschaltet sein. Als Kriterium für die Trennleistung des GC-Systems ist die ausreichende Abtrennung des 2,4,4'-Trichlorbiphenyls (Nr. 28) vom 2,4',5-Trichlorbiphenyl (Nr. 31) zu betrachten, die mit zunehmender Polarität der stationären Phase verbessert wird.

Weiterhin muß sichergestellt werden, daß keine Interferenz zwischen dem 2,2',4,5,5'-Pentachlorbiphenyl (Nr. 101) und dem o,p'-DDE bzw. α -Thiodan, zwischen dem 2,2',4,4',5,5'-Hexachlorbiphenyl (Nr. 153) und Thiodansulfat sowie zwischen dem 2,2',3,4,4',5'-Hexachlorbiphenyl (Nr. 138) und dem p,p'-DDT auftritt. Bei Anwesenheit von Camphechlor in der Probe ist eine Störung der PCB-Bestimmung nur

nach säulenchromatographischer Abtrennung gemäß 5.4 zu vermeiden.

6.3 Gaschromatographische Bedingungen

6.3.1 Kapillarsäule

Auf Grund ihrer Trennleistung, Lebensdauer und mechanischen Eigenschaften haben sich die sog. »fused silica«-Säulen besonders bewährt, die bei einem inneren Durchmesser von 0,20 bis 0,35 mm Längen zwischen 20 und 50 m aufweisen. Als Belegung werden zumeist folgende stationäre Phasen verwendet:

SE-30 (entspricht OV-1, DB-1, CP Sil 5, BP-1 u. a.)

SE-54 (entspricht DB-5, CP Sil 8, BP-5 u. a.)

OV-17

DB-1701

Apiezon

Es wird empfohlen, zwei Kapillarsäulen unterschiedlicher Polarität zu verwenden.

6.3.2 Temperaturen der Kapillarsäulen

Bei den bewährten Chromatographie-Techniken wird die Anfangstemperatur der Kapillarsäulen bei der Injektion um 10–30° unter dem Siedepunkt des Lösungsmittels gehalten.

Bei dem hier verwendeten iso-Octan entspricht das eine Temperatur von 90° C. Um eine möglichst große Fokussierung der Probe auf der Säule zu erreichen, empfiehlt es sich, diese niedrige Säulenfangstemperatur so lange beizubehalten, bis der Hauptanteil des Lösungsmittels die Säule verlassen hat. Anschließend wird mit hoher Temperaturanstiegsrate die Säule aufgeheizt. Danach beginnt das eigentliche Temperaturprogramm mit flacher Anstiegsrate, um eine weitgehende Auftrennung der PCBs zu erzielen. Nachdem die letzten PCBs den Detektor passiert haben, kann u. U. eine längere Zeit bei höherer Säulentemperatur (Ausheizen) erforderlich werden, um andere Bestandteile mit längerer Retentionszeit zu entfernen, da anderenfalls Interferenzen im nachfolgenden Chromatogramm auftreten können.

Als Beispiele werden die GC-Bedingungen für zwei Kapillarsäulen unterschiedlicher Polarität beschrieben, die hier verwendet wurden:

Säule A (s. Abb. 1):

50 m fused silica-Säule

i. D.: 0,34 mm; Filmdicke: 0,24 µm

Phase: CP Sil 8

Injektion: 1 µl, splitless (1 min)

Trägergas: Helium, 1,5 bar

Make-up-Gas für ECD: Stickstoff, 35 ml/min

Temperaturen:

Injektor: 250° C; Detektor: 350° C

Säulenofen:	Temp. (°C)	Rate (°C/min)	Dauer (min)
90	–	4	
90–160	35	2	
160	–	1	
160–244	3	28	
244	–	10	

Säule B (s. Abb. 2):

25 m fused silica-Säule

i. D.: 0,32 mm; Filmdicke: 1 µm

Phase: DB-1

Injektion: 1 µl, splitless (1 min)

Trägergas: Helium, 0,8 bar

Make-up-Gas für ECD: Stickstoff, 35 ml/min

Temperaturen:

Injektor: 250° C; Detektor: 300° C

Säulenofen:	Temp. (°C)	Rate (°C/min)	Dauer (min)
90	–	–	3
90–160	35	–	2
160	–	–	1
160–220	2	–	30
220–240	5	–	4
240	–	–	10

In den Abb. 1 u. 2 sind die Chromatogramme wiedergegeben, die bei der Injektion einer Clophen-Mischung (A 30 + A 40 + A 50 + A 60) unter den hier angegebenen GC-Bedingungen erhalten wurden. Die 6 ausgewählten Einzelkomponenten sind durch Pfeile gekennzeichnet.

6.3.3 Trägergase

Als Trägergas sollten nach Möglichkeit Wasserstoff oder Helium verwendet werden. Bei Verwendung von Wasserstoff sind die entsprechenden Sicherheitsvorschriften zu beachten. Außerdem kann Wasserstoff die Empfindlichkeit und Konstanz des ECD bei bestimmten GC-Modellen nachteilig beeinflussen. Die Verwendung von Stickstoff als Trägergas führt zu längerer Chromatographiedauer und geringerer Trennleistung.

6.3.4 Probenaufgabe

Für die Injektion der Probenextrakte haben sich zwei Techniken bzw. Vorrichtungen besonders bewährt:

a) Splitlose Probenaufgabe nach GROB

Das Ventil des Splitausganges wird kurz vor der Injektion geschlossen und danach für eine bestimmte Zeit (z. B. 1 min) geschlossen gehalten. Die Dauer dieser Schließzeit sollte durch Messung der Höhen bzw. Flächen eines Peaks einer spät eluierenden PCB-Einzelkomponente (z. B. 138 oder 180) in Abhängigkeit von der Schließzeit (ca. 0,5–5 min) optimiert werden. Die Splitstelle sollte möglichst beheizt sein (z. B. Injektorblock) und nicht innerhalb des Säulenofens liegen. Bei den Injektionen von Probe und Standard müssen unbedingt gleiche Lösungsmittel und gleiche Volumina verwendet werden. Zur Vermeidung von »Memory-Peaks« muß die Injektortemperatur über der maximalen Säulentemperatur liegen. Zusätzlich ist eine Septumspülung zu empfehlen. Der Glaseinsatz des Injektors ist ggf. häufiger zu reinigen, um Peakdiskriminierungen spät eluierender Verbindungen zu verringern.

b) »On-column«-Injektion

Bei dieser Technik wird die Probe mittels einer speziellen Vorrichtung durch eine dünne Kapillare direkt in die Kapillarsäule injiziert. Hierbei ist dar-

auf zu achten, daß eine Rückdiffusion der Probe zum Säulenbeginn vermieden wird. Als Vorteil dieser Probenaufgabetechnik ist die Vermeidung der Peakdiskriminierung hervorzuheben, jedoch sind dabei oftmals Peakverbreiterungen und Tailing zu beobachten.

6.4 Bestimmungsgrenze

Als Bestimmungsgrenze wird die Konzentration eines Stoffes in einem Lebensmittel definiert, die im Chromatogramm dieses Lebensmittelextraktes einem Peak der unteren auswertbaren Höhe h entspricht, wobei

$$h = h_{BI} + 2W_{BI}$$

ist.

h_{BI} = Mittelwert der Höhe des Blindwertes

W_{BI} = Variationsbreite des Blindwert-Störpegels

Der Wert W_{BI} ist dabei graphisch als die mittlere Breite des Rauschbandes beim Blindwert zu bestimmen.

Bei gaschromatographischen Bestimmungen kann davon ausgegangen werden, daß die in dieser Weise definierte Bestimmungsgrenze gleichzeitig auch die Nachweisgrenze darstellt.

Nach dieser Definition wurde bei den hier durchgeführten Untersuchungen in Abhängigkeit vom jeweiligen Substrat für die PCB-Einzelkomponenten eine Bestimmungsgrenze im Bereich von 0,1 bis 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ermittelt.

7. Auswertung der Untersuchungsergebnisse

7.1 Standardsubstanzen

Die hier ausgewählten PCB-Einzelkomponenten (siehe Einleitung) sind sowohl in reiner Form als auch in Lösungen im Handel erhältlich. Da von einigen Komponenten nur sehr geringe Mengen erhältlich sind, ist bei der Einwaage der Stoffe und bei der Herstellung bzw. Verdünnung der Standardlösungen besonders sorgfältig zu arbeiten.

Es ist unbedingt darauf zu achten, daß die Standardsubstanzen und Proben im gleichen Lösungsmittel gelöst sind, da sich sonst veränderte Verdampfungsprofile ergeben, die zu veränderten Retentionszeiten und Peakflächen bzw. -höhen führen können. Es sind z. B. Peakhöhenvergrößerungen um 35 % beim Wechsel des Lösungsmittels von iso-Octan zu Toluol festgestellt worden.

Sollten die PCB-Einzelkomponenten nicht in reiner Form verfügbar sein, so kann als Notbehelf auch die Lösung eines Gemisches aus Clophen A 30 und Clophen A 60 verwendet werden. Der genaue Gehalt an den Einzelkomponenten in dieser Lösung ist dabei durch Umrechnung der von SCHULTE u. MALISCH [10] ermittelten Konzentrationen der Einzelkomponenten in diesen technischen PCBs zu berechnen.

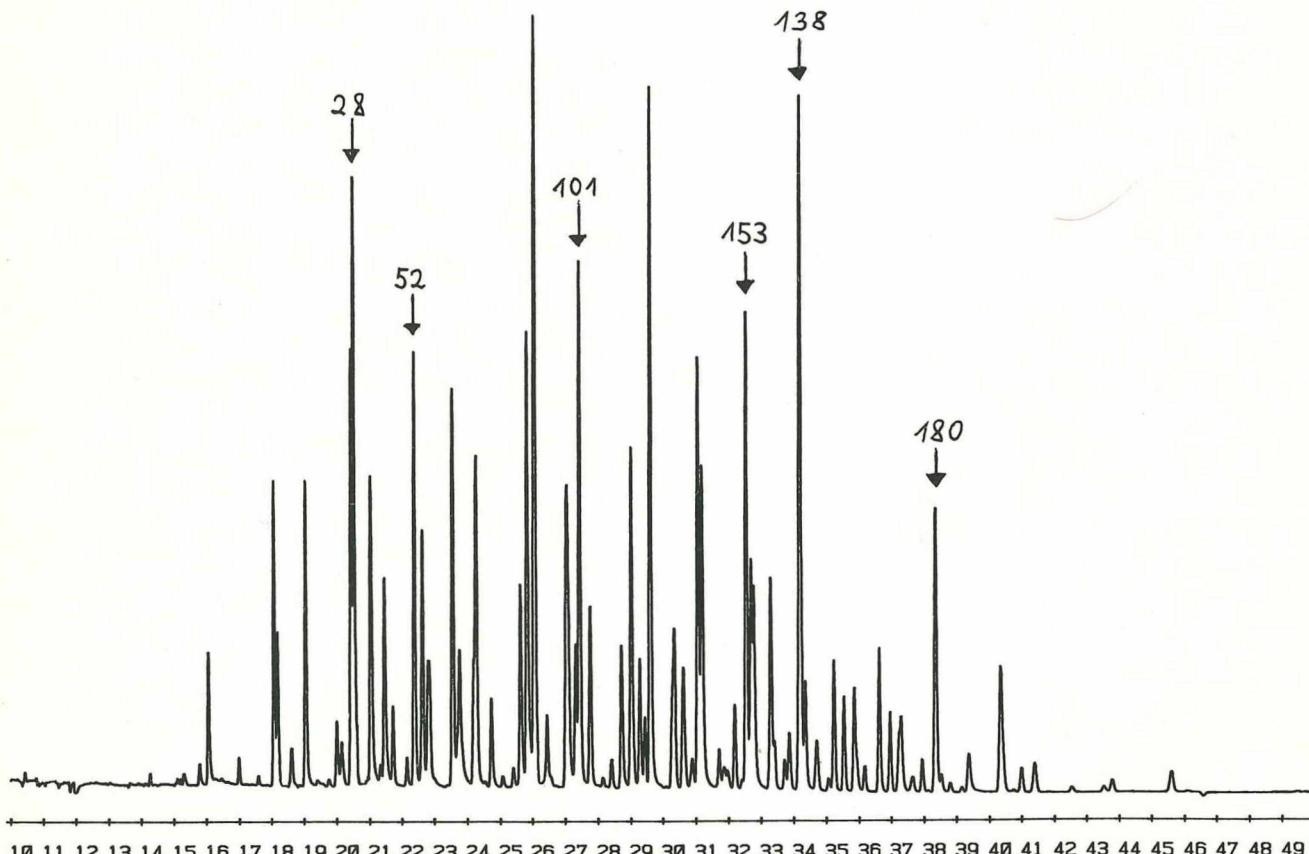


Abb. 1: Gaschromatogramm einer PCB-Mischung auf einer CP Sil 8-Kapillarsäule (Säule A, GC-Bedingungen s. o.).

7.2 Berechnung und Angabe der Ergebnisse

Die quantitative Auswertung erfolgt durch die Bestimmung der Peakflächen oder -höhen der PCB-Einzelkomponenten im Probenextrakt und Vergleich mit den Flächen bzw. Höhen aus einer Standardlösung bekannter Konzentration. Durch Ermittlung von Eichkurven ist sicherzustellen, daß im (annähernd) linearen Bereich des Elektroneneinfangdetektors gearbeitet wird. Die Verwendung von internen Standards (z. B. Isodrin; 1,2,3,4-Tetrachlornaphthalin; Hexabrombenzol) zur Verringerung des Einspritzfehlers hat sich in vielen Labors bewährt.

Die im Gaschromatogramm direkt gemessene Rückstandsmenge jeder Einzelkomponente ist je nach Lebensmittel auf den Fettgehalt oder das Gesamtge wicht der Probe umzurechnen. Als Ergebnis der Rückstandsuntersuchung ist dieser Gehalt für jede Einzelkomponente anzugeben, ohne daß der Wert durch den Faktor für die Wiederfindungsrate (recovery) korrigiert wird.

Eine Addition der Gehalte an den PCB-Einzelkomponenten (»Summe der PCBs«) ist unzulässig, da ein solcher Wert nichts aussagt. Auch andere Hochrechnungen auf einen fiktiven »Gesamtgehalt an PCBs« (z. B. »berechnet als Clophen A 60«) sind nicht sinnvoll, da sie

auf der zumeist unzutreffenden Annahme basieren, daß das PCB-Verteilungsmuster in der Probe mit dem des technischen PCB-Handelsproduktes voll übereinstimmt.

Es ist zu beachten, daß eine quantitative Bestimmung nur dann möglich ist, wenn die Wiederfindungsrate des Stoffes bei den Einzelbestimmungen mindestens 80 % beträgt. Die Einhaltung dieser Bedingung ist durch wiederholte Messungen der Wiederfindungsrate aus Proben mit bekannten Zusätzen zu überprüfen.

7.3 Streubereiche der Meßwerte

Für exakte Angaben über die Vergleichbarkeit von PCB-Rückstandsanalysen unterschiedlicher Laboratorien nach den hier empfohlenen Methoden liegen z. Z. noch keine ausreichenden Daten vor. Auf Grund einer Abschätzung aus den bisherigen Erfahrungen ist für die Meßwerte jeder einzelnen Verbindung mit einem konzentrationsabhängigen Streubereich zu rechnen, der

bei 0,001 mg/kg etwa 100 %
bei 0,010 mg/kg etwa 50 % und
bei 0,100 mg/kg etwa 25 %

beträgt.

Zwischenwerte sind entsprechend zu interpolieren (die graphische Darstellung ergibt im doppelt logarithmischen Maßstab eine Gerade).

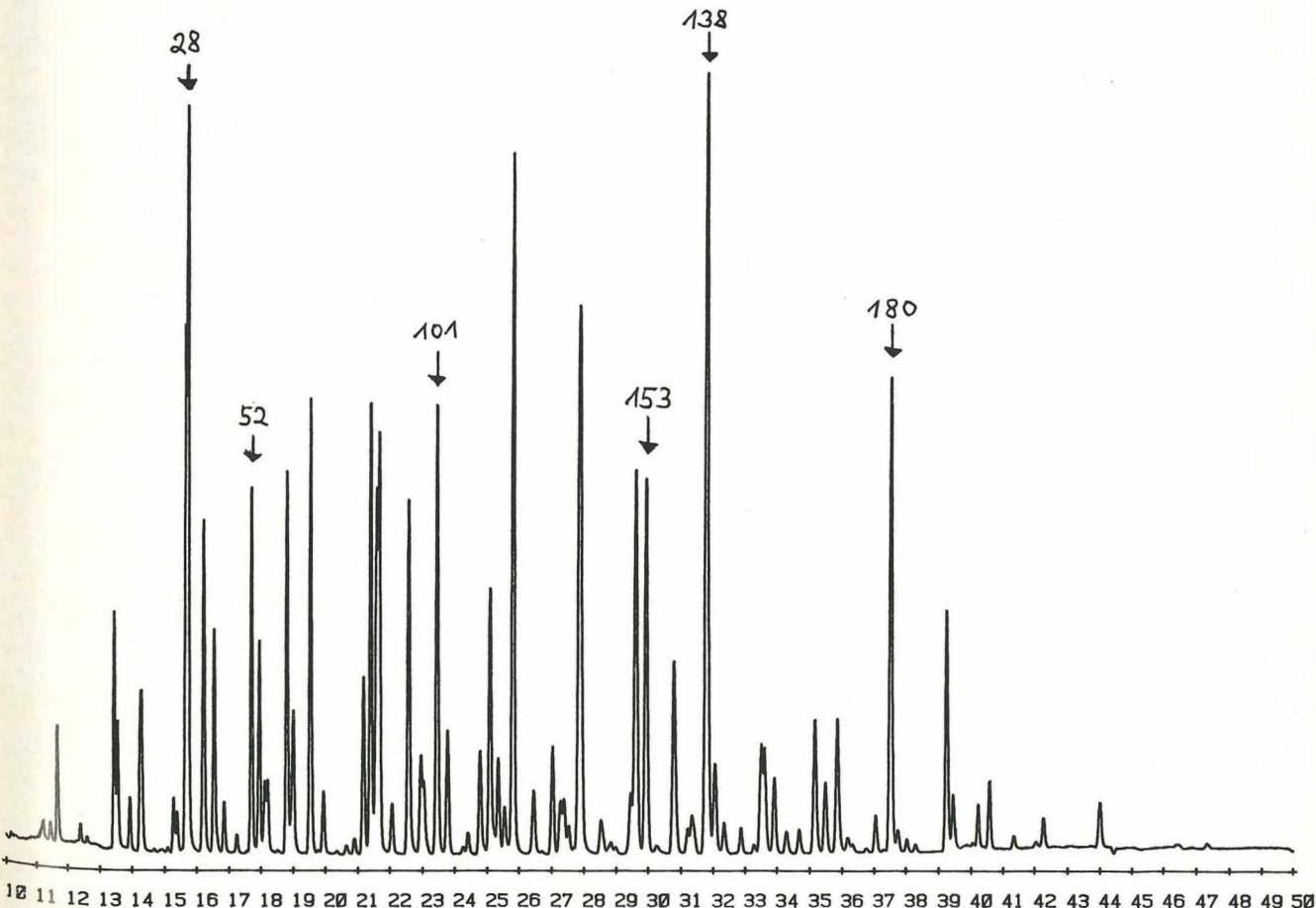


Abb. 2: Gaschromatogramm einer PCB-Mischung auf einer DB-1-Kapillarsäule (Säule B, GC-Bedingungen s. o.).

Nach dem derzeitigen Stand der Erkenntnisse ist davon auszugehen, daß diese Konzentrationsabhängigkeit des Streubereichs oberhalb 0,1 mg/kg nicht mehr gegeben ist, so daß auch bei höheren Konzentrationen als 0,1 mg/kg mit einem Streubereich von 25 % zu rechnen ist.

8. Literatur

- [1] Ballschmiter, K., and Zell, M.: Analysis of Polychlorinated Biphenyls (PCB) by Glass Capillary Gas Chromatography – Composition of Technical Arochlor- and Clophen-PCB Mixtures. *Z. Anal. Chem.* **302** (1980) 20–31.
- [2] Beck, H. (Bearb.): Untersuchungsmethoden zur Bestimmung der Rückstände von Chlorkohlenwasserstoff-Pestiziden in oder auf Lebensmitteln tierischer Herkunft. *Bundesgesundhbl.* **17** (1974) 269–276.
- [3] –, u. Mathar, W.: Rückstandsanalytik von polychlorierten Biphenylen. In: *Tätigkeitsbericht 1982 des Bundesgesundheitsamtes*, S. 43. Dietrich Reimer-Verlag, Berlin.
- [4] –, u. Mathar, W.: Zur Bestimmung von PCB in Lebensmitteln. In: *Tätigkeitsbericht 1983 des Bundesgesundheitsamtes*, S. 33. Dietrich Reimer-Verlag, Berlin.
- [5] Buchholz, H., Carl, M., Beck, H., u. Tuinstra, L. G. M. Th.: Kapillargaschromatographie »signifikanter« Chlorbiphenyle, ein Konzept für die Routineanalytik polychlorierter Biphenyle und seine Prüfung im Ringversuch. *Landwirtschaftl. Forsch.* (im Druck).
- [6] In Anlehnung an Ernst, W., Eder, G., Schaefer, R. G. u. Goerke, H.: Aufarbeitung von Meerestieren für die Bestimmung von PCB, DDT, DDE, γ -HCH und HCB. *Z. Anal. Chem.* **272** (1974) 358–363.
- [7] Langlois, B. E., Stemp, A. R., and Liska, B. J.: Rapid Cleanups of Dairy Products for Analysis of Chlorinated Insecticide Residue by Electron Capture Gas Chromatography. *J. Agr. Food Chem.* **12** (1964) 243–245.
- [8] Mathar, W., u. Beck, H.: Einfache Aufarbeitung von fetthaltigen Lebensmitteln zur Bestimmung von PCB-Rückständen mittels Wasserdampfdestillation. *Lebensmittelchem. Gerichtl. Chem.* **37** (1983) 147–148.
- [9] Modifiziert nach Ribick, M. A., Dubay, G. R., Petty, J. D., Stalling, D. H., and Schmitt, C. J.: Toxaphene Residue in Fish: Identification, Quantification, and Confirmation at part per billion Levels. *Environ. Sci. Technol.* **16** (1982) 310–318.
- [10] Schulte, E., u. Malisch, R.: Berechnung der wahren PCB-Gehalte in Umweltproben. I. Ermittlung der Zusammensetzung zweier technischer PCB-Gemische. *Z. Anal. Chem.* **314** (1983) 545–551.
- [11] –, and Malisch, R.: Calculation of the Real PCB Content in Environmental Samples; II. Gas Chromatographic Determination of the PCB Concentration in Human Milk and Butter. *Z. Anal. Chem.* **319** (1984) 54–59.
- [12] Specht, W., u. Tillkess, M.: Gaschromatographische Bestimmung von Rückständen an Pflanzenbehandlungsmitteln nach Clean-up über Gel-Chromatographie und Mini-Kieselgel-Säulen-Chromatographie. 3. Mitt.: Methode zur Aufarbeitung von Lebensmitteln und Futtermitteln pflanzlicher und tierischer Herkunft für die Multirückstandsbestimmung lipoid- und wasserlöslicher Pflanzenbehandlungsmittel. *Z. Anal. Chem.* **301** (1980) 300–307.
- [13] Steinwander, H.: Contributions to Silica Gel Application in Pesticide Residue Analysis. IV. On-Line Method for Extracting and Isolating Chlorinated Hydrocarbon Pesticides and Polychlorinated Biphenyls (PCBs) from Meat and Fish Products. *Z. Anal. Chem.* **314** (1983) 129–130.
- [14] Stijve, T., and Cardinale, E.: Rapid Determination of Chlorinated Pesticides, Polychlorinated Biphenyls and a Number of Phosphated Insecticides in Fatty Foods. *Mitt. Lebensmittelunters. Hyg.* **65** (1974) 131–150.

Anschr. d. Verff.: Wiss. Dir. Dr. H. BECK u. Wiss. Rat W. MATHAR,
Max von Pettenkofer-Institut des Bundesgesundheitsamtes, Thielallee 88–92, 1000 Berlin 33.