

**BESTIMMUNG VON BROMIERTEN
UND GEMISCHT BROMIERT-CHLORIERTEN
UMWELTKONTAMINANTEN
IN BIOLOGISCHEN MATRIZES
MIT HRGC-HRMS**

von Alexander Kotz

**BESTIMMUNG VON BROMIERTEN UND
GEMISCHT BROMIERT-CHLORIERTEN UMWELTKONTAMINANTEN
IN BIOLOGISCHEN MATRIZES MIT HRGC-HRMS**

INAUGURALDISSERTATION

zur

Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie

vorgelegt der

Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Basel

von

Alexander Kotz

aus Mutlangen (Deutschland)

Freiburg 2006

Genehmigt von der Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät

auf Antrag von

Prof. Dr. Michael Oehme

Dr. Peter Fürst

Basel, den 02.05.2006

Prof. Dr. Hans-Jakob Wirz

Dekan

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Prof. Dr. Michael Oehme am Institut für Organisch Analytische Chemie der Universität Basel und am Chemischen und Veterinäruntersuchungsamt Freiburg angefertigt.

Danksagungen

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Michael Oehme für die Möglichkeit diese Arbeit an seinem Institut anzufertigen, seine Unterstützung und Hilfsbereitschaft sowie die zahlreichen Anregungen und kritischen Diskussionen.

Für die Betreuung am Chemischen und Veterinäruntersuchungsamt in Freiburg möchte ich mich bei Dr. Rainer Malisch und Dr. Karin Kypke bedanken. Ihre Unterstützung und Hilfsbereitschaft bei der praktischen Durchführung hat wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Bei den Kollegen des Arbeitskreises an der Universität Basel - Dorrit Griesshaber, Jana Hüttig, Ingrid Langlois, Margot Reth, Elie Fux, Sven Heekmann, Saverio Iozza, Fernando Romero, Fabian Stapf und Zdenek Zencak - möchte ich mich für die freundschaftliche Aufnahme und wertvolle Diskussionen bedanken.

Mein besonderer Dank gilt auch den Mitarbeitern des Dioxinlabors am CVUA Freiburg, mit denen die Zusammenarbeit sehr viel Spaß gemacht hat. Kornelia Adamovic, Indra Gerteisen und Renate Tritschler im Aufarbeitungsbereich sowie Helmut Winterhalter im Messbereich haben mich stets tatkräftig unterstützt und immer wieder motiviert. Hier gilt der Dank auch Jutta Schächtele, Ina Wegert, Ralf Brandstetter, Kerstin Wahl und Christian Wambold für ihre Unterstützung.

Für die Übersendung der Humanmilch- und Eierproben aus Guiyu (China) bedanke ich mich besonders bei Herrn Prof. Ming Hung Wong von der Hong Kong Baptist University.

Bedanken möchte ich mich bei Dr. Eva Annweiler und Franz-Josef Hansert des Massenspektrometrie-Labors am CVUA Freiburg für die Durchführung der HBCD-Messung mittels LC-MS/MS.

Abschließend danke ich besonders der Landesstiftung Baden-Württemberg für die Förderung dieses Projekts im Rahmen des Forschungsprogramms „Ernährung / Lebensmittelsicherheit“.

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	15
Abkürzungsverzeichnis.....	19
1 Einleitung	21
1.1 Geschichte der Flammschutzmittel und Überblick	21
1.2 Polybromierte Diphenylether	22
1.2.1 Nomenklatur und Struktur.....	22
1.2.2 Physikalische und chemische Eigenschaften	23
1.2.3 Abbau und Abbauprodukte	24
1.2.4 Bildung und Quellen	24
1.2.5 Einsatz und Wirkungsweise	25
1.2.6 Toxikologie	25
1.2.7 Umweltverhalten und Umweltkonzentrationen	25
1.2.7.1 Humanmilch	26
1.2.7.2 Tierische und pflanzliche Lebensmittel	27
1.3 Hexabromcyclododecan	28
1.4 Polyhalogenierte Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane.....	30
1.4.1 Struktur.....	30
1.4.2 Physikalische und chemische Eigenschaften	30
1.4.3 Photochemische Eigenschaften	31
1.4.4 Bildung und Quellen	31
1.4.4.1 Photochemische Bildung.....	31
1.4.4.2 Thermische Bildung	32
1.4.5 Umweltrelevanz und Gehalte in Umwelt- und Humanproben.....	32
1.4.5.1 Biota	33
1.4.5.2 Humanproben	33
1.4.6 Toxikologie	34
1.4.7 Toxizitätsäquivalent-Faktoren (TEF).....	35
1.5 Rechtliche Beurteilung in Deutschland und der EU	37
1.6 Stand der Technik.....	38
1.6.1 PBDE, PBDD/F und PXDD/F	38
1.6.1.1 Extraktion und Aufreinigung der Extrakte.....	38

1.6.1.2	Chromatographische Trennung und Messung.....	39
1.6.2	Hexabromcyclododecan	40
2	Ziel der Arbeit	42
3	Experimenteller Teil	43
3.1	Grundzüge der bestehenden Analytik für PCDD/F und PCB	43
3.2	Materialien	43
3.3	Glasgeräte.....	44
3.4	Referenzstandards	44
3.5	Standard- und Kalibrierlösungen	44
3.6	Herkunft der Proben	45
3.6.1	Lebensmittel- und Futtermittelproben.....	45
3.6.2	Humanmilchproben.....	46
3.6.3	Humanmilch- und Hühnereiproben aus Guiyu (China).....	47
3.7	Probenaufarbeitung zur Bestimmung von PBDE, PBDD/F und PXDD/F	49
3.8	Probenaufarbeitung zur Bestimmung von HBCD.....	51
3.9	Quantifizierung mit HRGC/HRMS.....	52
3.10	Quantifizierung von HBCD mittel HPLC/MS-MS.....	52
4	Ergebnisse und Diskussion	53
4.1	Qualitätssicherung.....	53
4.1.1	Identifikations- und Quantifizierungskriterien.....	53
4.1.2	Methodenvalidierung	54
4.1.2.1	PBDE.....	54
4.1.2.2	PBDD/F und PXDD/F.....	73
4.1.2.3	HBCD.....	77
4.2	Chromatographische Trennung und Interferenzen.....	80
4.2.1	PBDE.....	80
4.2.2	PBDD/F.....	86
4.2.3	PXDD/F.....	88
4.3	Untersuchungen von Humanmilch.....	93
4.3.1	PBDE-Gehalte.....	93
4.3.2	PBDE-Kongenerenmuster	98
4.3.3	PBDD/F.....	100
4.3.4	PXDD/F.....	104

4.3.5	Vergleich von PBDD/F mit PCDD/F.....	105
4.4	Untersuchung von Lebensmitteln und Futtermitteln.....	106
4.4.1	PBDE.....	106
4.4.2	Vergleich der PBDE-Gehalte mit denen von Indikator-PCB.....	112
4.4.3	Abschätzung der täglichen PBDE-Aufnahme aus Lebensmitteln.....	114
4.4.4	PBDD/F und PXDD/F.....	115
4.5	Proben aus Guiyu (China).....	115
4.5.1	PBDE.....	115
4.5.2	PBDD/F und PXDD/F.....	117
4.5.3	Gesamt-Dioxin-TEQ und Vergleich mit PBDE.....	118
5	Ausblick.....	120
6	Literatur.....	123
	Anhang.....	137
	Anhang 1: Chemikalien und Referenzstandards.....	137
	Anhang 2: Probenaufarbeitung zur Bestimmung von PBDE und PB/XDD/F.....	147
	Anhang 3: Probenaufarbeitung zur Bestimmung von HBCD.....	156
	Anhang 4: Quantifizierung mit HRGC/HRMS und LC/MS-MS.....	157

Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, die Analytik zur Bestimmung von polybromierten Diphenylethern (PBDE), polybromierten (PBDD/F) und gemischt bromiert-chlorierten (PXDD/F) Dibenzo-p-dioxinen und Dibenzofuranen in Lebensmitteln, Futtermitteln und Humanmilch zu entwickeln und zu validieren. Das Hauptaugenmerk lag dabei auf der Untersuchung von Lebensmittelproben aus Baden-Württemberg sowie von Humanmilch aus einer weltweiten WHO-Studie.

Dazu wurde die Bestimmung dieser Verbindungen mit einem bereits bestehenden Verfahren zum Nachweis von polychlorierten Dibenzo-p-dioxinen und Dibenzofuranen (PCDD/F) sowie polychlorierten Biphenylen (PCB) in einer Multimethode kombiniert. Nach der Gefriertrocknung der Probe wurde das Fett zusammen mit den Kontaminanten mit organischen Lösungsmitteln extrahiert. Die $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten internen Standards wurden bei fetthaltigen Lebensmittel dem extrahierten Fett zugesetzt. Das Fett und störende Begleitstoffe wurden anschließend mittels Gelpermeationschromatographie und Kieselgel-Schwefelsäure-Säule entfernt. Die Abtrennung der PBDE und PCB von den polyhalogenierten Dibenzo-p-dioxinen und Dibenzofuranen (PCDD/F, PBDD/F und PXDD/F) erfolgte an einer Florisil-Säule. Als weiterer Aufreinigungsschritt zur vollständigen Abtrennung der PBDE und PCB von den PBDD/F und PXDD/F kam eine Aktivkohle-Säule zum Einsatz.

Die Bestimmung von Hexabromcyclododecan (HBCD) konnte nicht vollständig in das bestehende Verfahren integriert werden und wurde separat durchgeführt. Das extrahierte Fett wurde mit einer Kieselgel-Schwefelsäure-Säule von den Analyten abgetrennt und anschließend mit einer Florisil-Säule aufgereinigt.

Die aufgearbeiteten Extrakte wurden mit einem System bestehend aus hochauflösender Gaschromatographie gekoppelt mit hochauflösender Massenspektrometrie mittels Isotopenverdünnungsanalyse quantifiziert. Zur gaschromatographischen Trennung der Kongenere kam routinemäßig eine 15-m-DB-5-Säule zum Einsatz.

Die für fetthaltige Lebensmittel, Futtermittel und Humanmilch entwickelte Bestimmungsmethode wurde hinsichtlich Einsetzbarkeit und Robustheit überprüft. Bei der PBDE-Analytik ergaben sich Wiederfindungsraten der $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten Kongenere zwischen 82 und 107 %. Die Blindwerte für die einzelnen Kongenere lagen in der Regel unter

20 pg/g Fett. Die Aufarbeitung von Qualitätskontrollproben mit bekannten PBDE-Gehalten diente der regelmäßigen Überprüfung des Gesamtverfahrens. Die durchschnittlichen Abweichungen vom Median lagen zwischen 5 und 24 %. Bei zwei Laborvergleichsuntersuchungen („Dioxins in Food“ 2004 und 2005) wurde die Simultanbestimmung von PBDE, PCDD/F und PCB überprüft. Dabei waren jeweils drei verschiedene Matrices sowie Standardlösungen zu untersuchen. Für die nachzuweisenden PBDE-Kongeneren ergaben sich keine Ausreißer mit Ausnahme bei dem sehr problematischen BDE 209.

Für PBDD/F und PXDD/F lagen die Wiederfindungsraten der isotope markierten Standards zwischen 43 und 103 %. Die Reagenzienblindwerte entsprachen für PBDD/F und PXDD/F mit Ausnahme der hepta- und octabromierten Dibenzofurane der Nachweisgrenze. Die Nachweisgrenzen waren ungefähr eine Größenordnung höher als diejenigen für PCDD/F. Da keine geeigneten biologischen Qualitätskontrollproben mit messbaren Gehalten an PBDD/F und PXDD/F zur Verfügung standen, wurden Realproben mit unmarkierten Kongeneren dotiert. Die Abweichungen vom dotierten Wert lagen in der Regel unter 16 %. Störungen von PCB traten bei der PBDE- und PXDD/F-Analytik auf. Die störenden PCB-Kongeneren hatten sehr ähnliche Isotopenverhältnisse und Retention wie die jeweiligen PXDF, konnten aber mit Hilfe einer Aktivkohle-Säule bei der Probenaufarbeitung entfernt werden.

Um sich ein Bild zu verschaffen, wie der Verbraucher über die Aufnahme von Lebensmitteln belastet wird, wurden Proben aus Baden-Württemberg mit dem Schwerpunkt auf fetthaltigen Lebensmitteln tierischen Ursprungs untersucht. Die mit Abstand höchsten PBDE-Gehalte wiesen fettreiche Wildfische aus Neckar und Rhein mit bis zu 50 ng/g Frischgewicht (FG) auf. Die Gehalte in allen anderen Lebensmitteln, auch in Zuchtfischen, lagen zwischen 0,005 bis 1,8 ng/g FG und damit um zwei bis vier Größenordnungen niedriger. Das PBDE-Kongenerenmuster für Lebensmittel wechselwarmer und gleichwarmer Tiere unterschied sich signifikant. Der PBDE-Gehalt korrelierte mit der PCB-Belastung im hohen Konzentrationsbereich bis ca. 100 ng/g FG für PBDE. Polybromierte und gemischt-halogenierte Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane konnten dagegen selbst in den mit PBDE hochbelasteten Fischen nicht nachgewiesen werden.

Wie sich Kontaminanten in der Nahrungskette bis zum Menschen anreichern, lässt sich direkt durch die Bestimmung in Humanmilch nachweisen. Um die Gehalte an bromierten

Kontaminanten weltweit vergleichen zu können, wurden Proben aus 24 Ländern der dritten Runde einer weltweiten WHO-Studie untersucht. Die PBDE-Konzentration in gepoolten Proben aus den USA waren mit 240 ng/g Fett um ca. zwei Größenordnungen höher als die der meisten anderen Länder, die Gehalte zwischen 0,7 und 24 ng/g Fett aufwiesen. Die wichtigsten Kongenere waren dabei die PBDE # 47, 99 und 153 in unterschiedlichen Anteilen.

Hauptsächlich 2,3,7,8-substituierte tetra- und pentabromierte PBDF konnten in den Humanmilchproben nachgewiesen werden. Der „WHO-PBDD/F-TEQ“, berechnet auf Grundlage des WHO-TEF (1997) für PCDD/F, lag zwischen 0,56 und 1,7 pg/g Fett. Die Gehalte an PBDD/F und PBDE korrelierten nicht. Die toxikologisch wichtigen tetra- und pentasubstituierten PXDD/F waren in allen Proben nicht nachweisbar. Die Nachweisgrenze war mit denjenigen der tetra- und pentabromierten PBDD/F vergleichbar.

Aus Guiyu in der chinesischen Provinz Guangdong wurden Humanmilch und Hühnereier untersucht, da der Verdacht einer Umweltkontamination mit bromierten Kontaminanten bestand. Dort wird Elektronikschrott zum Teil im offenen Feuer zur Wiedergewinnung von Metallen verbrannt. Die PBDE-Gehalte der beiden Hühnereiprobe waren mit den Proben aus Baden-Württemberg vergleichbar. Deutliche Unterschiede zu diesen Proben ließen sich aber im Kongenerenmuster erkennen. In der Humanmilchprobe lagen die PBDE-Gehalte mit 51 ng/g Fett zwar deutlich über denjenigen der meisten Ländern der WHO-Studie, aber noch unterhalb der Gehalte in Proben aus den USA.

In allen Proben aus Guiyu konnten auch PBDF-Kongenere nachgewiesen werden. Der „WHO-PBDD/F-TEQ“ lag bei den Hühnereiern bei 0,9 pg/g Fett, in der Humanmilch bei 3,8 pg/g Fett. Die von dort stammenden Hühnereiprobe waren die einzigen untersuchten Lebensmittel, in denen PBDD/F nachgewiesen werden konnten. PXDD/F waren jedoch auch in diesen Proben nicht nachweisbar.

Abkürzungsverzeichnis:

ASE	Beschleunigte Lösungsmittlextraktion („accelerated solvent extraction“)
BDE	Bromierter Diphenylether
BFR	Bromierte Flammschutzmittel („brominated flame retardants“)
BG	Bestimmungsgrenze
CALUX	Biologisches Screeningverfahren („chemical-activated luciferase expression“)
CVUA	Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt
ECD	Elektroneneinfang-Detektor („electron capture detector“)
EI	Elektronenionisation
EPA	United States Environmental Protection Agency
ESI	Elektronenspray-Ionisation („electro spray ionisation“)
HBB	Hexabrombenzol
HBCD	Hexabromcyclododecan
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie („high resolution liquid chromatography“)
HRMS	Hochauflösende Massenspektrometrie („high resolution mass spectrometry“)
I-TEF	Internationaler Toxizitätsäquivalentfaktor (NATO)
LC	Flüssigchromatographie („liquid chromatography“)
LOAEL	Niedrigste Effekt-Konzentration („lowest observed adverse effect level“)
LVU	Laborvergleichsuntersuchung
log K _{ow}	Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient
LRMS	Niedrigauflösende Massenspektrometrie („low resolution mass spectrometry“)
m/z	Masse-Ladungsverhältnis
MeTBBPA-A	Dimethyliertes Tetrabrombisphenol A
MS	Massenspektrometrie
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie
NCI	Negativionen-chemische Ionisation
NOEL	Dosis ohne Wirkung („no observed effect level“)
NWG	Nachweisgrenze
PBB	Polybromierte Biphenyle
PBDD/F	Polybromierte Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane
PBDE	Polybromierte Diphenylether
PCB	Polychlorierte Biphenyle
PCDD/F	Polychlorierte Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane
PeXDD/F	Pentasubstituierte polybromiert-chlorierte Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane
POPs	Persistente organische Kontaminanten („persistent organic pollutants“)
ppb	Teile pro Milliarde („parts per billion“)
ppt	Teile pro Billion („parts per trillion“)
PTV	Kontrollierte Lösungsmittelverdampfung („programmable temperature vaporization“)
PXDD/F	Polybromiert-chlorierte Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane
QG	Quantifizierungsgrenze
R ²	Bestimmtheitsmaß
REP	Relative Bindungsstärke („relative potency“)
RRF	Relativer Responsefaktor
S/N	Signal-zu-Rauschen-Verhältnis („signal-to-noise-ratio“)

SFE	Überkritische Fluidextraktion („supercritical solvent extraction“)
SIM	Selektive Ionendetektion („selected ion monitoring“)
TBBPA	Tetrabrombisphenol A
TBP	2,4,6-Tribromphenol
TEF	Toxizitätsäquivalentfaktor
TEQ	Toxizitätsäquivalent
TXDD/F	Tetrasubstituierte polybromiert-chlorierte Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane
VK	Variationskoeffizient

1 Einleitung

1.1 Geschichte der Flammschutzmittel und Überblick

In der industriellen Produktion von Gebrauchsgütern und Geräten werden verschiedenste Chemikalien zur Minimierung des Brandrisikos als Flammschutzmittel eingesetzt. Bewährt haben sich anorganische, mineralische, organische halogen- oder phosphorhaltige Verbindungen. Sie sollen die Verbrennungsgeschwindigkeit minimieren beziehungsweise das Feuer in der Entstehungsphase eindämmen.

Seit der Entwicklung synthetischer Polymere zu Beginn des 20. Jahrhunderts verschob sich das Spektrum der Flammschutzmittel von rein anorganischen Salzen, die bereits in der Zeit vor Christus eingesetzt wurden, zu lipophileren Substanzen, die zu Polymeren zugesetzt werden können (Hindersinn, 1990; Alae et al., 2003). Mit der fortschreitenden Bedeutung der Kunststoffe wurden neue Arten von Flammschutzmitteln entwickelt, so daß deren Anzahl heute mehr als 175 beträgt.

Flammschutzmittel lassen sich in vier wichtige Gruppen einteilen:

- anorganische,
- halogenhaltige organische,
- phosphorhaltige organische und
- stickstoffhaltige Substanzen und Gemische.

Die halogenhaltigen organischen Flammschutzmittel stehen dabei mit einem Anteil von 25 % der jährlichen Gesamtproduktion an zweiter Stelle nach den anorganischen Flammschutzmitteln (50 % Anteil).

Flammschutzmittel können aufgrund ihrer Einsatzweise in reaktive (kovalent-gebundene) und additive Komponenten eingeteilt werden. Additive Flammschutzmittel kontaminieren daher deutlich leichter die Umwelt als kovalent gebundene (Alae und Wenning, 2002).

In der Gruppe der bromierten Flammschutzmittel sind vor allem die polybromierten Diphenylether (PBDE) und Biphenyle (PBB) sowie Hexabromcyclododecan (HBCD) und Tetrabrombisphenol A (TBBPA) von Bedeutung. Der Marktbedarf für bromierte Flammschutzmittel stieg von 1990 bis 2000 von 145 000 Tonnen auf über 200 000 Tonnen.

Die mengenmäßig wichtigsten bromierten Flammschutzmittel sind heute TBBPA, Deca-BDE und HBCD, deren Marktbedarf in Tabelle 1.1 aufgeschlüsselt ist. Einen Überblick über wirtschaftlich bedeutende Flammschutzmittel, ihr Anwendungsgebiet und Einsatz in verschiedenen Ländern geben auch Alae et al. (2003).

Tabelle 1.1: Marktbedarf der wichtigsten bromierten Flammschutzmittel in 2001, aufgeschlüsselt nach Gebiet und Verbrauch in t (Birnbauer und Staskal, 2004)

	Amerika	Europa	Asien	Übrige Welt	Gesamt
TBBPA	18 000	11 600	89 400	600	119 700
Deca-BDE	24 500	7 600	23 000	1 050	56 100
Octa-BDE	1 500	610	1 500	180	3 790
Penta-BDE	7 100	150	150	100	7 500
HBCD	2 800	9 500	3 900	500	16 700
Gesamt	53 900	29 460	117 950	2 430	203 790

1.2 Polybromierte Diphenylether

1.2.1 Nomenklatur und Struktur

Bei den bromierten Diphenylether (BDE) können alle zehn Wasserstoffatome durch Bromatome substituiert sein (Abbildung 1.1). Daraus ergibt sich eine Anzahl von 209 möglichen Kongeneren. Die einzelnen Kongenere werden dabei nach IUPAC entsprechend der Zahl und Position der Bromatome an den beiden aromatischen Ringen bezeichnet. Die für die polychlorierten Biphenyle (PCB) von Ballschmiter und Zell (1980) vorgeschlagene vereinfachte systematische Nomenklatur wurde für die polybromierten Diphenylether übernommen. In Anlehnung daran werden die Kongenere auch mit BDE 1 bis BDE 209 bezeichnet (de Wit, 2002). Sie werden je nach Bromierungsgrad auch in homologe Gruppen eingeteilt. Die Anzahl der PBDE-Kongenere pro Bromierungsgrad variiert dabei zwischen 1 (decabromiert) und 46 (pentabromiert).

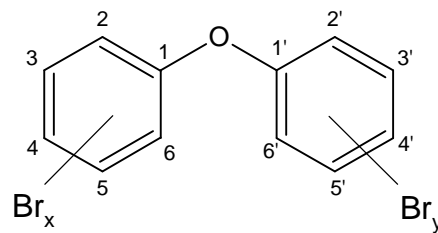


Abbildung 1.1: Struktur der polybromierten Diphenylether ($x, y = 1 - 5$)

Aufgrund der Ether-Brücke zwischen den beiden aromatischen Ringen unterscheidet sich die dreidimensionale Struktur der polybromierten Diphenylether von der planaren Struktur der polybromierten Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane (PBDD/F) sowie der PCB. Die beiden planaren aromatischen Ringe können sich in zwei Ebenen zueinander verdreht positionieren (Hardy, 2002).

1.2.2 Physikalische und chemische Eigenschaften

Bei Raumtemperatur liegen die meisten niedrig bromierten Mono- und Dibromdiphenylether sowie einige Tribromdiphenylether als ölige Flüssigkeit vor. Mit steigender Bromierung der aromatischen Ringe steigt der Schmelzpunkt von circa 50 °C (TetraBDE) bis auf 200 °C (HeptaBDE) an (Marsh et al., 1999).

Der Dampfdruck bei 25 °C liegt für PBDE im Bereich von 0,1 Pa für monobromierte Diphenylether bis 10^{-6} Pa für heptabromierte Diphenylether. Er nimmt dabei linear mit zunehmender Molekülgröße ab. Innerhalb der einzelnen homologen Gruppen gibt es aber Unterschiede von bis zu einer halben Größenordnung (Wong et al., 2001).

Die Anreicherung chemischer Verbindungen (Biomagnifikationsfaktor) in der Umwelt oder in Biota wird durch den Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten beschrieben. Der Octanol-Wasser-Koeffizient $\log K_{OW}$ liegt für di- bis heptabromierte Diphenylether im Bereich zwischen 6 und 9 und damit höher als für PCB (Braekevelt et al., 2003).

Die Löslichkeit von PBDE in Wasser variiert zwischen 0,01 und $1 \cdot 10^{-8}$ mg/l (Palm et al., 2002). Polybromierte Diphenylether sind gegenüber Säuren und Basen sowie oxidierenden und reduzierenden Substanzen beständig. Sie zersetzen sich erst bei Temperaturen über 250 °C (de Boer et al., 2000).

1.2.3 Abbau und Abbauprodukte

Hochbromierte Substanzen werden bei Laborexperimenten durch UV-Strahlung abgebaut (Sellström et al., 1998; Eriksson et al., 2001). Eine direkte Debromierung von PBDE in der Umwelt ist nicht einfach zu beweisen, da z.B. auch die Abbauprodukte von Deca-BDE durch technische BDE-Produkte (Penta-BDE, Octa-BDE) in die Umwelt eingetragen werden (de Wit, 2002; Ahrens und Weiß, 2003). Gerecke et al. (2004) konnten einen bakteriellen Abbau von DecaBDE in Klärschlamm zu octa- und nonabromierten Diphenylethern unter anaeroben Bedingungen nachweisen. Ein biologischer Abbau dieser Substanzen ist aber von untergeordneter Bedeutung (de Wit, 2002).

1.2.4 Bildung und Quellen

PBDE werden im großtechnischen Maßstab durch katalytische Bromierung von Diphenylethern hergestellt. Sie bestehen daher aus verschiedenen Kongeneren mit zum Teil unterschiedlichem Bromierungsgrad. Die wichtigsten kommerziellen Produkte sind „Penta-BDE“, „Octa-BDE“ und „Deca-BDE“ (de Wit, 2002; Ahrens und Weiß, 2003). Ihre Zusammensetzung ist in Tabelle 1.2 dargestellt.

Tabelle 1.2: Zusammensetzung technischer PBDE-Mischungen (de Wit, 2002)

Technisches Produkt	Relativer Kongenerenanteil [%]						
	Tetra-BDE	Penta-BDE	Hexa-BDE	Hepta-BDE	Octa-BDE	Nona-BDE	Deca-BDE
Penta-BDE	24 - 38	50 - 60	4 - 8				
Octa-BDE			10 - 12	44	31 - 35	10 - 11	< 1
Deca-BDE						< 3	97 - 98

Der Eintrag dieser Substanzen in die Umwelt kann durch Emissionen bei Herstellung, Verarbeitung von Flammschutzmitteln und beim Gebrauch der flammengeschützten Stoffe sowie bei der Entsorgung der Materialien erfolgen (Betts, 2003).

1.2.5 Einsatz und Wirkungsweise

PBDE sind additive Flammschutzmittel, die zu fast allen Polymeren vor allem im Elektro- und Elektroniksektor in Konzentrationen bis zu 20 Gewichts-% zugesetzt werden (de Boer et al., 2000). Deca-BDE ist als technisches Produkt in Europa mit einem Anteil von mehr als 90 % aller eingesetzten PBDE das mit Abstand wichtigste technische PBDE-Produkt. Penta-BDE spielt als Flammschutzmittel in Europa keine Rolle mehr. Ein wesentlicher Nachteil dieser in der Gasphase wirkenden Flammschutzmittel besteht darin, daß sie in photochemischen und thermischen Prozessen zur Bildung von PBDD/F beitragen können (Ahrens und Weiß, 2003).

1.2.6 Toxikologie

Die akute Toxizität der PBDE ist sehr gering. Langzeittierversuche zeigten neurotoxische Effekte. Daneben wird auch eine endokrine Wirkung der Verbindungen diskutiert. Dabei können PBDE-Kongenere aufgrund der Ähnlichkeit zu Schilddrüsenhormonen deren Funktion beeinflussen. Deca-BDE hat dabei den geringsten Effekt. Hinweise auf Mutagenität, Kanzerogenität, Reproduktions- und Entwicklungstoxizität liegen derzeit nicht vor. Die PBDE-Kongenere weisen nur eine sehr geringe Affinität zum Ah-Rezeptor auf und haben daher auch nur eine sehr geringe oder keine dioxinähnliche Toxizität (Darnerud et al., 2001; Brown et al., 2004). Auf der Basis des sehr hohen endokrinen Effekts wurden für PBDE ein LOAEL („lowest observed adverse effect level“) von 1 mg pro kg Körpergewicht und Tag und ein NOEL („no observed effect level“) von 0,1 mg/kg/Tag vorgeschlagen. Einen Überblick über Toxikologie, tägliche Aufnahme und Dosis-Wirkungs-Beziehungen von PBDE gibt auch WHO Technical Report Series No. 930 (2005).

1.2.7 Umweltverhalten und Umweltkonzentrationen

Polybromierte Diphenylether sind in der Umwelt persistente Verbindungen, die sich aufgrund ihres stark lipophilen Charakters bevorzugt auf unpolaren Oberflächen und im Fettgewebe lebender Organismen anreichern. Sie werden auch in Sedimenten, im Hausstaub und in der Außenluft gefunden und sind mittlerweile weltweit auch in Hintergrundregionen anzutreffen. Die Bioakkumulationsfaktoren sind vor allem für Tetra- bis Hexabromdiphenylether höher als

für andere homologe Gruppen (de Wit, 2002). Aufgrund dieser Eigenschaften werden die Kongenere der technischen Penta-BDE-Mischungen mittlerweile als „global POPs“ („global persistent organic pollutants“) angesehen.

1.2.7.1 Humanmilch

PBDE-Gehalte in Humanmilch sind in den letzten Jahren aus verschiedenen Ländern, insbesondere den USA, publiziert worden (Ryan, 2004). Die Gehalte in Lebensmitteln als Hauptaufnahmequelle des Menschen neben Hausstaub wurden ebenfalls untersucht (Sjödin, et al, 2003). In einer Studie aus Großbritannien betrug die tägliche Aufnahme über Lebensmittel 90 ng und über Hausstaub 7 ng (Harrad et al., 2004). Bei der Untersuchung von Lebensmitteln und Humanmilch wurden BDE 47, BDE 99, BDE 100 und BDE 153 aufgrund ihrer starken Bioakkumulation als häufigste Kongenere gefunden. Da in den technischen Mischungen nur ein geringer Anteil der theoretisch möglichen Kongenere vorkommt, reduziert sich deren Zahl in der Umwelt auf einige wenige Kongenere. Die Konzentrationen der bromierten Diphenylether (bezogen auf Lipid) liegen zumeist im Bereich zwischen PCB und polychlorierten Dibenzo-p-dioxinen und Dibenzofuranen (PCDD/F) und damit zumeist im unteren ng/g-Bereich. Sie können aber auch je nach Probenart und -herkunft bis µg/g Fett betragen (de Wit, 2002).

Die stärkste Belastung von Humanmilch mit PBDE tritt in den USA auf. Hier liegen die mittleren Gehalte mit ungefähr 80 ng/g Fett um den Faktor 10 bis 100 über dem Durchschnitt aller übrigen Länder für die Werte publiziert wurden (Schechter et al., 2003; She et al. 2005). Dort beträgt die Belastung zum Teil deutlich unter 10 ng/g Fett (Akutsu et al., 2003; Lind et al., 2003; Thomson et al., 2005; Vieth et al., 2005) mit Ausnahme von Australien (knapp über 10 ng/g Fett, Harden et al., 2005) und Kanada (≥ 20 ng/g Fett, Vieth et al., 2005). In einigen Proben aus den USA wurden sogar die PCB-Gehalte von den PBDE übertroffen (She et al., 2005).

BDE 47 ist in den meisten Proben das dominierende Kongener, gefolgt von BDE 153 oder BDE 99. In einigen Humanmilchstudien wurden auch BDE 209 bestimmt. Die Gehalte lagen dabei im Mittel zwischen 0,3 und 0,9 ng/g Fett und machten je nach PBDE-Gesamtkonzentration ein Anteil von < 1 % bis über 10 % aus. Studien aus Schweden, Norwegen und Japan über die zeitliche Entwicklung zeigen, daß die PBDE-Gehalte bis ungefähr 1998 kontinuierlich anstiegen und seitdem wieder leicht abnehmen (siehe Abbildung

1.2, Lind et al., 2003; Thomson et al., 2005). In Japan ist dabei auch eine Verschiebung des Kongenerenmusters hin zu höherbromierten BDE zu erkennen (Akutsu et al., 2003).

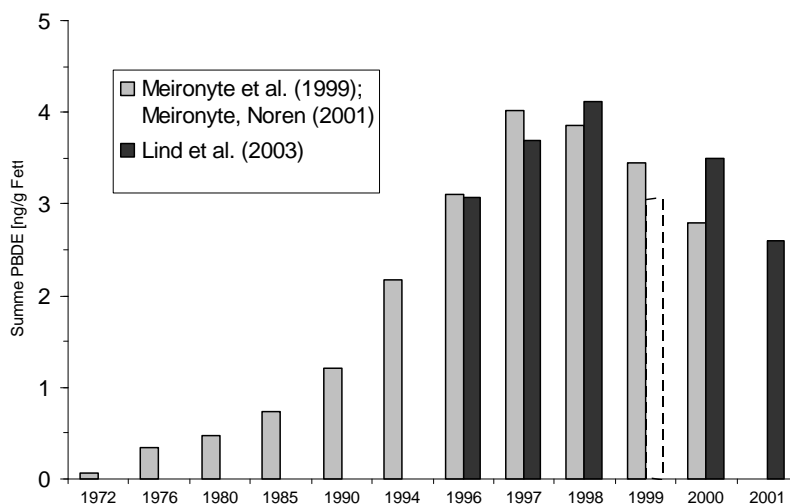


Abbildung 1.2: Zeitlicher Trend der PBDE-Gehalte in Humanmilch aus Schweden

1.2.7.2 Tierische und pflanzliche Lebensmittel

Die höchsten PBDE-Gehalte in Lebensmitteln wurden in Süß- und Salzwasserrischen nachgewiesen. Die Belastung hängt dabei sehr stark vom Fettgehalt ab. Bezogen auf das Frischgewicht (FG) lagen die Gehalte in europäischen Ländern zumeist unter 10 ng/g (Lepom et al., 2002; Bocio et al., 2003; Zennegg et al., 2003; Kiviranta et al., 2004; Pöpke und Herrmann, 2004), in den USA wurden Werte für Speisefische von über 3000 ng/g gefunden (Schechter et al., 2004).

In anderen fetthaltigen tierischen Lebensmitteln, wie Fleisch, Milchprodukten und Eiern, lagen die Gehalte in den USA ebenfalls über dem europäischen Mittel. Bezogen auf das Frischgewicht waren Fleisch-, Milch- und Eierproben aus Spanien und Finnland (Bocio et al., 2003; Kiviranta et al., 2004) mit bis zu 0,17 ng/g FG belastet. Proben aus den USA lagen zum Teil deutlich über 1 ng/g FG (Schechter et al., 2004; Huwe und Larsen, 2005). Das vorherrschende Kongener bei Fischen war BDE 47; bei den übrigen tierischen Lebensmitteln machten BDE 47 und BDE 99 in ähnlichen Anteilen den größten Beitrag aus. BDE 209 war in verschiedenen Lebensmitteln ebenfalls nachweisbar. In einigen Proben trat es sogar als Hauptkongener auf (Schechter et al., 2004).

Aus diesen Daten wurde die PBDE-Belastung der Bevölkerung durch die Nahrung berechnet. Für Schweden, Großbritannien, Spanien sowie Kanada lag die Belastung zwischen 41 und 113 ng/Tag (Domingo, 2004). Den Hauptbeitrag lieferten dabei Fische aufgrund der hohen PBDE-Gehalte und Fleisch bzw. Fleischprodukte durch die hohe Verzehrmenge. Die tägliche Aufnahme von PBDE aus Fleisch lag in den USA zwischen 15 und 45 ng und damit in der gleichen Größenordnung wie in den oben genannten europäischen Ländern (Huwe und Larsen, 2005). Diese Werte liegen noch etwa fünf Größenordnungen unter dem von Darnerud et al. (2001) vorgeschlagenen LOAEL-Wert von 1 mg/kg/Tag.

Anhand der PBDE-Aufnahme über Nahrungsmittel lassen sich die hohen PBDE-Gehalte in Muttermilch aus den USA nicht plausibel erklären (Vieth et al., 2005). Eine zusätzliche Exposition möglicherweise über Hausstaub muss daher in Betracht gezogen werden (Wu et al., 2005).

1.3 Hexabromcyclododecan

Hexabromcyclododecan (HBCD) ist heute mit einem Marktbedarf von 16 700 t (2001) das weltweit dritt wichtigste BFR hinter TBBPA und DecaBDE (Birnbaum und Staskal, 2004). Es wird durch Bromierung von Cyclododeca-1,5,9-trien hergestellt. Das daraus erhaltene technische Produkt besteht aus einer Mischung von drei Enantiomerenpaaren von Diastereomeren, die als α -, β - und γ -1,2,5,6,9,10-HBCD bezeichnet werden (siehe Abbildung 1.3). Eine exakte Struktur der einzelnen Enantiomere geben Becher (2005) und Law et al. (2005). Die Diastereomere haben die folgenden Anteile im technischen Produkt: α : 10 - 13 %, β : < 0,5 - 12 %, γ : 75 - 89 % (Becher, 2005). HBCD wird als additives Flammschutzmittel in verschiedenen Polystyrol-Harzen und Textilien in Europa deutlich häufiger als in den USA eingesetzt (Alaee et al. 2003; Birnbaum und Staskal, 2004).

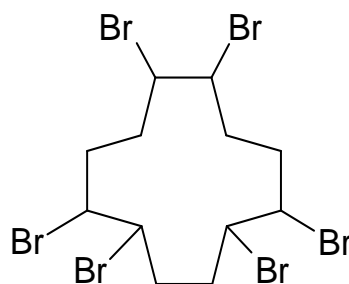


Abbildung 1.3: Struktur von 1,2,5,6,9,10-Hexabromcyclododecan

HBCD ist sehr lipophil ($\log K_{ow}$ 5,6), hat eine geringe Wasserlöslichkeit mit 0,0034 mg/l und einen sehr niedrigen Dampfdruck (Birnbaum und Staskal, 2004). Zudem ist HBCD in der Umwelt persistent und bioakkumuliert stark. In mehreren Studien wurde bereits das ubiquitäre Vorkommen von HBCD in der Umwelt und der Transport über weite Strecken in der Atmosphäre nachgewiesen (Law et al, 2005). In Sedimenten, Fischen und Vögeln wurde HBCD ebenfalls gefunden. In Untersuchungen zur Nahrungskette konnte die Bioakkumulation von Sedimenten bis zu fischfressenden Raubvögeln gezeigt werden (Tomy et al., 2004).

Betrachtet man die einzelnen HBCD-Diastereomere lässt sich erkennen, daß das Muster in Sedimenten in vielen Fällen der Zusammensetzung der technischen Produkte sehr ähnlich ist. Im Gegensatz dazu dominiert in biologischen Materialien wie Fischen zumeist das α -Isomer deutlich. Auch in Humanmilch ist α -HBCD das intensivste Kongener. Eine selektive Aufnahme oder eine unterschiedliche Metabolisierung können Gründe dafür sein (Birnbaum und Staskal, 2004).

In Schweden lagen die Gehalte für Fische zwischen 7 und 180 ng/g Fett, in anderen fetthaltigen Lebensmitteln zwischen < 1 bis 9 ng/g Fett (Remberger et al., 2004). Die Konzentrationen in Humanmilchproben aus Mexiko und Schweden lagen mit Werten zwischen 0,8 und 5,4 ng/g Fett unter den PBDE-Gehalten (Lopez et al., 2005). Die Hauptaufnahmewege des Menschen sind Lebensmittel (Fisch als Hauptquelle), Innenraumluft und Staub (Law et al., 2004).

Die akute Toxizität von HBCD ist eher gering. Die Datengrundlage über mögliche langfristige Wirkungen lässt noch keine abschließenden Aussagen zu. Die endokrine Wirkung von HBCD wurde untersucht und neurotoxische Effekte und neurologische Entwicklungsstörungen konnten in Tierversuchen bereits nachgewiesen werden (Birnbaum und Staskal, 2004; Law et al., 2005). Zur relativen Toxizität der Diastereomere liegen keine Daten vor.

1.4 Polyhalogenierte Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane

1.4.1 Struktur

Die Strukturen der polyhalogenierten Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane bestehen aus einem trizyklischen, nahezu planaren aromatischen Ether, bei dem die Wasserstoffatome an den beiden aromatischen Ringen in den Positionen 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8 und 9 durch Halogenatome ersetzt sind (siehe Abbildung 1.4, Ballschmiter und Bacher, 1996).

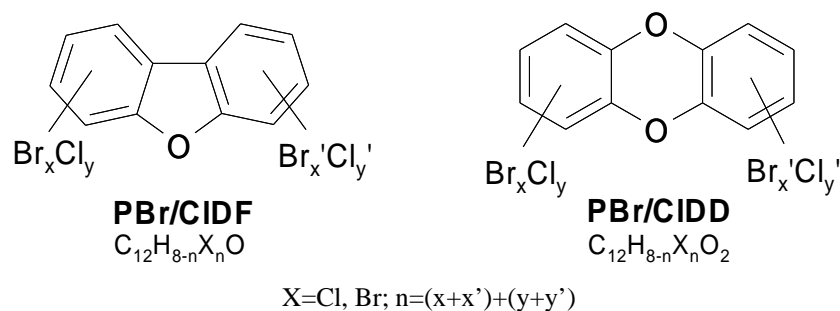


Abbildung 1.4: Struktur der polybromierten und/oder polychlorierten Dibenzofurane (PBr/CIDF) und Dibenzo-p-dioxine (PBr/CIDD)

Die Substitution mit Brom und Chlor ergibt insgesamt 1550 gemischt bromiert-chlorierte Dibenzo-p-dioxine (PXDD) und 3050 Dibenzofurane (PXDF) gegenüber den 75 PCDD oder PBDD und 135 PCDF bzw. PBDF. Toxikologisch relevant sind lediglich sieben PCDD- oder PBDD- sowie zehn PCDF- bzw. PBDF-Kongenere mit Substitution in 2,3,7,8-Position. Daneben gibt es aber 984 2,3,7,8-substituierte gemischt bromiert-chlorierte Kongenere (337 PXDD und 647 PXDF). Diese Zahlen machen die Komplexität einer Bestimmung der gemischt-halogenierten PXDD/F deutlich (WHO/ICPS, EHC 205, 1998).

1.4.2 Physikalische und chemische Eigenschaften

Es sind derzeit nur sehr wenige Daten über die physikalischen und chemischen Eigenschaften von PBDD/F und PXDD/F vorhanden. Für viele Kongenere gibt es nur Daten aus Modellrechnungen. Polybromierte Verbindungen haben ein höheres Molekulargewicht, einen höheren Schmelzpunkt, einen niedrigeren Dampfdruck, eine niedrigere Wasserlöslichkeit und einen höheren Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient als die jeweiligen rein chlorierten Homologen. Gemischt halogenierte Kongenere liegen dazwischen. PBDD/F und PXDD/F sind ebenso wie PCDD/F sehr gut in organischen Lösungsmitteln, Fetten und Ölen löslich und

adsorbieren an Oberflächen von Partikeln (Ballschmiter und Bacher, 1996; WHO/ICPS, EHC 205, 1998).

1.4.3 Photochemische Eigenschaften

In Laborversuchen wurde der photolytische Abbau von PBDD/F und PXDD/F in organischen Lösungsmitteln nachgewiesen (Lenoir et al., 1991). Der Hauptweg stellt dabei die Debromierung zu niedriger bromierten Kongeneren dar (Chatkittikunwong und Creaser, 1994). Die Halbwertszeit der Einzelkongenere hängt von der Höhe des Bromierungsgrades, dem verwendeten Licht und den Glasgeräten ab. Die durchschnittliche Halbwertszeit bei den im Labor relevanten Aufarbeitungsschritten lag in der Größenordnung von 100 bis 1000 h. Im Vergleich mit ihren chlorierten Homologen zeigten die bromierten Verbindungen deutlich schnelleren photolytischen Abbau (WHO/ICPS, EHC 205, 1998). Versuche mit an festen Phasen und Böden adsorbierten PBDD/F und PXDD/F ergaben noch deutlich höhere Halbwertszeiten. Diese Werte spiegeln auch eher die Situation in der Umwelt wieder. Aufgrund des schnelleren Verlustes von Brom- im Vergleich zu Chlorsubstituenten wurden bei gemischt bromiert-chlorierten PXDD/F mit nur einem Bromsubstituenten die Bildung der stabileren PCDD/F beobachtet (Chatkittikunwong und Creaser, 1994).

1.4.4 Bildung und Quellen

1.4.4.1 Photochemische Bildung

PBDD/F werden als photolytische Debromierungsprodukte aus PBDE gebildet. Beim photochemischen Abbau von Deca-BDE durch UV-Licht werden neben niedriger-bromierten Diphenylethern auch PBDF gebildet (Watanabe und Tatsukawa, 1987). Die Halbwertszeiten für Deca-BDE lagen dabei zwischen 15 min (gelöst in Toluol) und ungefähr 12 Stunden (aufgebracht auf Sand). Bei niedriger-bromierten Kongeneren lagen diese im Bereich von Tagen und damit insgesamt deutlich über denen von DecaBDE (Sellström et al., 1998; Eriksson et al., 2003). Aus diesem Grund ist bei der Analytik insbesondere von hochbromierten Kongeneren das Risiko einer Debromierung zu minimalisieren.

1.4.4.2 Thermische Bildung

Durch den steigenden Einsatz von bromierten Flammschutzmitteln in den letzten Jahrzehnten sind bromorganische Verbindungen mittlerweile in der Umwelt ubiquitär präsent. Gemischt bromiert-chlorierte und bromierte Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane wurden bereits in Haus- und Sondermüllverbrennungsanlagen nachgewiesen (Chatkittikunwong und Creaser, 1994; Hagberg et al., 2005). Sie werden in Spuren bei Verbrennungsprozessen in Gegenwart von Brom und Chlor gebildet (Ebert und Bahadir, 2003).

PBDE sind hier aufgrund einer einfachen HBr-Elimination wichtige Vorläuferverbindungen, wohingegen TBBPA oder aliphatische BFR („brominated flame retardants“) kein signifikantes Bildungspotential aufweisen (Weber und Kuch, 2003). In zirkuliertem Kunststoff von Monitoren, Fernsehern und anderen Kunststoffgehäusen wurden Gehalte zwischen 1 und 35 µg/kg PBDD/F nachgewiesen. Diese Werte lagen deutlich über den Grenzwerten der deutschen Chemikalienverbots-Verordnung (Schlummer et al., 2004).

Bei unvollständiger Verbrennung bzw. Verbrennung unter ungünstigen Bedingungen konnten in den Rückständen PBDD/F-Gehalte im ppb-Bereich und darüber festgestellt werden. Auch hier spielen BFR als Vorläufersubstanzen eine entscheidende Rolle. Bei der Pyrolyse von bromierten Flammschutzmitteln konnten verschiedene Produkte nachgewiesen werden: aus TBBPA und TBP (2,4,6-Tribromphenol) bildet sich bevorzugt PBDD, aus HBB (Hexabrombenzol) und DecaBDE dagegen PBDF (Ohta et al., 2004a). Unter kontrollierten Verbrennungsbedingungen werden BFR nahezu vollständig zerstört. In diesem Fall ist die de-novo-Synthese von PBDD/F und PXDD/F entscheidend. Darüber hinaus können PBDD/F auch als Spurenverunreinigungen von bromierten Flammschutzmittel oder anderen bromorganischen Chemikalien auftreten (WHO/ICPS, EHC 205, 1998).

1.4.5 Umweltrelevanz und Gehalte in Umwelt- und Humanproben

Über die Persistenz von PBDD/F und PXDD/F in der Umwelt, deren Transport über lange Strecken und deren Bioakkumulationspotential ist relativ wenig bekannt. Aufgrund ihrer physikalischen und chemischen Eigenschaften und der großen Ähnlichkeit mit PCDD/F kann aber von annähernd gleichen Eigenschaften ausgegangen werden. Ähnlich wie die PCDD/F reichern sich auch PBDD/F und PXDD/F bevorzugt auf kohlenstoffhaltigen Partikeln und in

fetthaltigen Matrices an (WHO/ICPS, EHC 205, 1998). Es gibt jedoch kaum Daten über Gehalte in Biota, wie die nächsten Abschnitte zeigen.

1.4.5.1 Biota

PBDD/F wurden in verschiedenen Fischen, Meerestieren und Vögeln nachgewiesen. In Fischgewebe wurden bereits 1992 nicht-2,3,7,8-substituierte TBDD und TBDF gefunden (de Jong et al., 1992). In Leber und Eiern des Kormorans wurden neben 2,3,7,8-substituierten TBDF, PeBDF und TBDD auch weitere Kongenere quantifiziert (Watanabe et al., 2004). Malmvärn et al. (2005) konnten in Miesmuscheln aus der Ostsee tribromierte Dibenzo-p-dioxine in Konzentrationen von 160 ng/g Fett nachweisen. Haglund et al. (2005) fanden in einzelnen schwedischen Fischen di- und tribromierte Dibenzo-p-dioxine in ähnlichen Konzentrationsbereichen.

1.4.5.2 Humanproben

Eine japanische Vergleichsstudie der Jahre 1970 bis 2000 wies in allen Fettgewebeproben 2,3,7,8-TBDF in Konzentrationen zwischen 1,6 und 4,3 pg/g Fett sowie in einigen Proben in geringeren Spuren noch TBDD und 2,3,4,7,8-PeBDF (Choi et al., 2003a) nach. Ein zeitlicher Trend war dabei nicht ersichtlich. In einer japanischen Humanmilchstudie (Ohta et al., 2004b) lag der Anteil des „PXDD/F-TEQ“ (0,7-4,4 pg TEQ/g Fett) am PCDD/F-TEQ zwischen 4 und 46 %. Der durchschnittliche Anteil des PBDD/F-TEQ am "Gesamt-Dioxin-TEQ" lag bei deutlich unter 5 % (0,13 - 1,2 pg TEQ/g Fett). Die häufigsten 2,3,7,8-substituierten Kongenere waren 2,3,7,8-TBDF und 2,3,4,7,8-PeBDF sowie 2,3-DB-7,8-DCDD, 3-B-2,7,8-TrCDD und 2-B-3,7,8-TrCDD. In schwedischer Humanmilch (Wiberg und Rappe, 1992) konnten weder PBDD/F noch PXDD/F nachgewiesen werden (Nachweisgrenze 1 pg/g Fett). Cramer et al. (1990) fanden in Fettgewebe aus den USA ebenfalls keine polybromierten Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane.

1.4.6 Toxikologie

Bei den PCDD/F sind nur die 2,3,7,8-substituierten Kongenere toxikologisch relevant. Eine Übersicht über gesundheitliche Auswirkungen von PBDD/F geben Birnbaum et al. (2003) und WHO/ICPS, EHC 205 (1998). In Tierversuchen mit 2,3,7,8-substituierten PBDD/F konnten die bekannten Auswirkungen von PCDD/F auch für die bromierten Homologe nachgewiesen werden. Dazu gehören neben den akuten Wirkungen wie Chlorakne, Stoffwechselstörungen, Störungen des zentralen Nervensystems und immuntoxische Effekte, die chronische Schädigung durch Reproduktionstoxizität sowie enzyminduzierende Effekte und eine stark tumorpromovierende Wirkung.

Die weitgehende Übereinstimmung zwischen bromierten und chlorierten Kongeneren lässt sich durch gleiche Bindung an den Ah-Rezeptor (Rezeptor für aromatische Kohlenwasserstoffe) der Zelle erklären. Die Bindungsaffinität der einzelnen 2,3,7,8-substituierten Kongenere hängt dabei stark von der Chlor- bzw. Bromsubstitution ab. Ein wichtiger Aspekt ist hierbei die unterschiedliche Größe der Substituenten. Das toxische Potential der Einzelkongenere variiert hier zum Teil erheblich, was sich am deutlichsten am tribromierten 2,3,7-TrBDD zeigt, das eine um ein bis zwei Größenordnungen höhere Bindungsaffinität aufweist als das chlorierte Homolog (Birnbaum et al., 2003).

Eine Nachweismethode für die Bindung an und Aktivierung des Ah-Rezeptors stellt der „CALUX-Assay“ dar (Behnisch et al., 2001). Damit können relative Bindungsstärken („relative potencies“: REP) gegenüber der Referenz 2,3,7,8-TCDD bestimmt werden. In Tabelle 1.3 werden die REP für den CALUX-Test mit den Toxizitätsäquivalentfaktoren (TEF) verglichen.

Tabelle 1.3: Toxizitätsäquivalentfaktoren (TEF) und relative Bindungsstärke bei Bioassays („relative potencies“: REP) von polyhalogenierten Dibenzo-p-dioxinen und Dibenzofuranen (NATO/CCMS, 1988; van den Berg, 1998; Brown et al., 2001; Birnbaum et al., 2003)

Kongenere (X = Br, Cl)	I-TEF <i>PCDD/F</i>	WHO-TEF <i>PCDD/F</i>	CALUX-REP <i>PCDD/F</i>	CALUX-REP <i>PBDD/F</i>	CALUX-REP <i>PXDD/F</i>
Dibenzo-p-dioxine (PXDD)					
2,3,7,8-TXDD	1	1	1	0,54	0,72 ¹ ; 0,39 ²
1,2,3,7,8-PeXDD	0,5	1	0,73	0,49	
1,2,3,4,7,8-HxXDD	0,1	0,1	0,075		
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	0,1	0,098		
1,2,3,7,8,9-HxXDD	0,1	0,1	0,061		
1,2,3,4,6,7,8-HpXDD	0,01	0,01	0,031		
OXDD	0,001	0,0001	0,00034		
Dibenzofurane (PXDF)					
2,3,7,8-TXDF	0,1	0,1	0,067	0,82	
1,2,3,7,8-PeXDF	0,05	0,05	0,14		
2,3,4,7,8-PeXDF	0,5	0,5	0,58	0,09	
1,2,3,4,7,8-HxXDF	0,1	0,1	0,13		
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	0,1	0,14		
1,2,3,7,8,9-HxXDF	0,1	0,1	0,11		
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	0,1	0,31		
1,2,3,4,6,7,8-HpXDF	0,01	0,01	0,024		
1,2,3,4,7,8,9-HpXDF	0,01	0,01	0,044		
OXDF	0,001	0,0001	0,0016		

¹ 2,3-DB-7,8-DCDD

² 2-B-3,7,8-TrCDD

1.4.7 Toxizitätsäquivalent-Faktoren (TEF)

Das Konzept der Toxizitätsäquivalentfaktoren dient dazu, die toxikologische Gesamtaktivität einer komplexen Mischung ähnlicher Verbindungen zu bewerten (Van den Berg et al., 1998). Dafür werden die einzelnen Konzentrationen der Kongenere durch Multiplikation mit einem Toxizitätsäquivalentfaktor (TEF) als eine toxische Konzentration (Toxizitätsäquivalent, TEQ), bezogen auf die Referenz 2,3,7,8-TCDD, ausgedrückt. Dieses System basiert darauf, daß dioxinähnliche Verbindungen in gleicher Weise, aber unterschiedlicher Stärke und damit Wirkung an den Ah-Rezeptor in der Zelle binden.

Einsatzgebiete für dieses System sind unter anderem Risikobewertungen und die Überwachung von Grenzwerten. Für PCDD/F gibt es ein weltweit harmonisiertes und einheitliches Konzept zur Bewertung der einzelnen Kongenere (WHO-TEF, 1997). Dieses Konzept löste dabei das 1988 vom „Committee on Challenges of Modern Society“ (CCMS) der NATO veröffentlichte Konzept der I-TEF („international TEF“) ab.

Für die 2,3,7,8-substituierten bromierten und gemischt bromiert-chlorierten Kongenere gibt es derzeit keine international anerkannten TEF. Appel (1991) hatte empfohlen, für bromierte Kongenere im Falle einer Risikoabschätzung dieselben I-TEF wie für ihre chlorierten Homologe anzuwenden. Safe (1990) bezog neben den bromierten auch die gemischt bromiert-chlorierten Kongenere in diese Bewertung mit ein. Die WHO schlug 1998 ebenfalls die Übernahme der I-TEF für bromierte und gemischt halogenierte Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane vor, mit der Abweichung, aufgrund toxikologischer Daten den TEF für 2,3,7,8-TBDF von 0,1 auf 0,2 (Gewichtsbasis) oder 0,3 (molare Basis) zu erhöhen (WHO/ICPS, EHC 205, 1998).

In Tabelle 1.3 werden die Toxizitätsäquivalentfaktoren (NATO/CCMS und WHO) mit aktuellen CALUX-REP-Werten verglichen. Ergebnisse liegen dabei nur für tetra- und pentasubstituierte Kongenere vor. Diese sind zumindest im gleichen Größenordnungsbereich wie die jeweiligen TEF. Bei der Berechnung des Toxizitätsäquivalents TEQ für PBDD/F und PXDD/F werden in dieser Arbeit jeweils die WHO-TEF für Menschen und Säugetiere angewendet.

1.5 Rechtliche Beurteilung in Deutschland und der EU

In der Europäischen Union (EU) wurde eine Risikobewertung der technischen PBDE-Produkte Deca-BDE, Octa-BDE und Penta-BDE durchgeführt. Als Ergebnis wurde mit der Richtlinie 2003/11/EG ab August 2004 die Verwendung der technischen Mischungen Penta-BDE und Octa-BDE verboten. Die Mischungen dürfen als Stoffe nicht verwendet werden und in nicht mehr als 0,1 Gewichtsprozenten in Stoffen und Zubereitungen vorkommen. Bereits seit 1984 ist auch der Einsatz von polybromierten Biphenylen in Textilartikeln in der EU verboten (Richtlinie 83/264/EWG).

Im Jahr 2006 trat zusätzlich eine Regelung zum Einsatz bromierter Flammschutzmittel in elektronischen Geräten (RoHS-Richtlinie, 2002/95/EG) in Kraft. Neu in Verkehr gebrachte Elektro- und Elektronikgeräte dürfen danach keine polybromierten Biphenyle und polybromierten Diphenylether (Penta- und Octa-Mischungen) enthalten. Für Deca-BDE gibt es zur Zeit noch keine Reglementierung zum Einsatz in elektrischen und elektronischen Geräten. Hier läuft noch die Risikobewertung durch die Europäische Union.

In Deutschland wurden die Richtlinien 83/264/EWG und 2003/11/EG bereits in der Gefahrstoff-Verordnung (Verordnung zum Schutz vor Gefahrstoffen, 2004) umgesetzt. Zusätzlich wurde Penta-BDE im Rahmen der Entscheidung 2455/2001/EG in die Liste prioritärer Stoffe im Bereich der Wasserpolitik als primär gefährlicher Stoff aufgenommen. Regelungen bezüglich der Gehalte an PBDE in Lebensmitteln oder Futtermitteln liegen zur Zeit nicht vor.

In der Chemikalien-Verbotsverordnung (ChemVerbotsV, 2005) sind neben den chlorierten Dibenzo-p-dioxinen und Dibenzofuranen auch Regelungen für die bromierten Homologen getroffen. Danach dürfen Stoffe, Zubereitungen und Erzeugnisse nicht in den Verkehr gebracht werden, wenn die Summe aus 2,3,7,8-TBDD, 1,2,3,7,8-PeBDD, 2,3,7,8-TBDF und 2,3,4,7,8-PeBDF den Wert von 1 µg/kg und die Summe aus 1,2,3,4,7,8-HxBDD, 1,2,3,7,8,9-HxBDD, 1,2,3,6,7,8-HxBDD und 1,2,3,7,8-PeBDF den Wert von 5 µg/kg überschreiten. Rechtliche Bestimmungen zu gemischt bromiert-chlorierten Dibenzo-p-dioxinen und Dibenzofuranen sind nicht vorhanden. Regelungen zu Hexabromcyclododecan liegen ebenfalls derzeit nicht vor. Ein Verfahren zur Risikobewertung von HBCD durch die EU läuft.

1.6 Stand der Technik

1.6.1 PBDE, PBDD/F und PXDD/F

1.6.1.1 Extraktion und Aufreinigung der Extrakte

Einen detaillierten Überblick über die eingesetzten Aufarbeitungs- und Messmethoden in der PBDE-Analytik geben Covaci et al. (2003) und de Boer et al (2001). Bei biologischen fetthaltigen Proben werden im allgemeinen nach Trocknung die gesuchten Verbindungen mit organischen Lösungsmitteln extrahiert (Soxhlet, „accelerated solvent extraction“ (ASE) oder „supercritical fluid extraction“ (SFE)). Das mitextrahierte Fett wird durch Gelpermeationschromatographie und/oder Behandlung mit Schwefelsäure abgetrennt. Als weitere Aufreinigungsschritte werden zumeist säulenchromatographische an Kieselgel, Aluminiumoxid, Florisil oder Aktivkohle eingesetzt. Die Abtrennung der PBDE von den PCB wird nur in wenigen Fällen beschrieben. Mit Hilfe einer mehrschichtigen Kieselgelsäule (alkalisch, sauer und mit AgNO₃ imprägniert) konnten nach Liu et al. (2005) PCB im ersten Schritt mit 2% Dichlormethan und PBDE mit 50 % Dichlormethan in n-Hexan nacheinander eluiert werden.

Für Fettextraktion und Aufreinigung wurden für PBDD/F und PXDD/F vergleichbare Schritte wie für die PBDE eingesetzt (Wiberg und Rappe, 1992; Choi et al., 2003b). Humanmilch wurde dabei auch mit KOH/Ethanol verseift (Ohta et al., 2004b). In dieser Studie wurden sehr hohe Konzentrationen an bromierten und gemischt bromiert-chlorierten Dibenzo-p-dioxinen und Dibenzofuranen festgestellt.

Aufgrund möglicher Interferenzen bei der Messung dieser Substanzen ist der entscheidende Schritt die Abtrennung der PBDD/F und PXDD/F von den PBDE und PCB. Dazu wurden Florisil, Aluminiumoxid und Aktivkohle (auch in Kombination) eingesetzt (Ebert et al., 1999; Choi et al., 2003b). Bei Aktivkohle erfolgte die Elution der Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane in umgekehrter Richtung („back-flush“) mit Toluol (Wiberg und Rappe, 1992; Choi et al., 2003b). Eine Auftrennung der PBDD/F, PXDD/F und PCDD/F wurde bisher nicht beschrieben.

1.6.1.2 Chromatographische Trennung und Messung

PBDE:

Covaci et al. (2003) und de Boer et al. (2001) geben eine Übersicht eingesetzter Injektionstechniken und gaschromatographischer Trennsysteme für die PBDE-Bestimmung. Die gaschromatographische Trennung erfolgt zumeist auf unpolaren oder semipolaren stationären Phasen und Kapillarsäulen von 15 bis 60 m Länge mit Innendurchmessern von $\leq 0,25$ mm und Filmdicken zwischen 0,10 und 0,32 μm . Als Detektoren werden hochauflösende Massenspektrometrie („high resolution mass spectrometry“, HRMS) mit Elektronenionisation (EI), niedrigauflösende Massenspektrometrie („low resolution mass spectrometry“, LRMS) mit EI und NCI (Negativionen-chemische Ionisation) sowie Elektroneneinfangdetektor („electron capture detector“, ECD) genannt. Für DecaBDE werden kurze Säulen zwischen 5 und 15 m zur separaten Bestimmung empfohlen. Krumwiede et al. (2004) gaben einen Überblick über die optimalen chromatographischen Bedingungen für die Bestimmung von DecaBDE. Korytar et al. (2005) verglichen die relative Retention von 126 PBDE-Kongeneren. Dabei traten für die wichtigsten Kongenere auf einer 30-m-DB-5-Säule nur bei BDE 28 und 49 Koelutionen mit anderen BDE auf. Für BDE 154 und 183 sind zusätzlich Koelutionen mit BB153 und MeTBBPA-A (dimethyliertes TBBPA) bzw. BB 169 möglich.

Bei einem Vergleich von EI-HRMS und NCI-LRMS zum Nachweis von PBDE in biologischen Proben wurden ähnliche Ergebnisse in bezug auf Empfindlichkeit, Wiederholbarkeit und Nachweisgrenzen im ppt-Bereich erhalten. Gegenüber der robusten und kostengünstigeren LRMS-Methode konnten PBDE-Kongenere mit HRMS spezifischer und mit höherer Präzision aufgrund der Einsatzmöglichkeit $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierter interner Standards nachgewiesen werden (Thomsen et al., 2002). Für NCI-LRMS stellen mono- oder difluorierte PBDE als interne Standards eine Alternative dar, da diese ähnliche Eigenschaften wie die underivatvisierten Kongenere aufweisen, aber gaschromatographisch getrennt werden können.

PBDD/F:

Nach PTV- (kontrollierte Lösungsmittelverdampfung, „programmable temperature vaporization“) oder Splitlos-Injektion erfolgt die Trennung auf unpolaren Phasen (30 bis 60 m lange Kapillarsäulen), die Detektion zumeist mittels hochauflösender Massenspektrometrie im SIM-Modus (selektive Ionendetektion, „selected ion monitoring“, Cramer et al., 1990; Wiberg und Rappe, 1992; Pirard et al., 2003). Donnelly et al. (1987) geben einen Überblick über Massenspektrometrie von PBDD/F. Bei der Bestimmung von bromierten Dibenzofuranen können auch bei EI-HRMS Störungen durch PBDE auftreten (Donnelly, 1987; Onodera et al. 2003). Diese können durch eine nahezu vollständige Abtrennung der PBDE von den PBDD/F mit einer Florisil- oder Aktivkohlesäule vermieden werden (Ebert et al., 1999). Bei der Verwendung von Splitlos-Injektoren bei der Bestimmung kann es zum thermischen Abbau der Kongenere durch Debromierung kommen.

PXDD/F:

Eine besondere Herausforderung an die chromatographische Trennung stellen die gemischt bromiert-chlorierten Dibenzop-dioxine und Dibenzofurane dar. Von den theoretisch möglichen 4600 Kongeneren gibt es allein 984 2,3,7,8-substituierte Verbindungen. Donnelly et al. (1991) beschrieben einen Ansatz zur Bestimmung von PXDD/F über die relativen Retentionsindizes der 2,3,7,8-substituierten Kongenere kombiniert mit HRMS. Für die Bestimmung von monobromierten, polychlorierten Dibenzop-dioxinen und Dibenzofuranen wurde ebenfalls ein Methode mit HRMS eingesetzt. Damit konnten diese Kongenere in Flugasche von Müllverbrennungsanlagen, nicht aber in Fischen nachgewiesen werden (Huang et al., 1992).

1.6.2 Hexabromcyclododecan

LC-MS/MS ist die Methode der Wahl für die Bestimmung von HBCD, da hier die einzelnen Diastereomere sowie bei Verwendung einer chiralen Säule auch die Enantiomere getrennt werden können. Bei der Bestimmung mit GC/MS ist eine Trennung der drei Diastereomere nicht möglich, da Temperaturen über 160 °C zur Isomerisierung von HBCD und damit zu einem einzigen relativ breiten Peak führen. Zudem können bei Temperaturen über 240 °C Zersetzungen unter Freisetzung von HBr auftreten (Barontini et al., 2001). Aus diesem Grund

werden kurze Säulen mit geringen Filmdicken und on-column-Injektion zur Verringerung der thermischen Belastung empfohlen. Eine hohe Empfindlichkeit lässt sich durch NCI-LRMS erzielen. Allerdings ist dabei die Verwendung von isotopenmarkierten Standards, sowie die eindeutige Identifikation der Signale nicht möglich. Eine sehr empfindliche flüssigchromatographische Bestimmung stellt LC-ESI-MS/MS (Flüssigchromatographie gekoppelt mit Elektrosprayionisation und Tandem-Massenspektrometrie) dar (Covaci et al., 2003; Becher, 2005; Law et al., 2005). Für Extraktion und Aufarbeitung von biologischen Proben (fetthaltige Lebensmittel und Humanmilch) werden vergleichbare Verfahren wie bei der Bestimmung der PBDE eingesetzt (Lindberg et al., 2004; Tomy et al., 2004; Remberger et al., 2004).

2 Ziel der Arbeit

Ziel dieser Arbeit war es, die Analytik von polybromierten Diphenylethern (PBDE), polybromierten (PBDD/F) und gemischt bromiert-chlorierten (PXDD/F) Dibenzo-p-dioxinen und Dibenzofuranen in Lebensmitteln, Futtermitteln und Humanmilch zu entwickeln und zu validieren. Dazu sollte die Bestimmung mit dem bereits bestehenden Verfahren zum Nachweis von polychlorierten Dibenzo-p-dioxinen und Dibenzofuranen (PCDD/F) sowie polychlorierten Biphenylen (PCB) zu einer Multimethode kombiniert werden. Aufgrund der aufwendigen Probenaufarbeitung bei der Bestimmung von PCDD/F sowie PCB stellt der zusätzliche Nachweis von PBDE, PBDD/F und PXDD/F in einer Methode eine wesentliche Zeitersparnis im Vergleich zur Entwicklung einer neuen unabhängigen Methode dar. Besondere Anforderungen an die Empfindlichkeit der Methode stellten dabei die Bestimmungen von PBDD/F und PXDD/F, die in deutlich geringeren Konzentrationen vorliegen, dar.

Es sollten Daten zu den Gehalten von Lebensmitteln und Futtermitteln aus Baden-Württemberg gewonnen werden. Die Untersuchung von Humanmilchproben der dritten Runde einer weltweiten WHO-Studie sollte dann Informationen über die Belastung des Menschen mit diesen bromierten Kontaminanten geben. Hierbei war vor allem der Anteil der bromierten und gemischt bromiert-chlorierten Dibenzo-p-dioxinen und Dibenzofuranen am „Gesamt-Dioxin-TEQ“ (Summe aus PCDD/F, PBDD/F und PXDD/F) von großem Interesse.

Ein weiteres Ziel der Arbeit war die Entwicklung einer Methode zur Bestimmung von 1,2,5,6,9,10-Hexabromcyclododecan (HBCD) in biologischen Matrices. Dabei sollten HRGC/HRMS und LC-ESI-MS/MS verglichen werden.

3 Experimenteller Teil

3.1 Grundzüge der bestehenden Analytik für PCDD/F und PCB

Die bereits validierte Methode zur routinemäßigen Bestimmung von PCDD/F und PCB in Lebensmitteln und Humanmilch wurde in verschiedenen Laborvergleichsuntersuchungen (LVU) abgesichert (Malisch et al., 1997; Malisch und van Leeuwen, 2002; Malisch et al., 2003) und enthält folgende Elemente:

Nach der Gefriertrocknung wird das Fett quantitativ aus der Probe durch Soxhlet-beziehungsweise Twisselmann-Extraktion mit den Lösungsmittelgemischen extrahiert, die auf die jeweilige Probenmatrix abgestimmt sind. In diesem Fettextrakt liegen aufgrund ihres stark lipophilen Charakters die PCDD/F, PCB und Organochlorpestizide quantitativ vor. Nach Zugabe der $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten internen Standards wird das Fett durch Gelpermeationschromatographie abgetrennt. Danach werden geringe Spuren verbleibender Fettbegleitstoffe oxidativ durch eine Kieselgel-Schwefelsäure-Säule entfernt. Die Abtrennung der PCDD/F von den PCB geschieht durch Adsorptionschromatographie an einer Florisil-Säule. Als letzter Schritt erfolgt bei den polychlorierten Biphenylen eine Auftrennung in die nicht-, mono- und di-ortho-substituierten PCB an einer Aktivkohle-Säule. Die PCDD/F-Fraktion wird ebenfalls über eine Aktivkohle-Säule aufgereinigt. Die Quantifizierung erfolgt durch HRGC/HRMS mittels Isotopenverdünnungsanalyse.

3.2 Materialien

Alle verwendeten Lösungsmittel wurden entweder im Hause (CVUA Freiburg) rückstandsfrei destilliert oder in entsprechender analytischer Reinheit gekauft. Die Einsetzbarkeit der Lösungsmittel wurde anhand von Reagenzienblindwerten überprüft. Kieselgel, Florisil, Natriumsulfat und Celite wurden vor dem Einsatz bei 600 °C für mindestens 10 h gegläht. Glasfaserfilter und Glaswolle wurden mit Toluol unter Rückfluss für mindestens sechs Stunden extrahiert. In Tabelle 1 in Anhang 1 sind Herkunft und Qualität der verwendeten Chemikalien zusammengefasst.

3.3 Glasgeräte

Soweit vorhanden wurden für alle durchgeführten Aufarbeitungsschritte Braunglas-Geräte eingesetzt, andernfalls wurden die Geräte zum Schutz vor Lichteinfluss mit Aluminium-Folie abgedeckt. Die verwendete Glasware wurde maschinell gespült und im Hochtemperatur-Trockenschrank (HT 5-220, Carbolite, Ubstadt-Weiher, D) bei 420 °C für mindestens 3 Stunden ausgeheizt.

3.4 Referenzstandards

Zur Bestimmung von PBDE, PBDD/F, PXDD/F und HBCD wurden unmarkierte und $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierte Referenzstandards beschafft. Mit Ausnahme von HBCD sind nicht für alle untersuchten Kongenere unmarkierte und $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierte Referenzstandards verfügbar. In den Tabellen 2 bis 5 in Anhang 1 sind die verwendeten PBDE-, PBDD/F-, PXDD/F- und HBCD-Referenzstandards zusammengefasst.

3.5 Standard- und Kalibrierlösungen

Für die Herstellung der Stammlösung aus den Originallösungen wurde n-Nonan für PBDE und Toluol für PBDD/F, PXDD/F und HBCD verwendet. Aus diesen Stammlösungen erfolgte anschließend jeweils die Mischung der unmarkierten und $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten Mischstandard-Stammlösungen, die dann zur Herstellung von Kalibrier-, Dotier- und interner Standardlösung dienten. Weitere Verdünnungsschritte wurden bei den PBDE mit Cyclohexan, bei allen anderen Verbindungen mit Toluol durchgeführt.

Pipettierfehler bei der Herstellung der PBDE-Stamm- und Standardlösungen wurden durch Wägung überprüft. Der Gesamtfehler bei der Herstellung von Standard- und Kalibrierlösungen lag bei maximal 2,3 % was deutlich unter der im Analysenzertifikat spezifizierten Ungenauigkeit von 10 % ist. Es wurde daher bei der Herstellung der Lösungen aufgrund der Pipettiergenauigkeit keine Korrektur der Konzentrationen notwendig. Für die Herstellung der Lösungen für PBDD/F, PXDD/F und HBCD wurden dieselben Transferpettoren verwendet. Auch dort lagen die Pipettierfehler deutlich unter der im Analysenzertifikat spezifizierten Genauigkeit. Die Konzentrationen der Kalibrierlösungen und der internen Standards sind in den Tabellen 6 bis 14 im Anhang 2 zusammengefasst.

3.6 Herkunft der Proben

3.6.1 Lebensmittel- und Futtermittelproben

Lebensmittel tierischer Herkunft gelten neben Hausstaub als einer der Hauptaufnahmewege von PBDE für den Menschen. Diese Studie basiert auf Lebensmittelproben, die für die Bestimmung von PCDD/F und PCB in Baden-Württemberg genommen wurden. Es wurden fetthaltige Lebensmittel tierischer Herkunft ausgewählt (Fleisch, Fisch, Kuhmilch, Hühnereier und tierisches Fett). Zusätzlich wurden auch Grünkohlproben als pflanzliche Lebensmittel sowie fetthaltige Futtermittel untersucht. Damit sollte ein erster Überblick über die Hintergrundbelastung von Grundnahrungsmitteln in Baden-Württemberg gewonnen werden. In Tabelle 3.1 sind alle untersuchten Lebensmittel- und Futtermittelproben zusammengefasst.

Tabelle 3.1: Übersicht über die Lebensmittel- und Futtermittelproben

Probenart	Proben-Nr.	Bezeichnung	Probenahme
Fetthaltige Lebensmittel			
Kuhmilch	MI_1	Rohmilch	2005
	MI_2	Rohmilch	2005
	MI_3	Rohmilch	2005
	MI_4	Rohmilch	2005
Butter	BU_1	Süßrahmbutter	2005
	BU_2	gesäuerte Butter	2004
	BU_3	gesäuerte Butter	2004
	BU_4	Sauerrahmbutter	2005
Hühnereier	EI_1	Freilandhaltung	2005
	EI_2	Käfighaltung	2005
	EI_3	Freilandhaltung	2005
	EI_4	biologische Haltung	2005
Fleisch / Fleischprodukte	FL_1	Lammfleisch	2005
	FL_2	Bratwurst	2005
	FL_3	Rindfleisch	2005
	FL_4	Leberwurst	2005
	FL_5	Pferdefett	2005
	FL_6	Schweinefleisch	2004
Zuchtfisch	ZF_1	Regenbogenforelle	2005
	ZF_2	Regenbogenforelle	2005
	ZF_3	Karpfen	2005
	ZF_4	Karpfen	2005
Wildfisch	WF_1	Güster (Neckar)	2003
	WF_2	Brachse (Neckar)	2003
	WF_3	Brachse (Rhein)	2003
	WF_4	Hecht (Rhein)	2003
	WF_5	Zander (Rhein)	2003
	WF_6	Brachse (Neckar)	2003
	WF_7	Brachse (Rhein)	2003
Pflanzliche Lebensmittel			
Grünkohl	GK_1		2005
	GK_2		2005
	GK_3		2005
	GK_4		2005
	GK_5		2005
	GK_6		2005
	GK_7		2005
	GK_8		2005
	GK_9		2005
	GK_10		2005
	GK_11		2005
	GK_12		2005
Futtermittel			
Fetthaltige Futtermittel	FM_1	Fischfuttermittel	2005
	FM_2	Fischfuttermittel	2005
	FM_3	Milchaustausch-Futtermittel	2005

3.6.2 Humanmilchproben

Humanmilch ist eine bewährte Probenart, die Informationen über die Belastung des Menschen in einer bestimmten Region bzw. eines Landes geben kann. Der Mensch am Ende der Nahrungskette zeigt damit auch die Anreicherung von persistenten Kontaminanten in seiner Umwelt auf. Daher wurden Humanmilch-Proben der dritten Runde einer weltweiten WHO-Studie untersucht, um einen weltweiten Vergleich der Gehalte an bromierten Kontaminanten zu bekommen. Das CVUA Freiburg untersuchte in den Jahren 2000 bis 2003 als

Referenzlabor der WHO insgesamt 102 gepoolte Humanmilchproben aus 26 Ländern auf PCDD/F und dioxinähnliche PCB (Malisch und van Leeuwen, 2002; van Leeuwen und Malisch, 2002). Von vielen dieser Humanmilchproben stand noch ausreichend extrahiertes Fett für die Untersuchung auf die bromierten Kontaminanten zur Verfügung. 30 Proben aus 24 verschiedenen Ländern wurden ausgewählt (siehe Tabelle 3.2). Zusätzlich wurden PBDE, PBDD/F und PXDD/F sowie PCDD/F und PCB in einer gepoolten Probe aus Haiti bestimmt.

Tabelle 3.2: Übersicht über die untersuchten Humanmilchproben (Probenahme: WHO-Studie 2000 - 2003, Haiti 2004)

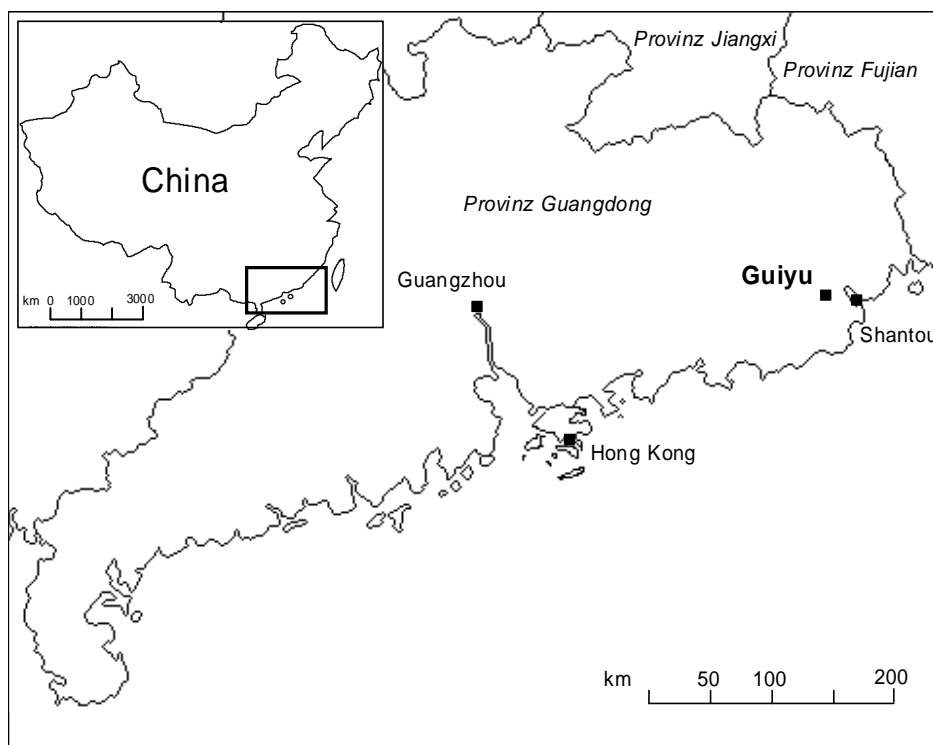
Proben-Nr.	Land	Herkunft
WHO-Studie		
AUS_1	Australien	Bundesstaat New South Wales
B_2	Belgien	unbekannt
B_3	Belgien	unbekannt
BR_4	Brasilien	Bundesstaat Paraiba
BG_5	Bulgarien	Bankja (Region Grad Sofia)
HR_6	Kroatien	Zagreb
CZ_7	Tschechische Republik	Uherske Hradiste (Region Zlinsky kraj)
FJI_8	Fiji	Nausori (Division Central Fiji)
FIN_9	Finnland	Kuopio (Region Pohjois-Savo)
D_10	Deutschland	Mannheim
D_11	Deutschland	Stuttgart
D_12	Deutschland	Kehl
D_13	Deutschland	Ravensburg
HK_14	Hong Kong	unbekannt
H_15	Ungarn	Szentes (Komitat Csongrad)
IRL_16	Irland	Dublin (Provinz Leinster)
IRL_17	Irland	Wicklow (Provinz Leinster)
L_18	Italien	unbekannt
L_19	Luxemburg	unbekannt
NL_20	Niederlande	unbekannt
N_21	Norwegen	Skien (Provinz Telemark)
RP_22	Philippinen	unbekannt
RO_23	Rumänien	Dobruja (Bezirk Constanta)
RUS_24	Russland	Wolgograd
SK_25	Slowakei	unbekannt
E_26	Spanien	Region Baskenland
S_27	Schweden	unbekannt
UA_28	Ukraine	unbekannt
USA_29	Vereinigte Staaten	Bundesstaat Kalifornien
USA_30	Vereinigte Staaten	Bundesstaat North Carolina
Humanmilch		
RH_31	Haiti	unbekannt

3.6.3 Humanmilch- und Hühnereiprüfungen aus Guiyu (China)

Da in den Lebensmittel- und Futtermittelproben aus Deutschland PBDD/F und PXDD/F nicht nachgewiesen werden konnten und in den Humanmilchproben die Gehalte der PBDD/F deutlich unter denjenigen der PCDD/F lagen und PXDD/F in all diesen Proben ebenfalls nicht

nachgewiesen werden konnten, waren Untersuchungen von Proben aus einem Gebiet mit möglicherweise hoher Belastung an PBDE, PBDD/F und PXDD/F von Interesse. In Guiyu in der chinesischen Provinz Guangdong (geographische Breite: 23° 19' 60'' Nord, geographische Länge: 116° 20' 60'' Ost, Abbildung 3.1) werden Metalle aus Elektronikschrott durch offenes Verbrennen der Kunststoffummantelungen unter einfachsten Bedingungen recycelt (Wang et al., 2005).

Abbildung 3.1: Probenahmeort der Hühnerei- und Humanmilchproben: Guiyu, Provinz Guangdong, China



In diesen Proben bestand die Möglichkeit, dass Korrelationen zwischen PBDE und PBDD/F nachgewiesen werden, sowie genauere Informationen über das Kongenerenmuster der PBDD/F erhalten werden konnten. Die Humanmilchprobe (HM_Guiyu) einer in Guiyu wohnhaften Frau sowie zwei Hühnereiprüfungen (EI_Guiyu_1, EI_Guiyu_2) von einem lokalen Markt wurden von Prof. Wong (Hong Kong Baptist University) zur Verfügung gestellt. Die Probenahme erfolgte im Mai 2005.

3.7 Probenaufarbeitung zur Bestimmung von PBDE, PBDD/F und PXDD/F

Die Probenvorbereitung und Teile der Aufarbeitung der Proben konnten aus bereits validierten Verfahren übernommen werden, die zur Bestimmung von PCDD/F und PCB in Lebensmitteln, Futtermitteln und Humanmilch am CVUA Freiburg entwickelt wurden. Dies war möglich, da die bromierten Vertreter sehr ähnliche physikalische und chemische Eigenschaften aufweisen. Die Bestimmung von HBCD konnte nicht in das bestehende Verfahren integriert werden und wurde separat durchgeführt. Zum Einengen von Extrakten wurden Rotationsverdampfer oder Stickstoffabblasergeräte mit temperiertem Heizblock eingesetzt. Um das Risiko von Kontaminationen zu minimalisieren, wurden die Rotationsverdampfer vor der Verwendung mit je ca. 50 ml des verwendeten Lösungsmittels gespült. Wegen der hohen Kontaminationsgefahr wurde für die weitere Entwicklung einer separaten empfindlichen Bestimmung von DecaBDE eine kontaminationsfreie Konzentrierungsmethode wie z.B. ein TurboVap 500 (Caliper LifeSciences, Rüsselsheim, D) als Alternative eingesetzt.

Die Probenaufarbeitung zur Bestimmung von PBDE, PBDD/F und PXDD/F ist im folgenden zusammengefasst. Einen Überblick über die einzelnen Schritte gibt Abbildung 3.2. Die detaillierte Aufarbeitung ist in Anhang 2 wiedergegeben. Bei fetthaltigen Lebensmitteln wird Fett zusammen mit den Analyten nach der Gefriertrocknung der Probe mit organischen Lösungsmitteln extrahiert. Die $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten Standards wurden dem Fettextrakt zugesetzt. Fett und andere störende Begleitstoffe wurden mittels Gelpermeationschromatographie und anschließend oxidativ mit einer Kieselgel-Schwefelsäure-Säule entfernt. Die Abtrennung der PBDE von den PBDD/F und PXDD/F erfolgte an einer Florisil-Säule. Die PBDE-Fraktion enthielt auch die PCB, die Fraktion der PBDD/F und PXDD/F auch die PCDD/F. Zur vollständigen Abtrennung der PBDD/F und PXDD/F von PBDE und PCB wurde ein automatisiertes Probenaufreinigungssystem mit Aktivkohle-Säule verwendet. Die Aufarbeitung pflanzlicher Proben unterschied sich von derjenigen für fetthaltige Lebensmittel. Die internen Standards wurden vor der Gefriertrocknung zugesetzt. Nach der Lösungsmittelextraktion erfolgte eine erste Abtrennung störender Begleitstoffe mit einer Kieselgel-Schwefelsäure-Säule. Die weiteren Schritte waren mit denjenigen für fetthaltige Lebensmittel identisch.

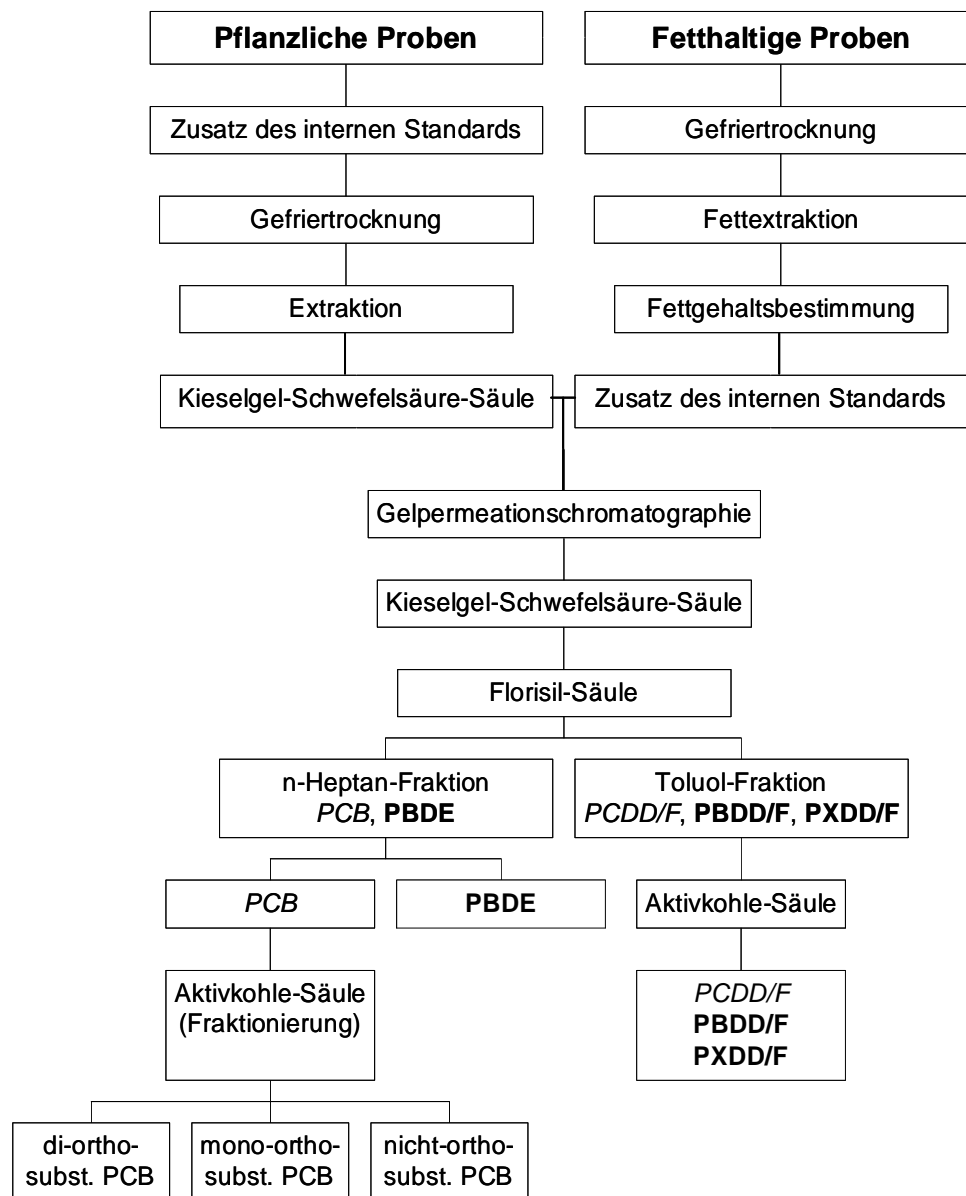


Abbildung 3.2: Übersicht über die Aufarbeitung zur Bestimmung von PBDE, PBDD/F und PXDD/F in biologischen Matrices

3.8 Probenaufarbeitung zur Bestimmung von HBCD

Für die Bestimmung von HBCD wurde eine separate möglichst einfache und schnelle Methode entwickelt, die in Abbildung 3.3 dargestellt ist. Die Gefriertrocknung und Fettextraktion erfolgten in gleicher Weise wie für die übrigen bromierten Verbindungen (siehe Abschnitt 3.7). Fett und andere oxidierbare Substanzen wurden dann über eine Kieselgel-Schwefelsäure-Säule abgetrennt. Der Extrakt wurde mit einer Florisil-Säule noch weiter aufgereinigt. Für die Quantifizierung mittels HRGC/HRMS und LC/MS-MS wurde der Extrakt nach dem letzten Aufarbeitungsschritt im Verhältnis 1:1 geteilt. Die detaillierte Aufarbeitung ist im Anhang 3 beschrieben.

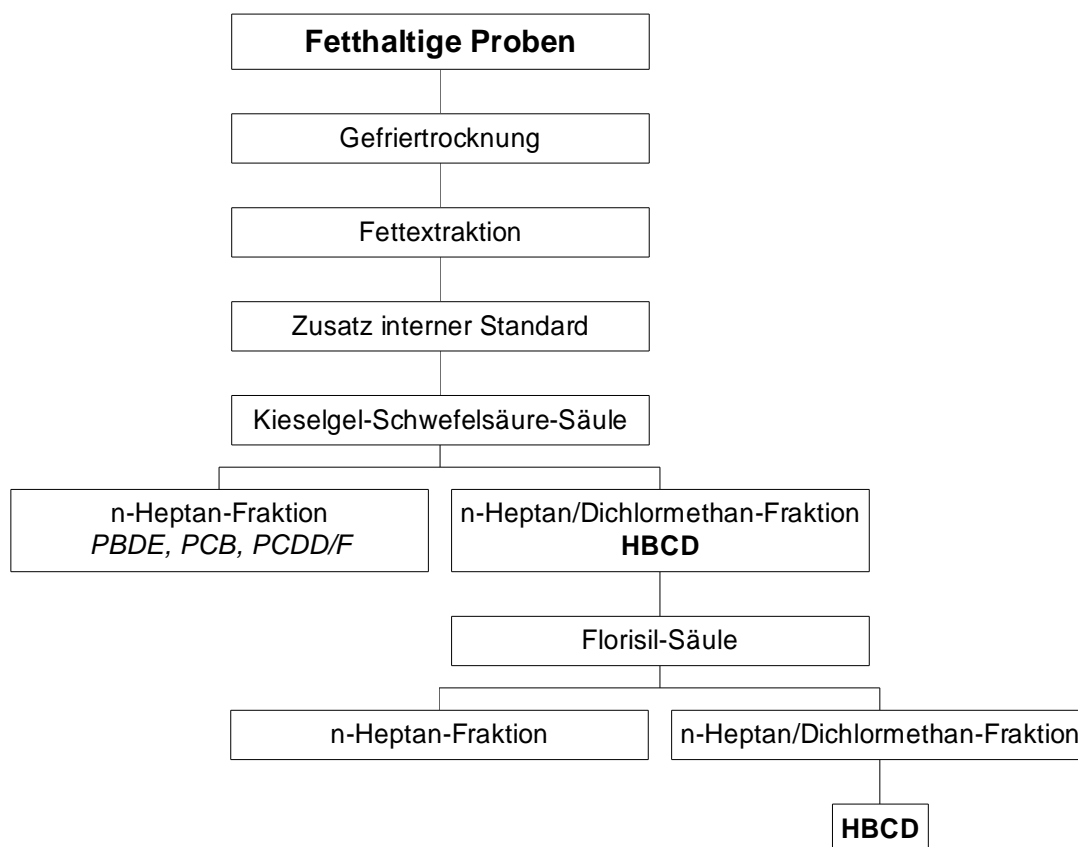


Abbildung 3.3: Übersicht über die Aufarbeitung von fetthaltigen Proben für die Bestimmung von HBCD

3.9 Quantifizierung mit HRGC/HRMS

Alle aufgearbeiteten Extrakte wurden mittels einer Kombination aus hochauflösender Gaschromatographie (HRGC) und hochauflösender Massenspektrometrie (HRMS) mit Elektronenionisation (EI) quantifiziert. Die gaschromatographischen und massenspektrometrischen Parameter wurden für die Bestimmung von PBDE, PBDD/F, PXDD/F und HBCD optimiert. Im Anhang 4 (Tabelle 1, 2 und 3) sind die experimentellen Parameter zusammengefasst.

Für die massenspektrometrische Messung im SIM-Modus (selektive Ionendetektion, „single ion monitoring“) wurden jeweils die intensivsten Ionen oder diejenigen Massen mit geringem Grundrauschen oder Störungen eingesetzt. Die intensivsten Ionen wurden durch im Scan-Modus aufgenommene Massenspektren ermittelt. Die verwendeten Isotopensignale der Molekülionen von DiBDE, TriBDE, PBDD/F und PXDD/F und der $[M-2Br]^+$ -Fragmente von TetraBDE bis OctaBDE sind im Anhang 4 in den Tabellen 4 bis 6 zusammengefasst. Für HBCD wurde neben dem Fragment $[M-Br]^+$ zur Identifikation das $[M-H_2Br_3]^+$ -Ion zur Quantifizierung verwendet (Anhang 4, Tabelle 7). Die Messzeiten pro Massenspur lagen abhängig von der Anzahl der Massen pro Gruppe zwischen 5 und 172 ms. Die totale Messzeit pro Gruppe war 0,4 s. Die Kalibrierung und Kontrolle der Massen erfolgte über Referenzionen („lock masses“ und „calibration masses“) von Perfluorkerosen (Fluka, Buchs, CH) mit einem Siedebereich von 210 bis 260 °C. Die Messzeiten lagen dafür pro Massenspur zwischen 1 und 4 ms pro Gruppe.

3.10 Quantifizierung von HBCD mittel HPLC/MS-MS

Bei der Trennung mit HPLC ist im Gegensatz zur gaschromatographischen Bestimmung eine Trennung der drei Diastereomere α -, β - und γ -HBCD möglich. Die vergleichenden Messungen zur HRGC-HRMS-Methode wurden vom HPLC-MS-Labor im CVUA Freiburg durchgeführt. Dort erfolgte die Entwicklung und Optimierung der Messmethode. Die Parameter und die zur Messung verwendeten Isotopensignale sind in Tabelle 8 im Anhang 4 zusammengefasst.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Qualitätssicherung

4.1.1 Identifikations- und Quantifizierungskriterien

Zur Identifikation der unmarkierten PBDE-, PBDD/F-, PXDD/F- und HBCD-Kongeneren in Probenextrakten wurden die Retentionszeiten von unmarkierten Kongeneren der Kalibrierlösungen und diejenigen der zugehörigen $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten Kongeneren in den Probenextrakten verwendet. Die maximale Abweichung zwischen tatsächlicher (im Probenextrakt) und vorgegebener Retentionszeit (in den Kalibrierlösungen) wurde auf 3 s festgelegt. Die relative Retention der unmarkierten Kongenere zum jeweils zugeordneten $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten Standard war ein zusätzliches Kriterium. Tolerable Abweichungen waren ≤ 2 s. Ein weiteres Identifikationskriterium war das Isotopenverhältnis. Das Verhältnis der Signalflächen zweier Isotopenmassen durfte um maximal ± 15 % vom theoretischen Wert abweichen (Covaci et al., 2003). Für die gemischt bromiert-chlorierten Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane, bei denen nur zwei $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierte und sechs unmarkierte Referenzverbindungen zur Verfügung standen, konnte nur das Isotopensignal-Verhältnis verwendet werden.

Die Quantifizierung der identifizierten Kongenere erfolgte über die zugesetzten isotopenmarkierten Standards mittels Isotopenverdünnungsanalyse. Zur Berechnung wurde dabei die Summe beider zu Identifikation eingesetzten Massen herangezogen. Die Wiederfindungen der $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten Kongenere wurden bezüglich des Wiederfindungsstandards Mirex für PBDE und bezüglich $^{13}\text{C}_{12}$ -BDE 77 für PBDD/F, PXDD/F und HBCD berechnet. Werte im Bereich zwischen 70 und 120 % gelten als akzeptabel (Covaci et al., 2003). Nach der Richtlinie 2002/69/EG sollen bei der PCDD/F-Bestimmung in Lebensmitteln die Wiederfindungen der einzelnen internen Standards zwischen 60 und 120 % liegen. Stärker abweichende Wiederfindungen sind dabei akzeptabel, wenn der Beitrag der betreffenden Kongenere zum WHO-PCDD/F-TEQ ≤ 10 % ist.

Für die Berechnung der Nachweisgrenze wurde hier ein Signal-zu-Rauschen-Verhältnis von 3:1, für die Bestimmungsgrenze von 10:1, verwendet. Die Berechnung erfolgt dabei über den

Mittelwert beider zur Quantifizierung eingesetzten Massenspuren. Die Nachweisgrenze wurde jeweils für alle Massenspuren bei allen Proben berechnet. Im Folgenden sind für alle Kongenere jeweils die Nachweisgrenzen auf der Basis eines Signal-zu-Rauschen-Verhältnisses von 3:1 angegeben.

4.1.2 Methodenvalidierung

Die verwendeten Analysemethoden für PBDE, PBDD/F und PXDD/F wurden für fetthaltige Lebensmittel und Futtermittel sowie Humanmilch validiert. Dafür wurden Effektivität der Probenaufarbeitung bezüglich Matrixabtrennung sowie Wiederfindung, Selektivität, Linearitätsbereich und Nachweisgrenzen bestimmt. Die Kontrolle der Blindwerte stellte insbesondere bei der PBDE-Analytik einen zentralen Punkt dar. Die Präzision und Richtigkeit wurden im Rahmen von Laborvergleichsuntersuchungen für PBDE zusätzlich überprüft. Für die Kontrolle der Robustheit der Methode wurden zusätzlich der Einfluss verschiedener Lösungsmittel- und Materialchargen und die Verwendung von Braun- und Klarglas getestet. Bei einigen Aufarbeitungsschritten konnte auf bereits validierte Teilschritte der Bestimmung von PCDD/F und PCB zurückgegriffen werden. Die Effizienz der Extraktionsmethode wurde aus den oben genannten validierten Verfahren für PCDD/F und PCB abgeleitet und durch Laborvergleichsuntersuchungen überprüft.

4.1.2.1 PBDE

Kalibrierung und Wiederholungsinjektionen:

Sechs Kalibrierlösungen in einem Konzentrationsbereich über zwei Größenordnungen wurden zur Kalibrierung eingesetzt. Bezogen auf eine Fetteinwaage von 3 g bei 30 µl Endvolumen ergab sich ein kalibrierter Bereich zwischen 1,25/12,5 und 125/1250 pg/g Fett für Di- bis OctaBDE (400 - 4000 pg/g Fett für DecaBDE). Die Variationskoeffizienten der relativen Response-Faktoren (RRF) der unmarkierten Kongenere waren < 7 % für Kongenere mit entsprechendem ¹³C₁₂-isotopenmarkiertem Standard bzw. < 11 % ohne solchen. Nach der EPA-Methode 1613 (United States Environmental Protection Agency, 1994) für die Bestimmung von PCDD/F sollte bei einer 5-Punkt-Kalibrierung der Variationskoeffizient des RRF für die Einzelkongenere < 20 % sein. Da die Bestimmung von PBDE, PBDD/F und PXDD/F mit der Bestimmung von PCDD/F vergleichbar ist, können hier diese Kriterien

angelegt werden. Das Bestimmtheitsmaß R^2 der Kalibriergerade als Quotient aus Konzentration und Flächenverhältnis zwischen internem Standard und Analyt war jeweils größer als 0,99.

Für das wichtigste Kongener BDE 47 lag der kalibrierte Bereich zwischen 3,1 und 312 pg/g Fett. Die obere Konzentrationsgrenze wurde durch die Konzentration der Originallösungen und deren Mischung begrenzt. Die meisten niedrig belasteten Lebensmittelproben liegen innerhalb der Kalibrierung. Der Gehalt in Fischen oder Humanmilch ist aber zum Teil um bis zu drei Größenordnungen über dem höchsten Kalibrierpunkt. Eine geringere Fetteinwaage oder größere Extraktvolumen können nicht eingesetzt werden, da ansonsten Kongenere im unteren Spurenbereich nicht mehr quantifizierbar sind. Eine Möglichkeit ist, die Proben zweimal mit unterschiedlichen Fetteinwaagen und Extraktvolumen zu messen. Mit Hilfe der Probe „Forelle“ der Laborvergleichsuntersuchung „Dioxins in Food 2004“ konnte aber gezeigt werden, dass Konzentrationen, die mehr als drei Größenordnungen oberhalb des kalibrierten Bereichs lagen, extrapolativ mit ausreichender Genauigkeit ermittelt werden konnten. Die durchschnittliche Abweichung der Gehalte der PBDE-Kongenere # 28, 47, 99, 100, 153 und 154 vom Konsenswert lagen bei der Probe Forelle bei 25 %. Bei der in der gleichen Laborvergleichsuntersuchung untersuchten Probe Hühnerfleisch, deren PBDE-Gehalte innerhalb der Kalibrierung lagen, war diese Abweichung 20 %.

Bei Wiederholungsinjektionen von auf zwei unterschiedlichen Niveaus dotiertem Milchfett ($n = 5$ und 6) in verschiedenen Messsequenzen lag der Variationskoeffizient für alle Kongenere mit Ausnahme von BDE 66 (21 bzw. 26 %) unter 15 %. Diese Variationskoeffizienten sind mit denjenigen vergleichbar, die für die relativen Responsefaktoren bei der Kalibrierung ermittelt wurden.

Optimierung der Extraktionszeit:

Zur Überprüfung und Optimierung der Fettextraktion wurden drei verschiedene fetthaltige Matrices untersucht: Hühnereier, Vollmilch und Vollmilchpulver. Die Optimierung erfolgte in erster Linie in Bezug auf die Extraktionszeit. Dazu wurden Aliquote des (gefriergetrockneten) homogenisierten Ausgangsmaterials mit dem geeigneten Lösungsmittel (Ethanol/Toluol und Nachreinigung mit *tert*-Butyl-methylether für Vollmilch und Milchpulver bzw. Cyclohexan/Toluol für Eier) für 15, 30, 45, 60, 120 und 360 min extrahiert.

Die Probeneinwaage wurde dabei so gewählt, dass ca. 5 g Fett nach der Extraktion erhalten wurden. Für die Eiprobe wurde zusätzlich die doppelte Einwaage gewählt. Als Vergleichswert wurde jeweils die extrahierte Fettmenge nach einer Extraktionszeit von 6 h herangezogen. Der spezifizierte Fettgehalt des Vollmilchpulvers lag bei 26 %, der nach einer Extraktionszeit von 6 h ermittelte durchschnittlich bei 26,6 %.

Es zeigte sich, dass beim Einsatz der Twisselmann-Heissextraktion in allen drei untersuchten Probenmatrizes ca. 95 % des Fettes bereits nach 60 min extrahiert waren (siehe Abbildung 4.1). Bei vergleichbaren Probeneinwaagen (bezogen auf das extrahierbare Fett) war bei Eiern und Vollmilch bereits nach 15 min das Fett nahezu vollständig extrahiert. Die Verdoppelung der Einwaage bei Eiern ergab eine Erhöhung der notwendigen Extraktionszeit auf 30 min. Für die untersuchten Probenmatrizes war damit bei einer Probeneinwaage, die ca. 5 g Fett enthielt, eine Extraktionszeit von 60 min ausreichend. Eine Erklärung für die abweichenden Ergebnisse bei der Extraktion der Vollmilch konnte nicht gefunden werden. Hier wurden 5 % des insgesamt extrahierten Fettes erst nach zwei bis sechs Stunden extrahiert.

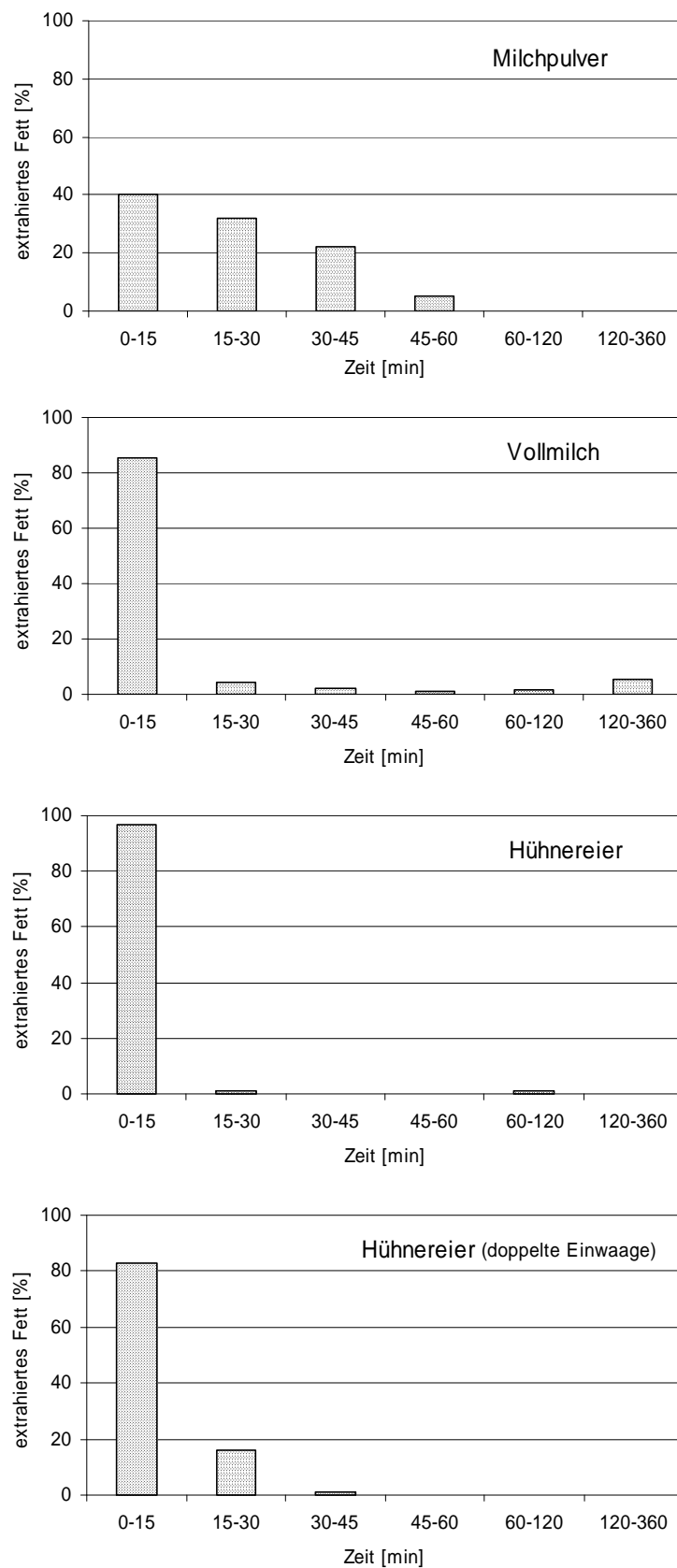


Abbildung 4.1: Extraktionseffektivität der Twisselmann-Heissextraktion in Abhängigkeit der Extraktionszeit

Wiederfindung:

Die Wiederfindungsraten der internen $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten Standards wurden für jede Probe kontrolliert. So konnte die Qualität der Probenextraktion und Aufarbeitung überprüft werden. Bei fetthaltigen Proben wurden die internen Standards nach der Extraktion dem gereinigten Fett zugesetzt. In Tabelle 4.1 sind die Wiederfindungen der Aufarbeitungen von fetthaltigen Proben, die im Rahmen der Validierung durchgeführt wurden, zusammengefasst. Die Berechnung der Wiederfindung erfolgte über den vor der Quantifizierung zugesetzten Wiederfindungsstandard Mirex.

Tabelle 4.1: Wiederfindungen der Aufarbeitung von fetthaltigen Proben für die Bestimmung von PBDE (n=28)

$^{13}\text{C}_{12}$ -markierte PBDE	Wiederfindung [%]	Variationskoeffizient [%]
BDE 15	82	9,0
BDE 28	90	8,4
BDE 47	95	9,7
BDE 77	100	10
BDE 99	98	10
BDE 100	95	9,1
BDE 126	107	13
BDE 153	100	11
BDE 183	105	12
BDE 209	42	23

Die Wiederfindungen der $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten Standards sollten 60 - 120 % betragen. Bei der Methodvalidierung (n = 28) lagen die Wiederfindungen zwischen 82 und 107 % (Variationskoeffizienten ≤ 13 %). Nur bei BDE 209 lagen sie mit 42 % niedriger.

Dotierung von Real-Proben mit unmarkierten Kongeneren:

Unmarkierte Kongenere wurden bei fetthaltigen Proben zum extrahierten Fett zugesetzt. Dadurch ließen sich mögliche Matrixstörungen bei der Quantifizierung der einzelnen Kongenere erkennen. Extrahiertes Milchfett als niedrig belastetes Lebensmittel wurde im Bereich 6,7-33 (DiBDE) und 67-333 pg/g Fett (OctaBDE) auf vier Niveaus dotiert. Sonnenblumenöl als nahezu analytfreie Matrix wurde mit niedrigeren Konzentrationen

getestet (1,7-13,3 und 17-133 pg/g Fett auf fünf Niveaus). In Tabelle 4.2 sind die Abweichungen vom dotierten Wert für Milchfett und Sonnenblumenöl zusammengefasst.

Tabelle 4.2: Abweichung der gemessenen PBDE-Gehalte vom Sollwert bei der Dotierung von Milchfett und Sonnenblumenöl auf 4 bzw. 5 Konzentrationsniveaus

unmarkierte Kongenerere	Milchfett		Sonnenblumenöl	
	Abweichung vom dotierten Wert [%]		Abweichung vom dotierten Wert [%]	
	Mittelwert	Maximum	Mittelwert	Maximum
BDE 15	3,4	8,3	16	27
BDE 17	4,4	12	6,4	12
BDE 28	5,7	9,3	8,3	22
BDE 47	17	36	13	20
BDE 66	10	32	6,8	16
BDE 71	4,0	9,9	4,8	7,9
BDE 75	6,9	15	7,2	16
BDE 77	1,7	7,4	6,5	14
BDE 85	8,3	23	21	39
BDE 99	10	38	13	22
BDE 100	5,9	17	3,2	7,1
BDE 119	9,1	14	6,5	13
BDE 126	5,0	21	4,1	8,8
BDE 138	11	41	21	58
BDE 153	16	37	48	127
BDE 154	14	28	20	48
BDE 183	62	100	300	890
BDE 190	13	41	28	63
BDE 203	25	47	42	67

Die Abweichungen sollten bei dotierten Proben mit ≤ 25 % im gleichen Bereich liegen, wie diejenigen für die relevanten Kongenerere bei Qualitätskontrollproben (Päpke et al., 2004). Im Vergleich zu diesen können aber etwas höhere Abweichungen toleriert werden, da zusätzliche Ungenauigkeiten bei der Zugabe der unmarkierten Kongenerere und der Bestimmung der undotierten Probe auftreten können. Bei der Dotierung von Milchfett lagen die mittleren Abweichungen vom dotierten Wert zwischen 1,7 und 25 % mit Ausnahme von BDE 183 (62 %). Beim Sonnenblumenöl zeigten sich größere Abweichungen bei höherbromierten PBDE. Die hexa-, hepta- und octabromierten Kongenerere (BDE 153, 154, 183, 190 und 203) zeigten im niedrigen Konzentrationsbereich systematisch zu hohe Abweichungen von zum Teil deutlich über 30 % durch zu hohe Blindwerte. Der Grund für diese großen Abweichungen bei

den höherbromierten Kongeneren war, das zum Zeitpunkt der Durchführung die Blindwerte noch nicht optimiert worden waren. Bei den Abweichungen vom dotierten Wert gab es keine Unterschiede zwischen Kongeneren mit und ohne eigenem $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten Standard.

Nachweisgrenzen:

Die Nachweisgrenzen (NWG) wurden für jede Probe und alle Kongenere bestimmt. Diese hingen dabei sehr stark vom Hintergrundrauschen der Restmatrixmenge und dem Konzentrationsbereich ab. Nachweisgrenzen ≤ 20 pg/g Fett wurden für fast alle Kongenere (außer BDE 209: 100 - 200 pg/g Fett) und Proben erreicht und waren in der Regel ausreichend. Diese Nachweisgrenzen sind mit denjenigen von Zennegg et al. (2003) vergleichbar, die für di- bis heptabromierte Kongenere Nachweisgrenzen zwischen 14 und 33 pg/g Fett (bei 1 g Fetteinwaage) ermittelten.

Blindwerte:

Eine wichtige Aufgabe bei der Analytik von PBDE stellt die Überwachung und Minimierung der Blindwerte dar. Da PBDE in vielen Geräten im Labor auch als Flammschutzmittel eingesetzt werden, sind sie dort zum Teil auch als Hintergrund vorhanden. Pöpke et al. (2004) geben einen Überblick über Parameter, die bei der Aufarbeitung einen Einfluss auf den Blindwert haben können. Wichtige Gegenmaßnahmen sind: Verzicht auf Rotationsverdampfer, Vorspülen von Glasgeräten und Materialien, regelmäßige Überprüfung von Chemikalien und Verzicht auf Kunststoffe bei der Aufarbeitung. Die dadurch erreichten Blindwerte lagen bezogen auf eine totale Fetteinwaage von 0,5 g zwischen 3 und 78 pg/g Fett. Covaci et al. (2003) empfehlen ebenfalls einen Verzicht auf Kunststoffe.

Parallel zu jeder Probenaufarbeitungsserie wurden Reagenzienblindwerte bestimmt, die alle Aufarbeitungsschritte, einschließlich Extraktion, durchlaufen hatten. Durch kontinuierliche Optimierung der Aufarbeitung (Ausheizen der Glasgeräte, Verzicht auf Kunststoffteile soweit möglich und Vorspülen des Rotationsverdampfers mit ca. 50 ml des jeweils eingesetzten Lösungsmittels) konnten die Blindwerte deutlich reduziert werden. Abbildung 4.2 zeigt den zeitlichen Verlauf der Blindwerte der anfangs sehr problematischen hexa- und heptabromierten Kongenere BDE 153, 154, 183 und 190.

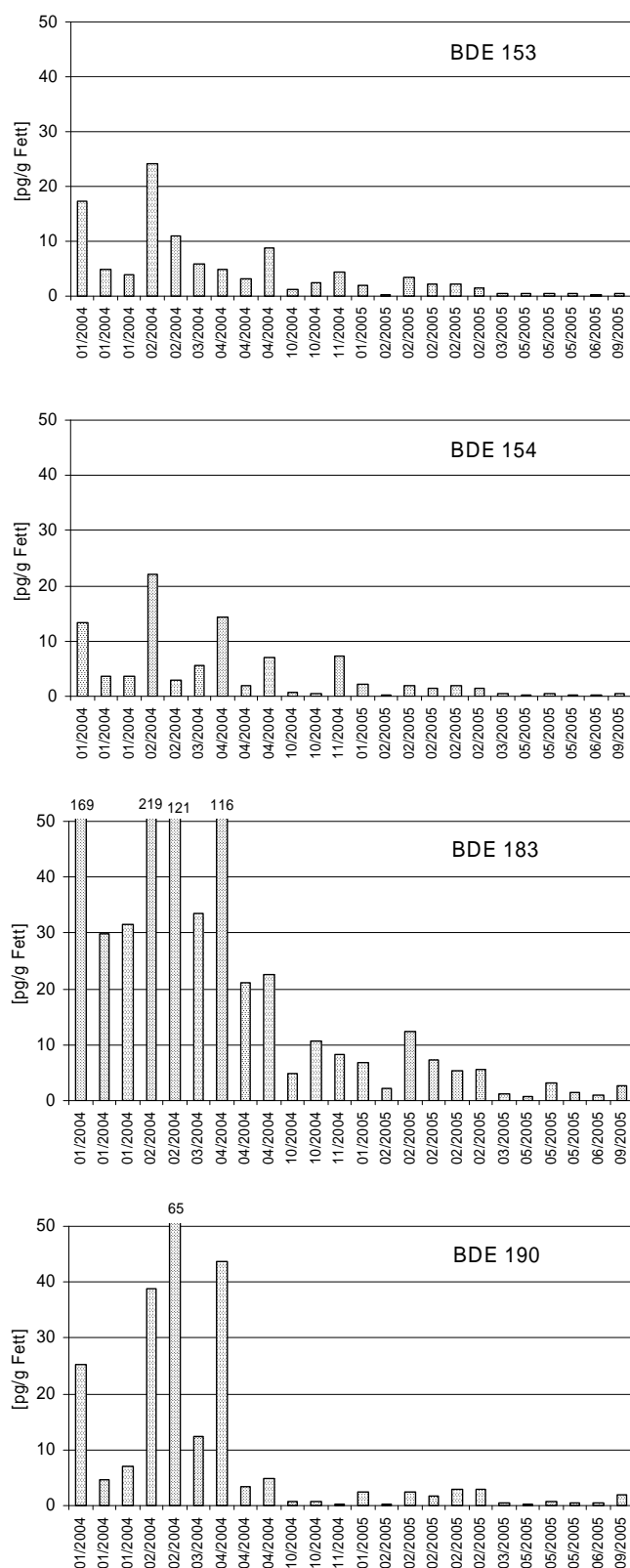


Abbildung 4.2: Zeitliche Entwicklung (Zeitraum 01/2004 bis 09/2005) der Reagenzienblindwerte für hexa- und heptabromierte Kongenere durch Minimalisierung des Kontaminationsrisikos bei der Aufarbeitung (Ergebnisse in pg/g Fett bezogen auf 3 g Fetteinwaage)

Die Reagenzienblindwerte enthielten nach Optimierung der Aufarbeitung noch BDE 47, 99, 100 und 183 in nahezu jeder Probe. BDE 28, 153, 154 und 190 wurden nur noch in einigen Proben nahe der jeweiligen NWG nachgewiesen. Der Median der Blindwerte lag bei BDE 47 bei 5,9 pg/g Fett (Bereich: 1,8 - 19,6 pg/g), für BDE 99 bei 4,5 pg/g Fett (Bereich: 1,5 - 18,3 pg/g), für BDE 100 bei 1,5 pg/g Fett (Bereich: 0,5 - 4,5 pg/g) und für BDE 183 bei 3,1 pg/g Fett (Bereich: 0,8 - 12,5 pg/g). Die Gehalte der übrigen Kongenere (außer BDE 209) entsprachen der Nachweisgrenze (Bereich: 0,5 - 20 pg/g Fett). In Abbildung 4.3 ist der Median von 11 Reagenzienblindwerten dargestellt. Die Nachweisgrenzen wurden dabei in die Berechnung miteinbezogen. Die höheren Nachweisgrenzen von BDE 77 und 126 im Vergleich mit ihren homologen Kongeneren können durch die deutlich niedrigere Intensität des gemessenen Ions $[M-2Br]^+$ erklärt werden. Da diese beiden Kongenere keine Substitution in ortho-Position zur Etherbrücke aufweisen, unterscheidet sich ihr Massenspektrum durch eine wesentlich höhere relative Intensität des Moleküliions deutlich von den ortho-substituierten Kongeneren.

Bei niedrig belasteten Proben war aber vor allem der Blindwert der limitierende Faktor für die Quantifizierung. Für die Hauptkongenere BDE 47 und 99 lag der maximale Blindwert nur noch einen Faktor 2 bis 3 unter den Probengehalten. Für die Kongenere BDE 100, 153 und 183 waren Mess- und Blindwerte vergleichbar. Bei BDE 183 lag der maximale Blindwert sogar um den Faktor 4 über den Messwerten in einigen Proben. Alle Ergebnisse der Untersuchung der Lebensmittel, Futtermittel und Humanmilchproben sind nicht blindwertkorrigiert.

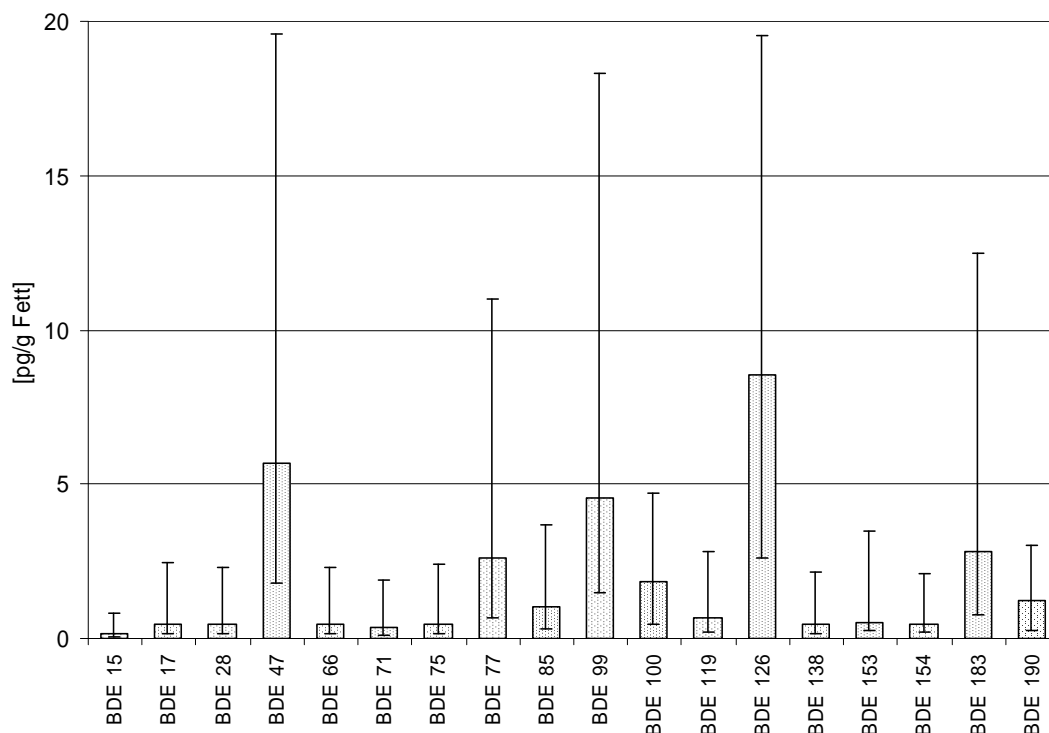


Abbildung 4.3: Median der PBDE-Reagenzienblindwerte (01/2005 bis 09/2005, n=12) in pg/g Fett (bezogen auf 3 g Fetteinwaage). Minima und Maxima sind ebenfalls aufgeführt. Die Nachweisgrenzen (NWG) sind in die Berechnung mitaufgenommen.

Blindwerte von DecaBDE:

Bei DecaBDE schwankten die Blindwerte stark. Die Aufkonzentrierung der Lösungen erfolgte mittels Rotationsverdampfer, Konzentrierungszentrifuge und Stickstoffabblasergeräte. Die niedrigsten Blindwerte ergaben sich beim ausschließlichen Abblasen mit Stickstoff. Die Tests der einzelnen Aufarbeitungsschritte und der Gesamtaufarbeitung wurden mit dem Rotationsverdampfer durchgeführt. Bei der Minimierung der DecaBDE-Blindwerte wurden die gleichen Optimierungsschritte wie für die übrigen PBDE verwendet. In Tabelle 4.3 sind Minimal- und Maximalkonzentrationen der DecaBDE-Blindwerte dargestellt.

Tabelle 4.3: Reagenzienblindwerte für BDE 209 in ng/g Fett (bezogen auf 1 g Fetteinwaage)

	Reagenzienblindwert DecaBDE [ng/g Fett]	
	Minimum	Maximum
Reine Lösungsmittel	< 0,1	28
Extraktion	< 0,1	54
einzelne Aufreinigungsschritte	0,1	290
Gesamtaufarbeitung (ohne Extraktion)	1,3	7,0
Materialien (Kieselgel, Florisil, Glaswolle, Glasfaserfilter)	0,2	140
Spüllösung des Rotationsverdampfers		28

Eine sinnvolle Validierung der Methode zur Bestimmung von DecaBDE ist erst nach Minimierung der Blindwerte möglich. Dazu wurde ein alternatives Aufkonzentrierungssystem ohne Einsatz einer Vakuumpumpe (hier: Turbovap 500, Caliper Life Sciences, Rüsselsheim, D) getestet. Bei ersten Vorversuchen konnten einige geeignete Deca-BDE-freie Lösungsmittel für die Aufarbeitung gefunden werden. Mit Hilfe einer blindwertfreien Konzentrierungsmethode und sauberen Lösungsmitteln können dann die einzelnen Aufarbeitungsschritte überprüft werden.

Lichtempfindlichkeit des Extraktes:

Ein wichtiger Aspekt hinsichtlich der Robustheitskontrolle der Methode war die Untersuchung der Lichtempfindlichkeit der PBDE bei der Aufarbeitung. Dazu wurden Quantifizierungen der PBDE-Qualitätskontrollprobe unter Verwendung von Braun- und Klarglas miteinander verglichen (n=3). Beim Vergleich der Ergebnisse für Klarglas mit den Ergebnissen für Aufarbeitungen in Braunglas lagen die Abweichungen vom Mittelwert für die untersuchten Kongenere unter 14 %. Die Wiederfindungen der ¹³C₁₂-isotopenmarkierten Standards bei fünf aufgearbeiteten Realproben unter Verwendung von Klarglas variierten zwischen 65 und 109 %. Bei den Abweichungen der Gehalte der unmarkierten Kongenere aus der Aufarbeitung mit Klarglas vom Mittelwert der Aufarbeitungen mit Braunglas als auch bei der Wiederfindung der internen Standards waren keine signifikanten Unterschiede zu erkennen. Somit ist bei der Aufarbeitung der di- bis heptabromierten PBDE die Gefahr von Verlusten durch photolytischen Abbau als eher gering einzustufen. Für DecaBDE ist die

Gefahr des Abbaus durch UV-Strahlung größer. Die Verwendung von Braunglas und Minimierung des Einflusses von Tageslicht kann dies aber minimieren (Covaci et al., 2003).

Qualitätskontrollproben:

Zur laufenden Überprüfung der analytischen Qualität wurden in Aufarbeitungsserien eigene Kontrollproben sowie Referenzmaterialien von Laborvergleichsuntersuchungen regelmäßig analysiert. Die eigenen Kontrollproben gaben einen Hinweis auf den Langzeit-Trend bei der Aufarbeitung. Eine homogenisierte Mischung aus extrahierten tierischen Fetten (QK-Probe) wurde dabei zu jeder Aufarbeitungsserie von maximal 10 Proben untersucht. Diese Qualitätskontrollprobe wurde bereits zur Kontrolle der analytischen Qualität bei der PCDD/F- und PCB-Analytik verwendet, so daß bei einer parallelen Aufarbeitung der verschiedenen Stoffklassen lediglich eine Qualitätskontrollprobe aufgearbeitet werden musste. Die PBDE-Gehalte der Probe lagen im Konzentrationsbereich von Lebensmitteln. Das Kongenerenmuster war ebenfalls vergleichbar. Die QK-Probe wurde über einen Zeitraum von 18 Monaten sechzehnmal untersucht. In Tabelle 4.4 sind die Einzelergebnisse der nachweisbaren Kongenere zusammengefasst.

Tabelle 4.4: Median und Variationskoeffizient (VK) der PBDE-Konzentrationen einer Qualitätskontrollprobe (n=16). Mittlere Abweichungen vom Median und mittlere Wiederfindungen der $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten internen Standards und deren Bereich sind zusätzlich angegeben.

Kongener	Median [pg/g Fett]	VK [%]	mittlere Abweichung der Einzelergebnisse vom Median [%]	mittlere Wiederfindung der $^{13}\text{C}_{12}$ - markierten Standards und Bereich [%]
BDE 15	2,2	15	11	84 (47 - 122)
BDE 17	4,2	30	24	*
BDE 28	36	9	8	88 (60 - 105)
BDE 47	796	10	7	87 (34 - 113)
BDE 66	40	38	24	*
BDE 85	9,1	18	15	*
BDE 99	393	11	7	91 (66 - 113)
BDE 100	143	8	6	88 (63 - 109)
BDE 138	3,5	27	14	*
BDE 153	78	8	5	99 (69 - 125)
BDE 154	57	14	10	*
BDE 183	24	27	14	107 (64 - 146)

* kein $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierter Standard verfügbar

Der Variationskoeffizient war für die wichtigsten Kongenere (BDE # 28, 47, 99, 100, 153 und 154) unter 14 %, einzig der Wert für BDE 183 war aufgrund der geringen Konzentration und der dazu relativ hohen Blindwertbelastung mit 27 % deutlich höher. Der Variationskoeffizient von 38 % für BDE 66 war auf die Interferenzen mit PCB 170 zurückzuführen. Pöpke et al. (2004) ermittelten bei einer Qualitätskontrollprobe mit vergleichbaren PBDE-Konzentrationen Variationskoeffizienten zwischen 6 und 23 %. Die ermittelten Wiederfindungen der internen Standards lagen größtenteils im akzeptablen Bereich zwischen 60 und 120 %. Der Langzeittrend der Kontrollprobe zeigt bei den letzten Messungen größere Abweichungen, deren Ursachen aber nicht gefunden werden konnten (siehe Abbildung 4.4).

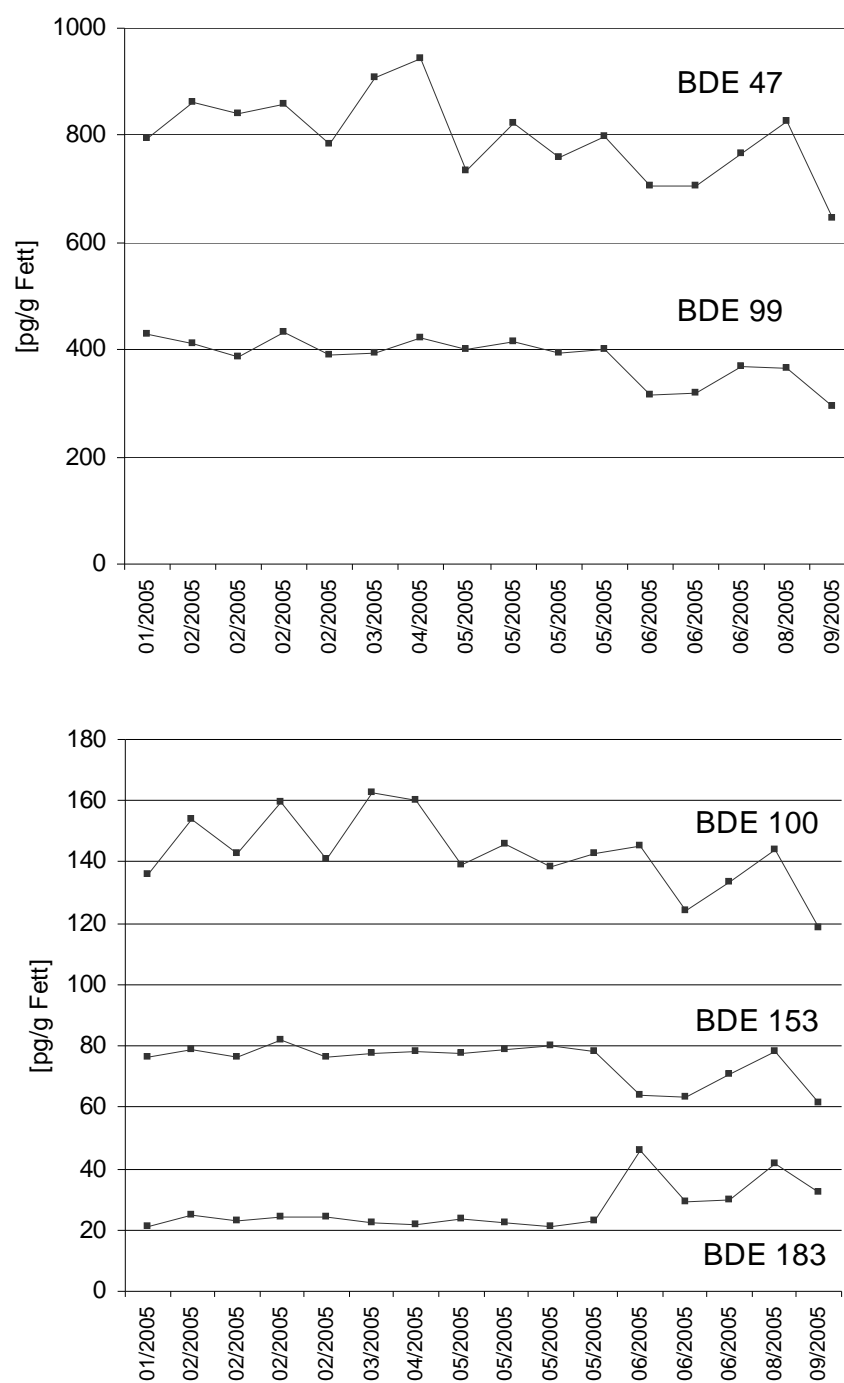


Abbildung 4.4: Langzeittrend der Qualitätskontrollprobe (Mischfett aus tierischen Fetten) für PBDE für fünf wichtige Kongenere im Zeitraum (01/2005 bis 09/2005 (n = 16). Alle Angaben in pg/g Fett.

Teilnahme an den Laborvergleichsuntersuchungen „Dioxins in Food 2004 und 2005“:

Ein wichtiger Punkt bei der Methodvalidierung war die Teilnahme an den Laborvergleichsuntersuchungen „Interlaboratory Comparison on Dioxins in Food“ (Norwegian Institute of Public Health; Haug und Becher, 2004, 2005) in den Jahren 2004 und 2005, bei denen die BDE # 28, 47, 99, 100, 153, 154, 183 und 209 neben PCDD/F (2004 und 2005) und PCB (nur 2005) bestimmt wurden. Dazu wurden jeweils drei verschiedene fetthaltige biologische Proben (Palmöl, Hühnerfleisch und Forelle in 2004 und Lebertranöl, Rentierfleisch und Hering in 2005) sowie jeweils eine Standardlösung verschickt, die alle zu untersuchenden Kongenere in bekannter Konzentration enthielt. Die Ergebnisse für PCDD/F in 2004 sowie PCB und PCDD/F in 2005 waren jeweils ausreißerfrei. In den Tabellen 4.5 bis 4.7 sind die Ergebnisse für PBDE zusammengefasst.

Tabelle 4.5: Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung „Dioxins in Food 2004“. Alle Angaben in pg/g Fett, Ausreißer sind mit (A) markiert.

Kongener	Palmöl		Hühnerfleisch		Forelle	
	[pg/g Fett]		[pg/g Fett]		[ng/g Fett]	
	eigener Wert	Konsens-Median	eigener Wert	Konsens-Median	eigener Wert	Konsens-Median
BDE 28	3,2	4,7	8,1	7,5	19	9,6
BDE 47	17	17	180	200	1800	1400
BDE 99	12	33	120	180	1400	1200
BDE 100	2,4	16	65	68	660	610
BDE 153	2,6	9,5	32	50	150	150
BDE 154	2,5	5,7	19	29	170	170
BDE 183	15	5,6	26	33	0,21	0,22
BDE 209	< 870	390	< 2500 (A)	590	24 (A)	0,79

Tabelle 4.6: Ergebnisse der Laborvergleichsuntersuchung „Dioxins in Food 2005“. Alle Angaben in pg/g Fett, Ausreißer sind mit (A) markiert.

Kongener	Rentierfleisch		Hering		Lebertranöl	
	[pg/g Fett]		[pg/g Fett]		[pg/g Fett]	
	eigener Wert	Konsens-Median	eigener Wert	Konsens-Median	eigener Wert	Konsens-Median
BDE 28	3,2	6,5	270	230	760	580
BDE 47	82	99	3600	3500	12000	10400
BDE 99	80	90	1100	880	320	300
BDE 100	30	28	790	650	1800	1600
BDE 153	53	52	140	130	41	42
BDE 154	11	12	310	270	880	730
BDE 183	13	11	26	20	4,4	6,6
BDE 209	< 200	480	320	170	370 (A)	76

Tabelle 4.7: Ergebnisse bei der Bestimmung von Standardlösungen in den Laborvergleichsuntersuchungen 2004 und 2005. Alle Angaben in pg/μl, Ausreißer sind mit (A) markiert.

	„Dioxins in Food“2004			„Dioxins in Food“ 2005		
	[pg/μl]			[pg/μl]		
	eigener Wert	Konsens-Median	Sollwert	eigener Wert	Konsens-Median	Sollwert
BDE 28	23	23	25	23	24	25
BDE 47	21	22	25	23	23	25
BDE 99	21	23	25	23	24	25
BDE 100	23	22	25	23	24	25
BDE 153	23	25	25	21	26	25
BDE 154	23	23	25	23	24	25
BDE 183	19	21	25	22	23	25
BDE 209	135 (A)	83	125	139 (A)	85	100

Speziell die Überprüfung der Vollständigkeit der Extraktion der PBDE, die nur durch zertifiziertes Referenzmaterial überprüft werden kann, war wichtig. Der Vorteil dieser Laborvergleichsuntersuchung war, daß verschiedene biologische Probenmatrizes mit sehr unterschiedlichen Konzentrationen sowie reine Standardlösungen bekannter Konzentration untersucht werden mussten. Die Differenzen zum Konsenswert in Abhängigkeit von der Konzentration sind zusätzlich in Abbildung 4.5 zusammengefasst.

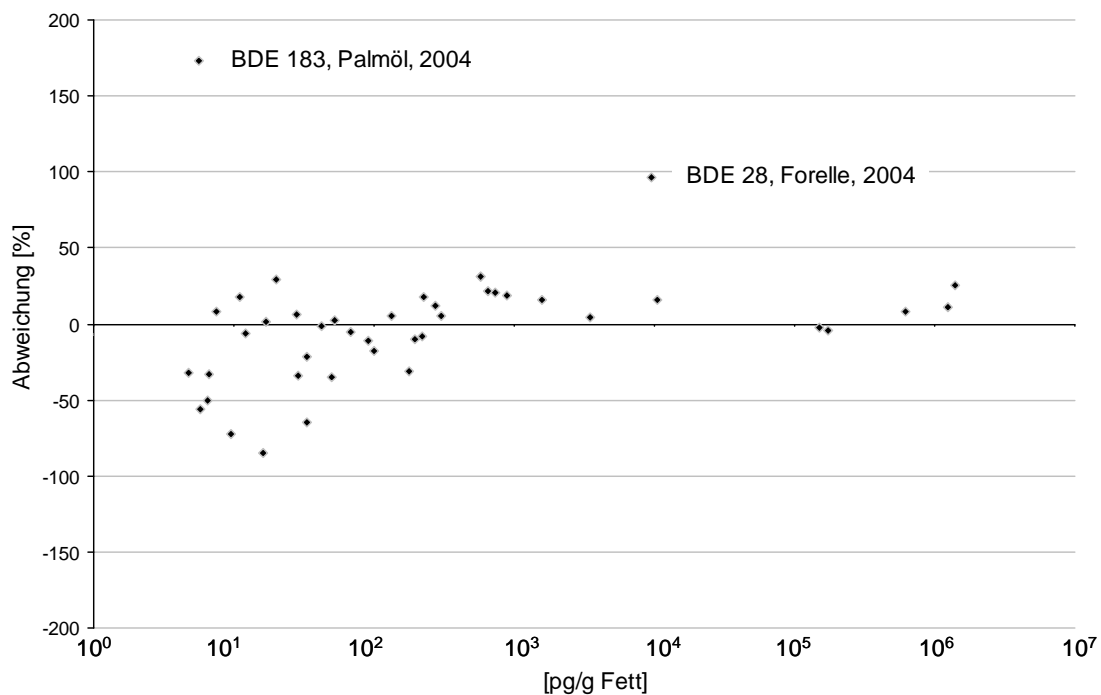


Abbildung 4.5: Abweichungen der eigenen Ergebnisse für Einzelkongenere (ohne DecaBDE) vom Konsenswert für die Laborvergleichsuntersuchungen „Dioxins in Food“ 2004 und 2005 in pg/g Fett.

Die Abweichungen der eigenen Werte vom Konsens-Wert waren für die meisten Kongenere $\leq 40\%$ unabhängig von der Konzentration. Von den zu bestimmenden Parametern sind BDE 183 in Palmöl und BDE 28 in Forelle jeweils aus dem Jahr 2004 Ausreißer. Bei der Probe Palmöl war zu dieser Zeit die Blindwertproblematik noch nicht vollständig unter Kontrolle. Bei BDE 28 in der Forellenprobe könnte eine Matrixstörung vorliegen. Beide Werte wurden bei der statistischen Auswertung durch das „Norwegian Institute of Public Health“ jedoch nicht als Ausreißer deklariert.

Die negativen Abweichungen vom Konsenswert im Konzentrationsbereich um 10 pg/g Fett sind möglicherweise durch eigene niedrigere Nachweisgrenzen oder Blindwerte im Vergleich zu anderen Teilnehmern zu erklären. Die Blindwertproblematik für DecaBDE war bei beiden Laborvergleichsuntersuchungen noch nicht vollständig unter Kontrolle.

Bei der Überprüfung der eigenen Standardlösungen lagen die Werte für alle Kongenere (außer BDE 209: 50 % über dem Konsenswert und 8 bzw. 40 % über dem Sollwert) im Durchschnitt etwa 10 % unter den Konsenswerten. Diese Abweichungen sind für alle Kongenere außer

Deca-BDE noch akzeptabel, so daß keine Berichtigungen der Konzentrationen der Standardlösungen vorgenommen werden mussten.

Vergleich der PBDE-Gehalte nach Bestimmung mit einer zweiten Methode:

Die Konzentrationen der mengenmäßig wichtigsten PBDE (# 28, 47, 99, 100, 153, 154) wurden in elf der untersuchten Humanmilchproben der WHO-Studie auch im Labor „Pestizide und Kontaminanten in Lebensmitteln tierischer Herkunft und Humanmilch“ (Fr. Dr. Kypke, CVUA Freiburg) zum Vergleich mit einer anderen Methode, der amtlichen Methode nach § 35 LMBG Nr. L 00.00-38/1 bis 38/4 (1997), untersucht. Dazu wurde der Rahm durch Zentrifugieren abgetrennt und das Fett anschließend mit n-Hexan extrahiert. Das Fett und andere Matrixkomponenten wurden mittels Gelchromatographie und Kieselgel-Säule abgetrennt. Die Quantifizierung erfolgte mit Gaschromatographie gekoppelt mit niedrigauflösender Massenspektrometrie (LRMS) bei Negativionen-chemischer Ionisation (NCI). In Tabelle 4.8 sind die Ergebnisse für vier verschiedene Proben mit Konzentrationen für BDE 47 zwischen 4 und 230 ng/g Fett zusammengefasst. Die Abweichungen lagen insgesamt zwischen 0 und 105 %. Für das Hauptkongener BDE 47 betrugen sie ≤ 9 %. Diese Werte sind auch mit den Ergebnissen eines Laborvergleichs von Pöpke et al. (2004) vergleichbar (Abweichungen zwischen 0 und 110 %).

Tabelle 4.8: Vergleich der Konzentrationen von sechs wichtigen PBDE-Kongeneren in vier gepoolten Humanmilchproben mit zwei unterschiedlichen Aufarbeitungs- und Quantifizierungsmethoden: HRMS EI (eigene Methode) und LRMS NCI (Vergleichsverfahren).

	BDE 28	BDE 47	BDE 99	BDE 100	BDE 153	BDE 154
USA (Kalifornien)						
LRMS NCI [ng/g Fett]	18	210	66	42	28	3,9
HRMS EI [ng/g Fett]	8,7	230	59	39	18	3,1
Abweichung [%]*	107	9	12	8	56	26
USA (North Carolina)						
LRMS NCI [ng/g Fett]	5,4	55	20	12	13	1,4
HRMS EI [ng/g Fett]	2,8	54	18	10	9	1,0
Abweichung [%]*	93	2	11	20	44	40
Deutschland (Ravensburg)						
LRMS NCI [ng/g Fett]	< 0,5	11	2,4	4,0	2,8	< 0,5
HRMS EI [ng/g Fett]	0,5	11	1,7	2,9	1,7	0,2
Abweichung [%]*		0	41	38	65	
Fiji (Nausori)						
LRMS NCI [ng/g Fett]	< 0,5	3,7	0,8	1,4	< 0,5	< 0,5
HRMS EI [ng/g Fett]	0,3	3,9	0,6	1,4	0,9	0,3
Abweichung [%]*		5	33	0		

* HRMS EI jeweils als 100 %

Abschätzung des Messfehlers:

Der Messfehler der PBDE-Bestimmung wurde über Fehlerfortpflanzung abgeschätzt.

- Bei der Herstellung der internen Standardlösung ergab sich durch Fehler beim Verdünnen und Mischen (4,3 %) und Ungenauigkeit des zertifizierten Referenzstandards (10 %) ein Fehler von 10,9 %.
- Für Kalibrierlösungen ergab sich aufgrund der zusätzlichen Mischung von unmarkierter und ¹³C₁₂-isotopenmarkierter Lösung ein Fehler von 15,9 %. Für die Quantifizierungsmethode kamen Fehler bei der Bestimmung der Signalfächen (jeweils 2 % für Analyten und interne Standards) und die Messunsicherheit bei Wiederholungsmessungen (≤ 15 %) dazu. Daraus ergab sich bei der Kalibrierung insgesamt ein Fehler von 16,1 %.

- Für den Probenextrakt lag er aufgrund von Fehlern bei Einwaage und Standardzusatz, bei der Bestimmung der Signalflächen und der Messunsicherheit bei Wiederholungsmessungen bei 19 %.

Der über Fehlerfortpflanzung abgeschätzte Gesamtfehler betrug damit ca. 25 % und stimmte ungefähr mit den Abweichungen vom Konsenswert (Mittelwert: 20 %, 75%-Perzentil: 30 %) überein, die für die eigenen Proben bei den Laborvergleichsuntersuchungen „Dioxins in Food“ 2004 und 2005 erhalten wurden.

4.1.2.2 PBDD/F und PXDD/F

Standardlösungen:

Der lineare Bereich betrug ca. eineinhalb Größenordnungsbereiche (0,15-9 pg/g Fett (2,3,7,8-TBDD) bis 3-180 pg/g Fett (OBDD), bezogen auf 3 g Fett und 30 µl Endvolumen). Dabei lag der Variationskoeffizient der relativen Response-Faktoren für alle sieben Kalibrierpunkte unter 13 %. Cramer et al. (1990) ermittelten für tetra- bis hexasubstituierte PBDD/F Variationskoeffizienten der RRF (sechs Kalibrierpunkte) zwischen 7 und 27 %.

Drei Kalibrierlösungen wurden für tetra- und pentasubstituierte PXDD/F eingesetzt. Daraus ergab sich, bezogen auf 3 g Fett und 30 µl Endvolumen, ein kalibrierter Bereich zwischen 0,4-0,6 und 10-15 pg/g Fett. Der Variationskoeffizient der relativen Response-Faktoren war hier jeweils kleiner 6 %. Für monobromierte-polychlorierte PXDD/F ermittelten Huang et al. (1992) Variationskoeffizienten der RRF zwischen 8 und 12 %. Die Variationskoeffizienten für PBDD/F und PXDD/F liegen auch deutlich unter denjenigen von 20 %, die für die PCDD/F-Analytik spezifiziert wurden (United States Environmental Protection Agency, 1990). Das Bestimmtheitsmaß R^2 der Kalibriergerade war jeweils größer 0,99.

Blindwert und Nachweisgrenze:

Aufgrund der zu erwartenden sehr geringen Konzentrationen waren ausreichend niedrige Nachweisgrenzen und Blindwerte sehr wichtig. Die Reagenzienblindwerte für PBDD/F und PXDD/F entsprachen mit Ausnahme von 1,2,3,4,7,8,9-HpBDF (zwischen 2,3 und 6,2 pg/g Fett) den jeweiligen Nachweisgrenzen. Diese lagen für PBDD/F zwischen 0,02 pg/g Fett für 2,3,7,8-TBDD und 26 pg/g Fett für OBDF. Da die Blindwerte für 1,2,3,4,7,8,9-HpBDF über 2

pg/g Fett lagen und eine Reduktion nicht möglich war, wurden die Ergebnisse für dieses Kongener nicht ausgewertet. In einigen Fällen waren auch für 1,2,3,4,7,8-HxBDF und OBDF Blindwerte messbar.

Die Nachweisgrenzen für die toxikologisch besonders interessanten tetra- und pentasubstituierten Kongenere waren mit 0,02 bzw. 0,03 pg/g Fett etwa eine Zehnerpotenz höher als für die chlorierten Homologen. Für Kongenere ohne eigenen Standard wurde die Nachweisgrenze über homologe Kongenere oder, falls dies nicht möglich war, über Kongenere mit derselben Anzahl von Bromsubstituenten ermittelt. Für die Untersuchung von relativ hochbelasteten Humanmilchproben mit einem PCDD/F-TEQ von größer 10 pg/g Fett waren die Nachweisgrenzen der PBDD/F-Kongenere ausreichend. Bei Lebensmittelproben hingegen, die üblicherweise eine sehr niedrige PCDD/F-Hintergrundbelastung von < 1 pg WHO-TEQ / g Fett aufweisen, wäre eine deutliche Absenkung der Nachweisgrenzen notwendig, um die WHO-TEQ für bromierte und chlorierte Verbindungen vergleichen zu können. Andernfalls würde der allein aus vergleichsweise hoher Nachweisgrenzen resultierende "upper-bound-WHO-PBDD/F-TEQ" den WHO-PCDD/F-TEQ deutlich übersteigen.

Wiederfindungen:

In gleicher Weise wie bei den PBDE wurden auch für PBDD/F und PXDD/F in jeder Aufarbeitung die Wiederfindungen der $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten internen Standards bestimmt. Bei der Validierung der Methode wurden für die einzelnen Kongenere die in Tabelle 4.9 zusammengefassten Wiederfindungen und zugehörigen Variationskoeffizienten ermittelt.

Tabelle 4.9: Wiederfindungen der $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten PBDD/F- und PXDD/F-Kongeneren und Variationskoeffizienten bei der Validierung (n=26 für PBDD/F und n=8 für PCXDD/F).

PBDD/F	Wiederfindung [%]	Variationskoeffizient [%]
2,3,7,8-TBDD	97	15
1,2,3,7,8-PeBDD	103	20
1,2,3,4,7,8- + 1,2,3,6,7,8-HxBDD	84	29
1,2,3,7,8,9-HxBDD	95	24
OBDD	43	96
2,3,7,8,-TBDF	97	13
1,2,3,7,8-PeBDF	96	17
2,3,4,7,8-PeBDF	102	16
1,2,3,4,7,8-HxBDF	65	35
PXDD/F		
2,3-DB-7,8-DCDD	90	6
1-B-2,3,7,8-TCDD	90	4

Die mittleren Wiederfindungen der $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten Standards waren für die toxikologisch relevanten tetra- und pentasubstituierten PBDD/F und PXDD/F mit 90 bis 103 % sehr gut. Die deutlich niedrigeren mittleren Wiederfindungen von 43 bzw. 65 % für OBDD und 1,2,3,4,7,8-HxBDF waren noch akzeptabel.

Dotierung von Realproben mit unmarkierten Kongeneren:

Biologische Referenzmaterialien oder Qualitätskontrollproben mit messbaren Gehalten an PBDD/F oder PXDD/F waren nicht verfügbar. Ebenso wenig wurden Laborvergleichsuntersuchungen für biologische Matrices angeboten. Als Ersatz wurden Realproben mit unmarkierten Kongeneren auf verschiedenen Konzentrationsstufen dotiert. Für PBDD/F wurde die PBDE-Qualitätskontrollprobe auf drei unterschiedlichen Konzentrationsniveaus dotiert: 0,16-3,2 pg/g Fett, 0,4-8 pg/g Fett und 1,6-32 pg/g Fett. Die Abweichungen vom Sollwert sind in Tabelle 4.10 zusammengefasst.

Tabelle 4.10: Abweichung der gemessenen PBDD/F- Gehalte vom Sollwert bei der Dotierung der Qualitätskontrollprobe für PBDE auf 3 Konzentrationsniveaus

unmarkierte PBDD/F	Abweichung vom dotierten Wert [%]		
	Mittelwert	Minimum	Maximum
2,3,7,8-TBDD	12	6,3	20
1,2,3,7,8-PeBDD	12	0	22
1,2,3,4,7,8- / 1,2,3,6,7,8-HxBDD	8,8	1,3	13
1,2,3,7,8,9-HxBDD	11	6,3	18
OBDD	10	6,5	15
2,3,7,8-TBDF	9,4	5,6	13
1,2,3,7,8-PeBDF	5,6	0,8	12
2,3,4,7,8-PeBDF	3,2	0	7,9
1,2,3,4,7,8-HxBDF	120	6,2	250
1,2,3,4,6,7,8-HpBDF	4200	1400	8700
OBDF	110	6,2	200

Für PBDD und tetra- und pentasubstituierte PBDF waren die maximalen Abweichungen vom dotierten Wert auf allen drei Konzentrationsniveaus ≤ 22 % (≤ 12 % für den Mittelwert). Für 1,2,3,4,7,8-HxBDF und OBDF waren diese nur auf dem höchsten Konzentrationsniveau mit 6 % gut. Die höheren Abweichungen von mehr als 100 % auf den niedrigeren Niveaus sind auf Blindwertprobleme bei diesen Kongeneren zurückzuführen. Aufgrund der sehr hohen Blindwerte für 1,2,3,4,6,7,8-HpBDF lagen die Abweichungen auf allen Konzentrationsniveaus noch deutlich darüber. Ein Grund für die größeren Abweichungen bei den höherbromierten Dibenzofuranen könnte der Einfluss von DecaBDE sein, das zu diesen Verbindungen abgebaut werden kann (Watanabe und Tutsukawa, 1987; WHO/ICPS, EHC 205, 1998).

Extrahiertes Eifett als analytische Matrix wurde auf vier unterschiedlichen Konzentrationsniveaus mit unmarkierten tetra- und pentasubstituierten PXDD/F dotiert. Die Konzentrationsbereiche lagen zwischen 0,27 und 2,13 pg/g Fett für monobromierte TXDD/F und zwischen 0,40 und 3,20 pg/g Fett für dibromierte TXDD/F und monobromierte PeXDD/F (siehe Tabelle 4.11).

Tabelle 4.11: Abweichung der gemessenen PXDD/F-Gehalte vom Sollwert bei der Dotierung von Eifett auf 4 Konzentrationsniveaus

unmarkierte Kongenere	Abweichung vom dotierten Wert [%]		
	Mittelwert	Minimum	Maximum
2-B-3,7,8-TrCDD	60	15	120
2,3-DiB-7,8-DCDD	6,5	2,2	11
3-B-2,7,8-TrCDF	9,5	6,5	15
1-B-2,3,7,8-TCDD	16	9,4	24
2-B-1,3,7,8-TCDD	7,0	6,2	7,5
1-B-2,3,7,8-TCDF	11	7,2	22

Die mittleren Abweichungen vom dotierten Wert waren für alle Kongenere ≤ 16 % (maximal ≤ 24 %), mit Ausnahme von 2-B-3,7,8-TrCDD (mittlere Abweichung 60 %). Die hohen Abweichungen im niedrigeren Konzentrationsbereich und die akzeptablen Abweichungen von 15 % bei einer dotierten Menge von 2,13 pg/g Fett für dieses Kongener traten aufgrund der Koelution eines Matrixpeaks auf. Huang et al. (1992) ermittelten bei der Dotierung von Fisch mit unmarkierten PXDD/F Abweichungen zwischen 11 und 19 %. Die Bestimmungen der PBDD/F und PXDD/F wurden jeweils noch ohne den letzten Aufreinigungsschritt mit der Carbopack-B-Säule durchgeführt.

4.1.2.3 HBCD

Herstellung der Standardlösungen:

Für die Herstellung der Kalibrierlösungen und des internem Standard wurden die drei Diastereomere im Verhältnis 1:1:1 gemischt. Für die Bestimmung mittels GC/MS wurden zuvor die Responsefaktoren der einzelnen Diastereomere relativ zu α -HBCD bestimmt, da diese nicht durch HRGC getrennt werden können (siehe Tabelle 4.12).

Tabelle 4.12: Responsefaktoren von HBCD-Diastereomeren relativ zu α -HBCD bei der GC/MS-Quantifizierung:

HBCD-Diastereomere	unmarkiert	¹³ C ₁₂ -markiert
α -HBCD	1	1
β -HBCD	0,80	0,87
γ -HBCD	0,86	0,82

Im Vergleich zu α -HBCD betragen die relativen Responsefaktoren von β - und γ -HBCD 80 - 90 %. Gerecke et al. (2003) ermittelten für GC/MS etwas höhere Responsefaktoren für β - und γ -HBCD (96 bzw. 92 %). Da α -HBCD in biologischen Proben zumeist das wichtigste Diastereomer ist und Resultatvergleiche mit LC-MS Abweichungen $< 7\%$ ergaben, erfolgte keine Korrektur.

Kalibrierung:

Für die Quantifizierung mit GC/MS erfolgte die Kalibrierung der Summe der drei Diastereomere zwischen 1,44 und 144 ng/g Fett (bezogen auf 0,25 g Fetteinwaage, 30 μ l Endvolumen und 1:1-Teilung des Extraktes). Für die LC/MS wurde die Bestimmung zwischen 0,24 und 48 ng/g Fett je Diastereomer kalibriert. Die Linearität der HRGC- und LC-Methode betrug 2 Größenordnungen bei einem Variationskoeffizienten der relativen Response-Faktoren von $< 8\%$ und $R^2 > 0,99$.

Wiederfindungen:

Die Wiederfindung der $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten internen Standards als Summe aller drei Diastereomere wurde nur mit GC/MS ermittelt. Diese war mit im Mittel 80 % (zwischen 60 und 102 %) und einem Variationskoeffizienten von 15 % akzeptabel.

Blindwert und Nachweisgrenze:

Blindwerte entsprachen den Nachweisgrenzen, die mit 0,1 ng/g Fett für GC/MS und 0,2 - 0,4 ng/g Fett je Kongener bei der LC-MS für die Bestimmung in biologischen Proben, wie Fischen oder Humanmilch ausreichend sind. Janak et al. (2005) ermittelten für LC-MS/MS Bestimmungsgrenzen von ca. 1 ng/g Fett in Fischen.

Dotierung von Sonnenblumenöl:

Sonnenblumenöl als analytfreie Matrix wurde auf fünf verschiedenen Konzentrationsniveaus mit einer 1:1:1-Mischung aus den drei verfügbaren Diastereomeren dotiert. Die dotierten Gehalte lagen dabei zwischen 2 und 80 pg/g Fett je Kongener. In Tabelle 4.13 sind die Dotierungsversuche zusammengestellt. Dabei waren die Abweichungen vom Sollwert für die

Summe maximal 13 % (GC/MS) bzw. 8,5 % (LC/MS). Für die drei einzelnen Diastereomere waren sie maximal 13 %.

Tabelle 4.13: Abweichung der gemessenen HBCD-Gehalte vom Sollwert bei der Dotierung von analytfreiem Sonnenblumenöl auf 5 Konzentrationsniveaus

dotierte Menge [ng/g Fett]	LC/MS			Σ HBCD	GC/MS
	α -HBCD	β -HBCD	γ -HBCD		Σ HBCD
			Abweichung [%]		
2	0	0	5,0	1,7	3,3
8	0	2,5	1,3	1,3	5,0
20	13	10	2,0	8,2	13
40	0,1	0,5	0,8	0,8	6,7
80	4,3	11	10	8,5	3,8

Qualitätskontrollproben:

Für die routinemäßige Qualitätskontrolle standen neben Lebertranöl mit einem niedrigen Gesamt-HBCD-Gehalt von 8 bis 9 ng/g Fett auch ein deutlich höher belastetes Fischöl als Mischung extrahierter Fischöle zur Verfügung. Die Gesamt-HBCD-Konzentration lag bei einer Doppelbestimmung zwischen 193 und 198 ng/g Fett. Die Messungen der Extrakte wurden sowohl mittels GC/MS als auch LC/MS-MS durchgeführt.

4.2 Chromatographische Trennung und Interferenzen

4.2.1 PBDE

Alle vorhandenen PBDE-Kongeneren konnten sowohl auf der 30-m-Säule als auch auf der 15-m-Säule vollständig basisliniengetreunt werden (siehe Abbildung 4.6). Auch bei sehr großen Konzentrationsunterschieden, die z.B. zwischen BDE 47 und den anderen tetrasubstituierten Homologen auftreten können, kam es zu keinen Überlappungen. Durch den Einsatz der 15-m-Säule konnten ebenfalls alle vorhandenen PBDE-Kongeneren einschließlich DecaBDE getrennt werden. Da ein „on-column“-Injektor, der für die Bestimmung von DecaBDE empfohlen wird (de Boer et al., 2001), nicht zur Verfügung stand, wurde ein splitloser Injektor mit offenem Verdampferrohr für alle PBDE-Kongeneren verwendet.

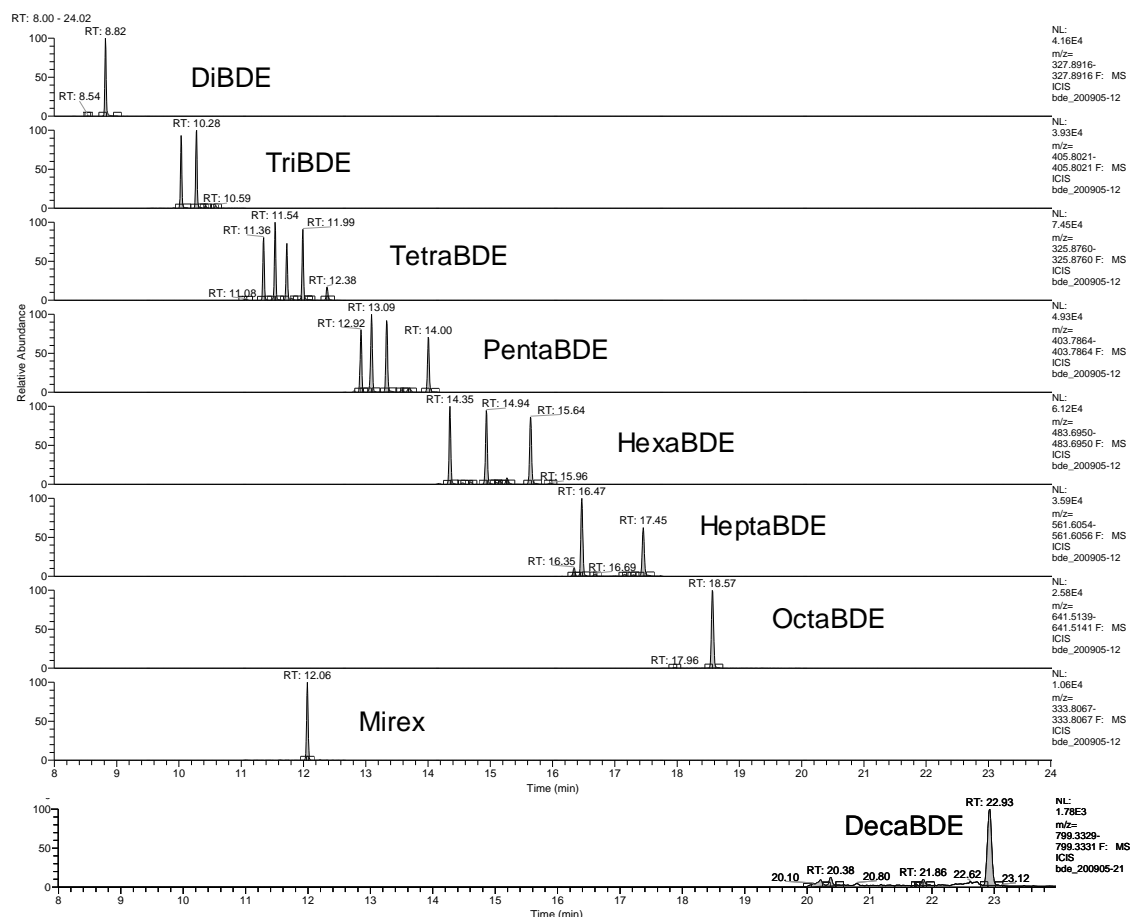


Abbildung 4.6: HRGC-Trennung der verfügbaren PBDE auf einer 15-m-DB-5-MS-Säule (Länge 15 m, I.D. 0,25 mm, Filmdicke 0,25 µm, J&W Scientific, Folsom, USA). Die Massenchromatogramme der einzelnen Kongenerengruppen sind dargestellt.

Störungen durch PCB:

Werden PBDE und PCB bei der Aufarbeitung nicht voneinander getrennt, können bei der Detektion Interferenzen auftreten. Von Bedeutung sind vor allem Störungen von PCB bei der PBDE-Analytik. Es kann hier zu chromatographischen Überlagerungen von Di- und TetraBDE mit Penta- bzw. HeptaCB kommen, da diese auch mittels HRMS nicht aufgelöst werden können (Eljarrat et al., 2003).

HeptaCB und TetraBDE haben ebenso wie PentaCB und DiBDE eine vergleichbare relative Retention. Zudem ist eine massenspektrometrische Trennung bei Auflösung 10'000 nicht möglich. Besonders die Koelution von BDE 47 und PCB 180 wird als kritisch betrachtet (Eljarrat et al., 2003). In Tabelle 4.14 sind die exakten Massen für diese PCB und PBDE aufgelistet. Eine Unterscheidung von TetraBDE und HeptaCB sowie DiBDE und PentaCB ist massenspektrometrisch bei Auflösung 10'000 nur über das Intensitätsverhältnis der Isotopensignale möglich.

Tabelle 4.14: Exakte Isotopenmassen und Intensitätsverhältnis der Isotopensignale für DiBDE und PentaCB sowie TetraBDE und HeptaCB und theoretisch benötigte Auflösung zur massenspektrometrischen Trennung

DiBDE	[M]⁺	[M+2]⁺	Intensitätsverhältnis (± 15 %)
unmarkiert	325.8936	327.8916	0,51 (± 0,08)
¹³ C ₁₂ -markiert	337.9339	339.9319	
PentaCB	[M+2]⁺	[M+4]⁺	
unmarkiert	325.8799	327.8770	1,6 (± 0,24)
¹³ C ₁₂ -markiert	337.9201	339.9172	
benötigte Auflösung:		> 24 000	
TetraBDE	[M-2Br+2]⁺	[M-2Br+4]⁺	
unmarkiert	325.8760	327.8741	2,0 (± 0,3)
¹³ C ₁₂ -markiert	337.9162	339.9142	
HeptaCB	[M-2Cl+4]⁺	[M-2Cl+6]⁺	
unmarkiert	325.8613	327.8584	3,1 (± 0,47)
¹³ C ₁₂ -markiert	337.9015	339.8986	
benötigte Auflösung:		> 24 000	

Zum Vergleich der Trennleistung der chromatographischen Systeme wurde die Auflösung R_s verwendet und wie folgt berechnet:

$$R_s = \frac{(t_B - t_A)}{\frac{1}{2}W_A + \frac{1}{2}W_B}$$

R_s : Auflösung zweier chromatographischer Signale in Bezug auf die später eluierende Verbindung

$t_{A,B}$: Retentionszeit der Verbindung A bzw. B

$W_{A,B}$: Basisbreite des Signals der Verbindung A bzw. B

Eine Auflösung R_s von $\geq 1,5$ entspricht bei gleich großen Signalen einer vollständigen Trennung. In Abbildung 4.7 sind Massenchromatogramme für unmarkierte und $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierte TetraBDE im Extrakt einer Hühnerfleischprobe dargestellt. Die nahezu vollständige Basislinientrennung der beiden kritischen Verbindungen BDE 47 (Nr. 7) und PCB 180 (Nr. 6) ist auf der 15-m-Säule möglich. Die Auflösung R_s lag hier bei ungefähr 1,1. Die übrigen PBDE- und PCB-Kongenere wurden anhand von Standardlösungen bzw. ihrer relativen Retention identifiziert und zugeordnet. Interferenzen zwischen PBDE und PCB sind insbesondere bei denjenigen PBDE möglich, die vor PCB 180 eluieren. In diesem Bereich liegen PCB # 171, 172, 174, 177 sowie PBDE # 71 und 75. Diese BDE-Kongenere wurden bisher aber nur gelegentlich nachgewiesen.

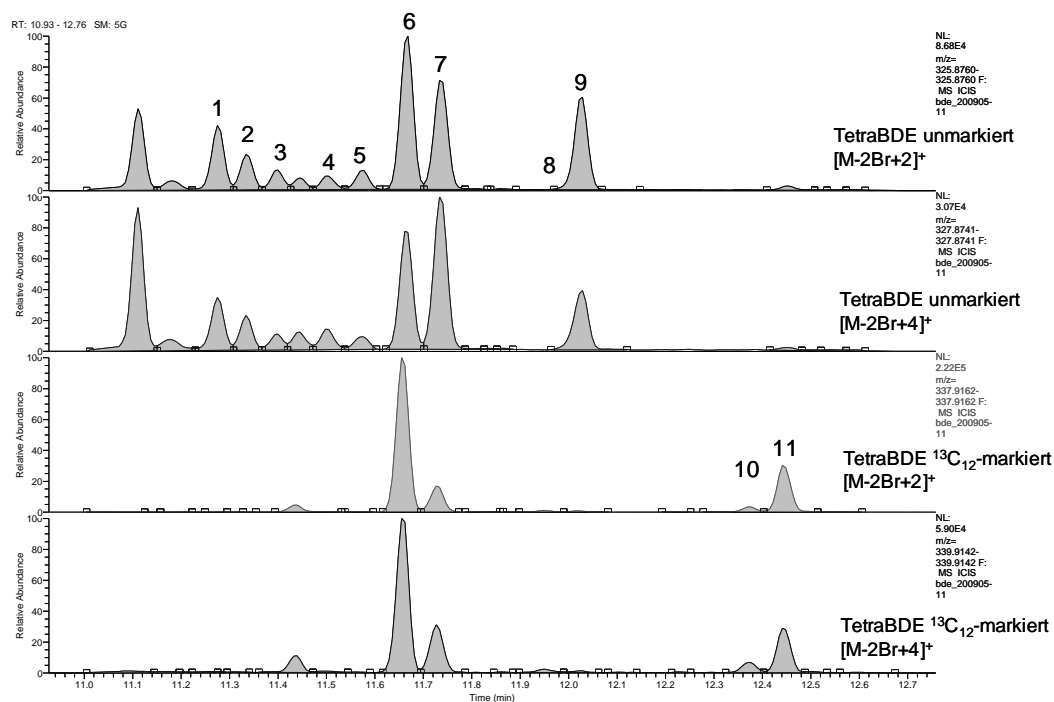


Abbildung 4.7: HRGC-Massenchromatogramme von TetraBDE und HeptaCB im Extrakt einer Hühnerfleischprobe (Laborvergleichsuntersuchung „Dioxins in Food 2004“). Die unmarkierten und $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten Kongenere wurden auf einer Kapillare von 15 m getrennt (DB-5-MS, I.D. 0,25 mm, Filmdicke 0,25 μm). Bezeichnung der Signale: 1: PCB 174, 2: PCB 177, 3: PCB 171, 4: BDE 49, 5: PCB 172, 6: PCB 180, 7: BDE 47, 8: BDE 66, 9: PCB 170, 10: BDE 77, 11: PCB 189.

Bei der Überprüfung der Trennung von BDE 47 und PCB 180 wurden die Trennungen von BDE 66 (Nr. 8) und PCB 170 (Nr. 9) sowie BDE 77 (Nr. 10) und PCB 189 (Nr. 11) als wesentlich kritischer identifiziert. In Tabelle 4.15 ist die jeweilige Auflösung für die Trennung dieser Verbindungen mit einer 15- und 30-m-DB-5-MS-Säule verglichen.

Tabelle 4.15: Vergleich der Auflösung der beiden Trennsysteme: 15- und 30-m-DB-5-MS-Kapillarsäule (I.D. 0,25 mm, Filmdicke 0,25 μm)

Trennproblem	Auflösung R_s	
	15-m-Säule	30-m-Säule
PCB 180 / BDE 47	1,1	2,1
BDE 66 / PCB170	0,4	0,8
BDE 77 / PCB 189	1,2	2,1

Für BDE 77 und PCB 189 war eine Grundlinientrennung nicht immer (Auflösung $R_S=1,2$), bei BDE 66 und PCB 170 mit der 15-m-Säule nicht möglich ($R_S=0,4$). Bereits bei einem Flächenverhältnis PCB 170 / BDE 66 > 2 (m/z 327.8741) war BDE 66 nicht mehr quantifizierbar. In Abbildung 4.8 ist ein Vergleich der HRGC-Trennung mit einer 15- und 30-m-DB-5-Säule dargestellt, wobei mit 30 m Länge ebenfalls keine Grundlinientrennung möglich war. Hier war BDE 66 ab einem Flächenverhältnis PCB 170 / BDE 66 > 4 nicht mehr quantifizierbar. Die Auflösung R_S der beiden Signale lag bei 0,8.

Zur Verbesserung dieser Trennung müssten daher andere stationäre Phasen getestet werden. Längere Kapillaren (> 50 m) können die Trennung der kritischen Verbindungen etwas verbessern, vergrößern aber gleichzeitig durch längere Retentionszeiten die thermische Belastung der höherbromierten Verbindungen. Säulen höherer Polarität erzeugten wiederum andere Trennprobleme. Beim Einsatz einer leicht polaren Phase (HT8-PCB, stationäre Phase: Polycarboran-Siloxan, Länge: 15 m, I.D. 0,25 μ m, Filmdicke: keine Angabe; SGE, Victoria, AUS) koeluierten BDE 100 und BDE 119 sowie BDE 47 und PCB 180. Mit einer mittelpolaren Phase (DB-Dioxin, stationäre Phase: Biscyanopropyl-Polysiloxan, Länge: 20 m, I.D. 0,32 mm, Filmdicke: 0,19 μ m; J&W Scientific, Folsom, USA) überlappten die Elutionsbereiche der penta- und hexabromierten Kongenere.

Eine weitere Alternative stellte die Verwendung der jeweiligen Molekülonen der tetrabromierten BDE für die Messung dar. Hier ließ sich aber der Wiederfindungsstandard Mirex (m/z 332), der im Bereich von BDE 66 eluiert, aufgrund der großen Massendifferenz zu den Molekülonen der TetraBDE (m/z 486) bei der massenspektrometrischen Messung nicht mehr miteinbeziehen.

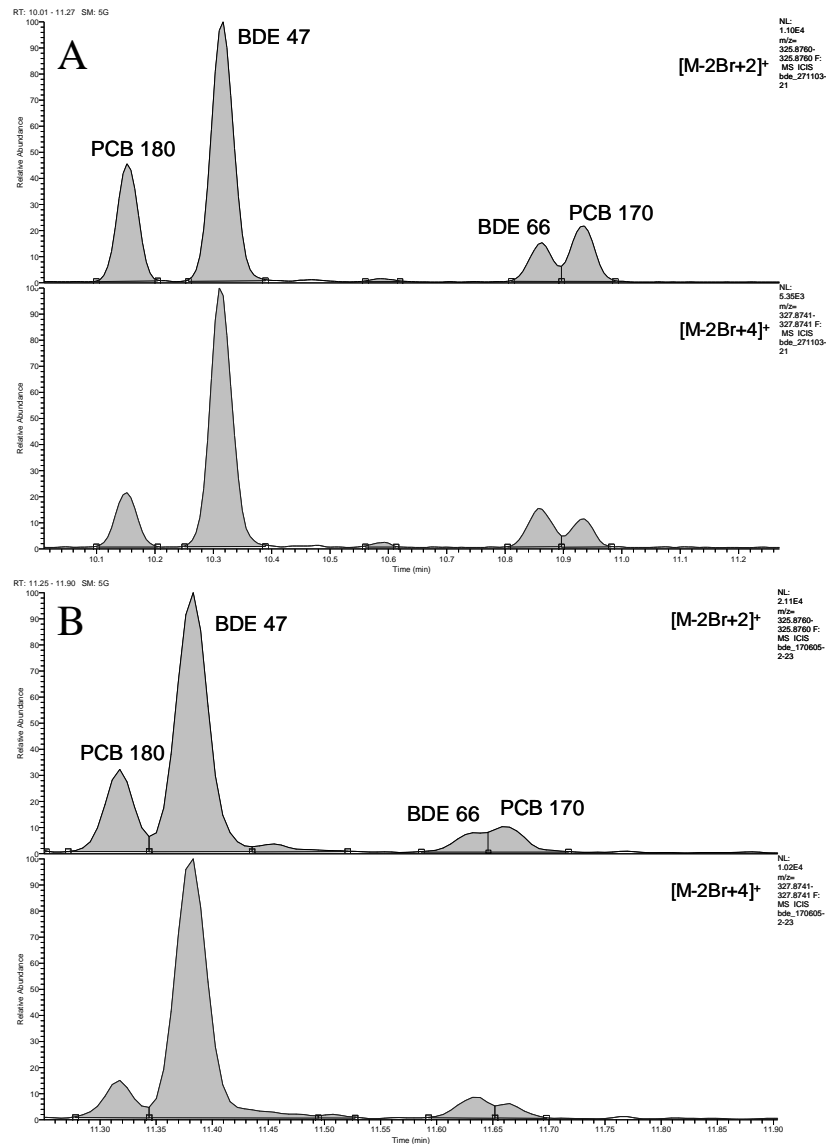


Abbildung 4.8: Vergleich der gaschromatographischen Trennung von BDE 66 und PCB 170 auf einer Kapillare von 30 m (A) und 15 m (B) (DB-5-MS, I.D. 0,25 mm, Filmdicke 0,25 µm) im Extrakt eines Milchfettes.

Zusätzlich können auch DiBDE und PentaCB einander stören. BDE 15 und die in tierischen Proben nachweisbaren PentaCB interferieren jedoch nicht (siehe Abbildung 4.9).

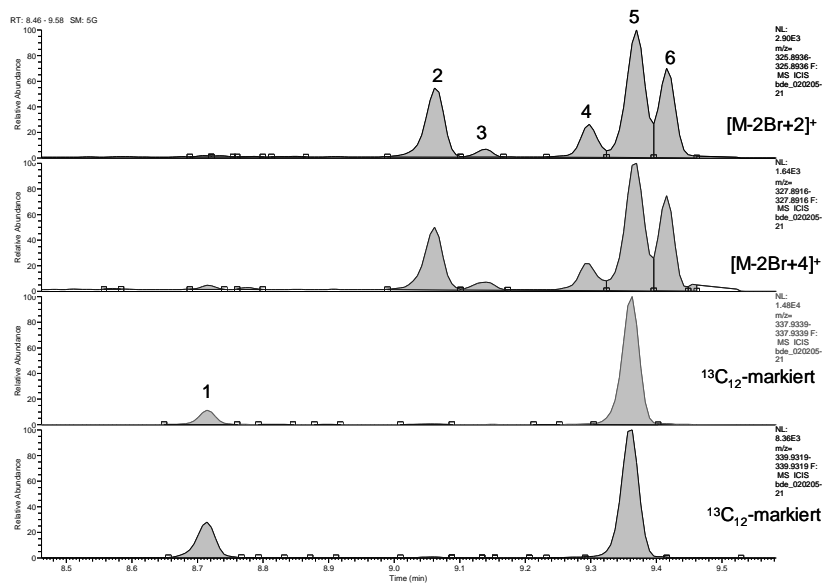


Abbildung 4.9: HRGC-Massenchromatogramme von DiBDE und PentaCB im Extrakt einer Hühnerfleischprobe (Laborvergleichsuntersuchung „Dioxins in Food 2004“). Die unmarkierten und $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten Kongenere wurden auf einer Kapillare von 15 m getrennt (DB-5-MS, I.D. 0,25 mm, Filmdicke 0,25 μm). Bezeichnung der Signale: 1: BDE 15, 2: PentaCB, 3: PentaCB, 4: PentaCB, 5: PCB 101, 6: PCB 99

4.2.2 PBDD/F

Chromatographische Trennung:

Die Trennung von 1,2,3,4,7,8-HxBDD und 1,2,3,6,7,8-HxBDD war mit der verwendeten Trennkapillare nicht möglich. Somit wurden alle Ergebnisse als Summe beider Kongenere angegeben. Es wurde weiter angenommen, daß auch 1,2,3,4,7,8- und 1,2,3,6,7,8-HxBDF nicht separierbar waren. Die Trennung dieser beiden HxCDF-Kongenere ist ebenfalls kritisch. Die chromatographische Trennung der PBDD/F ist in Abbildung 4.10 dargestellt. Als Injektor wurde für die PBDD/F- und PXDD/F-Bestimmung ein PTV-Injektor („programmable temperature vaporizer“) verwendet. Damit konnten bis zu 5 μl eines Probenextraktes auf die Säule aufgegeben werden. Keine nennenswerten Unterschiede wurden zwischen Verdampferföhrchen aus mit Silcosteel-beschichtetem Edelstahl und Glas gefunden.

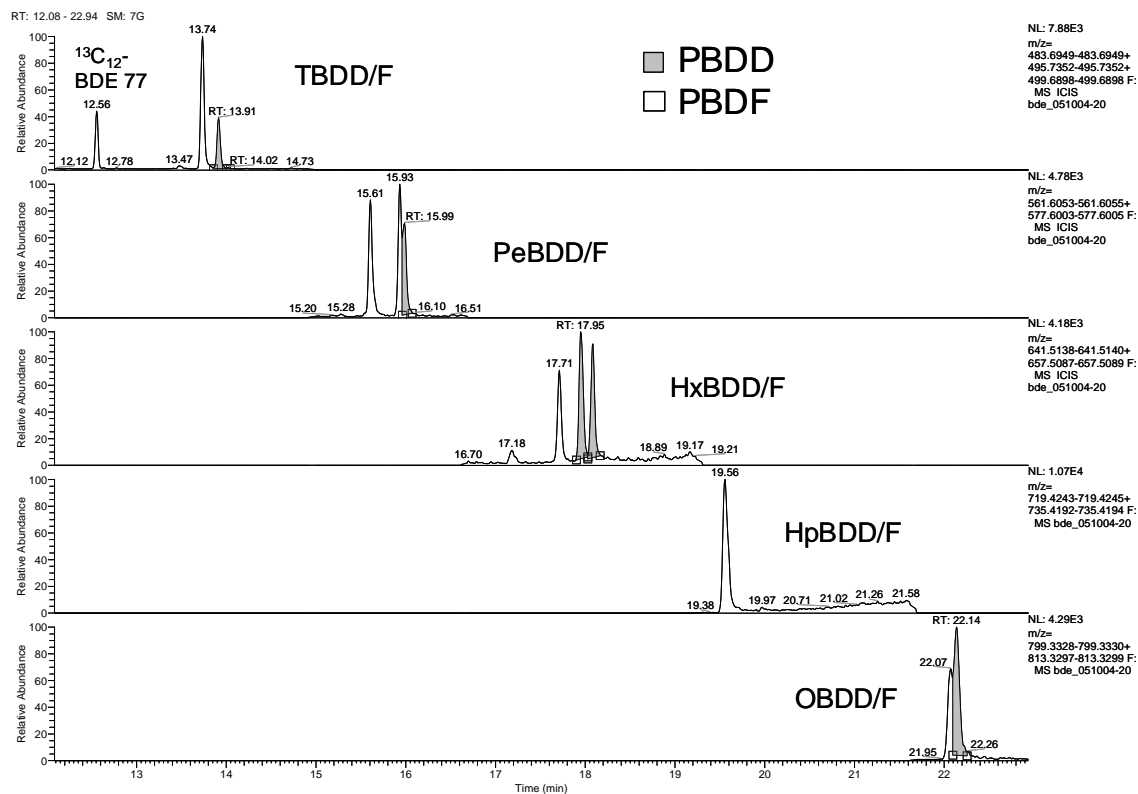


Abbildung 4.10: Massenchromatogramme der gaschromatographischen Trennung von PBDD/F. Die Massen von PBDD/F gleichen Bromierungsgrades wurden zusammengefasst (Trennkapillare: 15-m-DB-5-MS, I.D. 0,25 mm, Filmdicke 0,25 μm).

Störungen durch PBDE:

Störungen durch PBDE sind bei PBDD/F aufgrund der ähnlichen Masse hauptsächlich bei den PBDF zu erwarten. Einzig bei TBDF und OBDF waren BDE 47 bzw. BDE 209 in einigen Fällen als Signal bei sehr hohen Konzentrationen (BDE 47) oder Kontaminationen (BDE 209) sichtbar. Deren Retentionszeiten unterschieden sich aber deutlich. Zusätzlich wurden bei Wildfischen im Elutionsbereich der tetrasubstituierten Dibenzofurane Signale mit vergleichbaren Isotopenverhältnissen wie 2,3,7,8-TBDF festgestellt. Hier handelte es sich möglicherweise um nicht-2,3,7,8-substituierte tetrabromierte Kongenere. Diese Verbindungen interferierten jedoch nicht mit 2,3,7,8-TBDF.

4.2.3 PXDD/F

Aufgrund der großen Anzahl theoretisch möglicher Kongenere und deren Isotopenmassen sind gegenseitige Störungen bei PXDD/F mit unterschiedlicher Chlor- und Bromsubstitution sehr wahrscheinlich. Zudem kann es zu Überlagerungen zwischen 2,3,7,8-substituierten und nicht-2,3,7,8-substituierten Kongeneren kommen. Da nur zwei $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierte Standards und wenige unmarkierte Standards kommerziell erhältlich waren, konnten die meisten Kongenere nur über die exakte Masse und das Verhältnis zweier Isotopenmassen identifiziert werden. Aussagen über eine 2,3,7,8-Substitution der Verbindungen konnten dabei aber nicht gemacht werden. Die chromatographische Trennung der verfügbaren tetra- und pentasubstituierten PXDD/F ist in Abbildung 4.11 dargestellt.

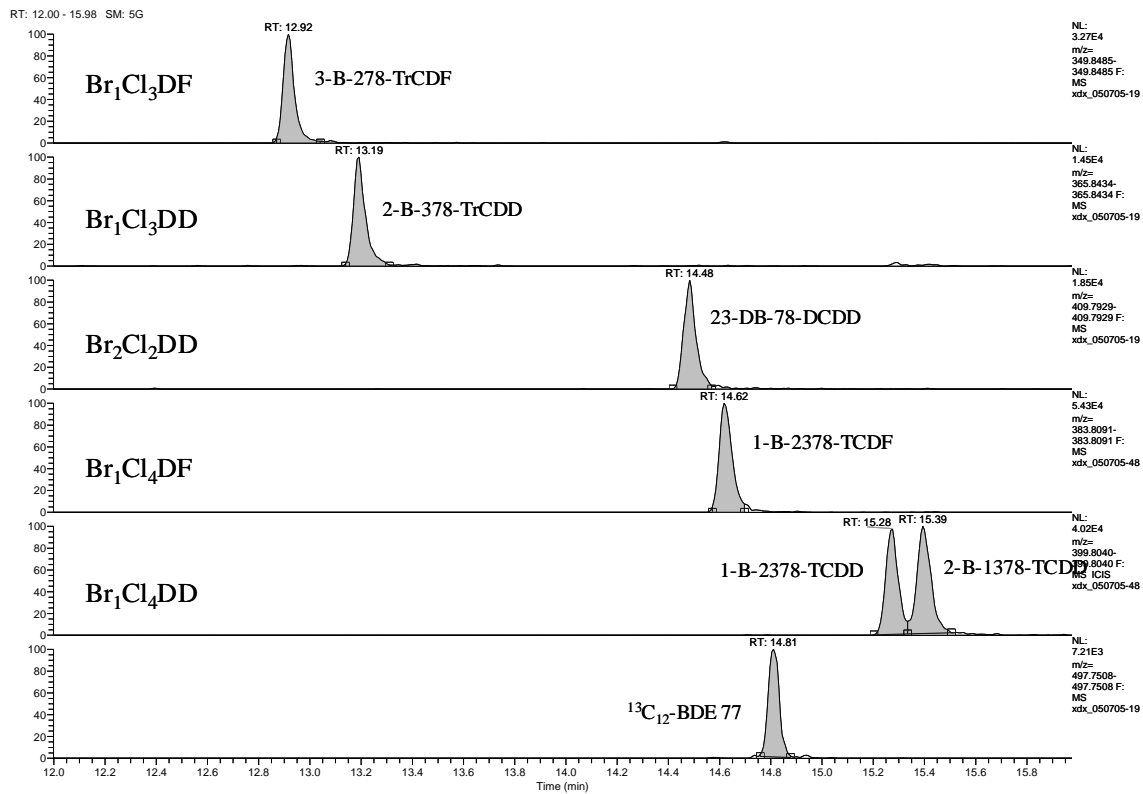


Abbildung 4.11: Massenchromatogramme der gaschromatographischen Trennung von tetra- und pentasubstituierten PXDD/F (Trennkapillare: 15-m-DB-5-MS, I.D. 0,25 mm, Filmdicke 0,25 μm).

Störungen durch PCB:

Es wurden Interferenzen von PCB bei dibromiert-dichlorierten und monobromiert-tetrachlorierten Dibenzo-p-dioxinen sowie bei dibromiert-dichlorierten und dibromiert-trichlorierten Dibenzofuranen festgestellt. In Tabelle 4.16 sind die exakten Massen dieser PXDD/F und der jeweils störenden PCB sowie das Intensitätsverhältnis der beiden Isotopenmassen zusammengefasst. Bei PXDD lassen sich Störungen durch HexaCB bzw. HeptaCB relativ einfach anhand der deutlichen Unterschiede der Isotopensignalverhältnisse erkennen. Für die PXDF ist dies nicht möglich. Das Isotopenverhältnis von PXDF und störenden HeptaCB und OctaCB ist nahezu identisch.

Tabelle 4.16: Exakte Massen ausgewählter Isotopensignale des Moleküliions von PXDD/F und den Störungen durch PCB-Massen.

	Isotopenmassen		Intensitätsverhältnis (± 15 %)	relative Retention bzgl. ¹³ C ₁₂ -BDE 77
Br₁Cl₃DD	[M] ⁺	[M+2] ⁺	0,51 (± 0,08)	0,88 ¹
	363.8455	365.8430		
HexaCB	[M+6] ⁺ :	[M+8] ⁺ :	4,1 (± 0,62)	0,68 - 0,87
	363.8351	365.8321		
benötigte MS-Auflösung: > 35 000				
Br₁Cl₄DD	[M+2] ⁺	[M+4] ⁺	1,2 (± 0,18)	1,04 ² ; 1,05 ³
	399.8040	401.8013		
HeptaCB	[M+8] ⁺	[M+10] ⁺	5,2 (± 0,78)	0,81 - 0,90
	399.7932	401.7902		
benötigte MS-Auflösung: > 37 000				
Br₂Cl₂DF	[M+2] ⁺	[M+4] ⁺	1,1 (± 0,17)	0,98 ⁴
	393.7878	395.7955		
HeptaCB	[M+2] ⁺	[M+4] ⁺	1,0 (± 0,15)	0,80 - 0,96
	393.8020	395.7991		
benötigte MS-Auflösung: > 110 000				
Br₂Cl₃DF	[M+2] ⁺	[M+4] ⁺	0,93 (± 0,14)	0,99 ⁵
	427.7588	429.7563		
OctaCB	[M+2] ⁺	[M+4] ⁺	0,89 (± 0,13)	0,87 - 1,09
	427.7630	429.7601		
benötigte MS-Auflösung: > 113 000				

¹ 2-B-3,7,8-TrCDD, ² 1-B-2,3,7,8-TCDD, ³ 2-B-1,3,7,8-TCDD, ⁴ 2,3-DiB-7,8-DCDD,

⁵ 1-B-2,3,7,8-TCDF

Zudem überlappt zum Teil der Retentionsbereich von in biologischen Proben enthaltenen PCB und PXDF, so daß eine sichere chromatographische Identifizierung nicht möglich war. Die einzige Möglichkeit zur Beseitigung dieser Störungen ist eine Abtrennung der PCB bei der Probenaufarbeitung. Eine Abtrennung ausschließlich mit Hilfe der Florisil-Säule war nicht quantitativ. Störende Signale von HeptaCB und OctaCB konnten identifiziert werden. Durch einen weiteren Aufreinigungsschritt (Aktivkohle-Säule) konnten die PCB-Störungen um den Faktor 1000 verringert werden. Die Abbildungen 4.12 und 4.13 vergleichen beide Aufarbeitungen miteinander. Da die PCB-Konzentrationen in Humanmilch oder Fischen um mehr als den Faktor 1000 über den zu erwartenden Gehalten an PXDD/F liegen, war der zusätzliche Aufreinigungsschritt an der Aktivkohle-Säule unumgänglich.

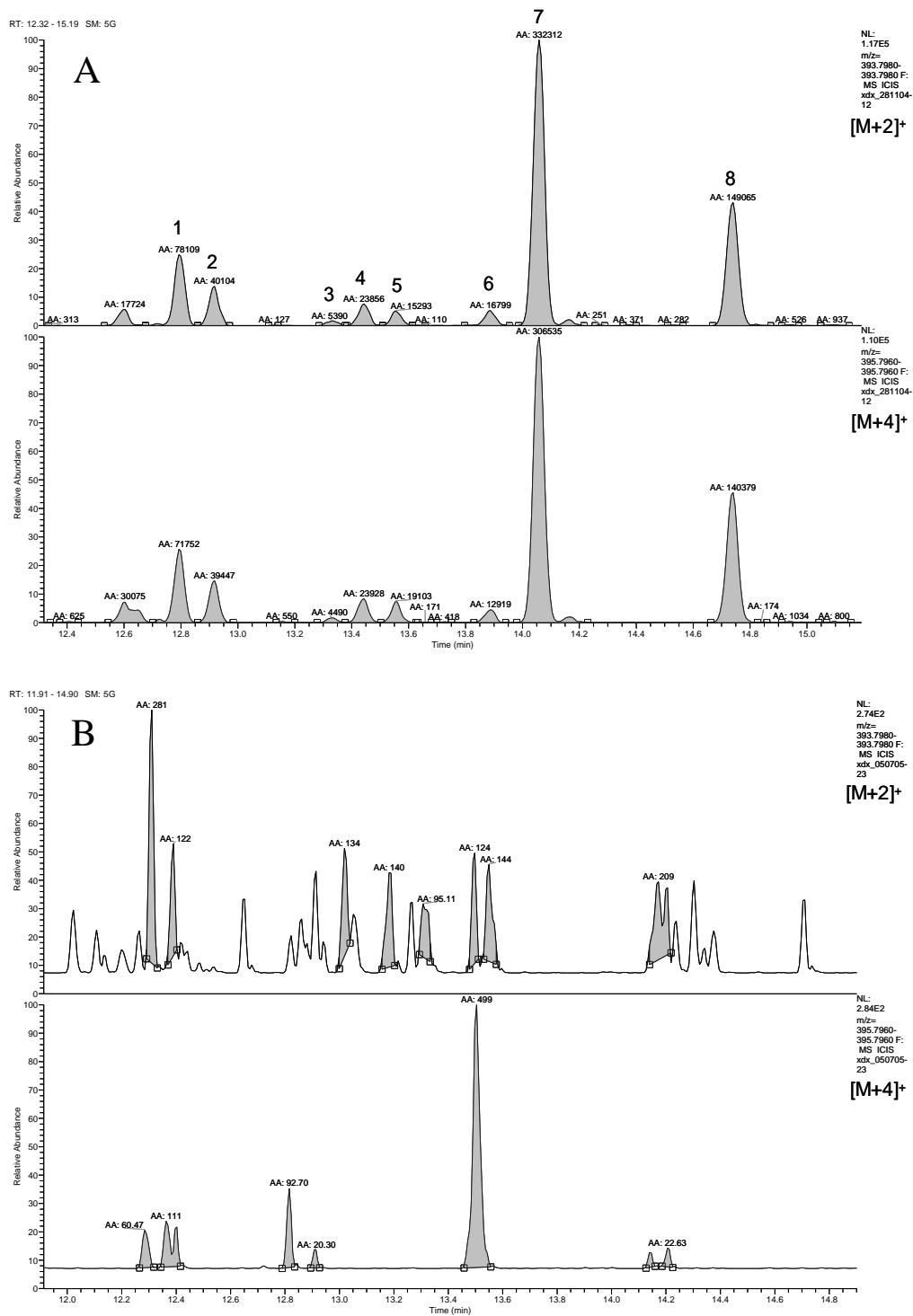


Abbildung 4.12: Massenspektren von dibromiert-dichlorierten Furanen ohne (A) und mit (B) chromatographischer Aufreinigung des Extraktes an Aktivkohle. Bezeichnung der Signale: 1: PCB 187, 2: PCB 183, 3: PCB 174, 4: PCB 177, 5: PCB 171, 6: PCB 172, 7: PCB 180, 8: PCB 170.

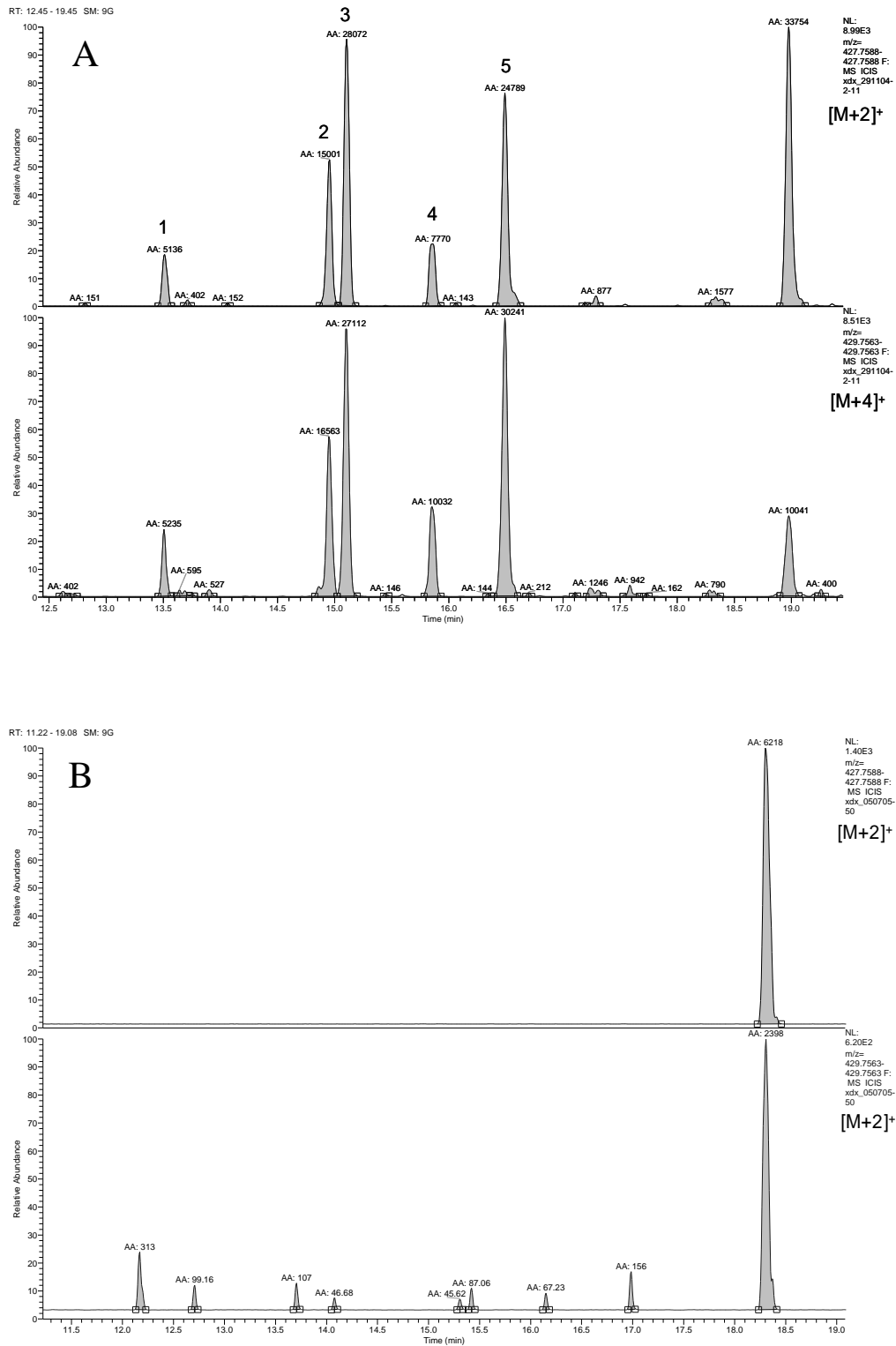


Abbildung 4.13: Massenspuren von dibromiert-trichlorierten Furanen ohne (A) und mit (B) chromatographischer Aufreinigung des Extraktes an Aktivkohle. Bezeichnung der Signale: 1-3: OctaCB, 4: PCB 203, 5: PCB 194.

4.3 Untersuchungen von Humanmilch

4.3.1 PBDE-Gehalte

Polybromierte Diphenylether konnten in allen 30 gepoolten Proben der WHO-Studie sowie in einer Humanmilchprobe aus Haiti nachgewiesen werden. Die Ergebnisse der einzelnen Proben sowie Median, Mittelwert, Minimum und Maximum für die Proben aus Deutschland sind in Tabelle 4.17 zusammengefasst.

Tabelle 4.17: Konzentrationen einzelner PBDE-Kongenere und deren Summe in gepoolten Humannmilchproben aus verschiedenen Ländern.

Land	Proben-Nr.	Σ PBDE pg/g Fett	Σ PBDE ng/g Fett	BDE 15 pg/g Fett	BDE 17 pg/g Fett	BDE 28 pg/g Fett	BDE 47 pg/g Fett	BDE 66 pg/g Fett	BDE 71 pg/g Fett	BDE 75 pg/g Fett	BDE 77 pg/g Fett
Australien	AUS_1	12 000	12	59	2,7	350	6 600	73	< 3	< 4	< 20
Belgien	B_2	2 100	2,1	28	< 2	74	890	n.q.	< 6	< 7	< 35
	B_3	2 100	2,1	31	< 1	84	820	n.q.	< 4	< 5	< 25
	<i>Mittelwert</i>	<i>2 100</i>	<i>2,1</i>	<i>29</i>	<i>79</i>	<i>860</i>					
Brasilien	BR_4	800	0,8	28	< 1	22	340	n.q.	< 7	< 8	< 40
Bulgarien	BR_5	740	0,7	9,0	< 2	59	290	n.q.	< 4	< 5	< 20
Kroatien	HR_6	2 000	2,0	23	7,1	55	990	n.q.	< 5	< 6	< 30
Tschech. Rep.	CZ_7	820	0,8	7,1	< 2	38	410	n.q.	< 7	< 8	< 35
Fiji	FJI_8	7 600	7,6	43	2,4	250	3 900	57	< 2	< 3	< 15
Finnland	FIN_9	5 100	5,1	110	< 3	320	3 000	30	< 9	< 10	< 45
Deutschland	D_10	2 600	2,6	30	< 2	89	1 100	n.q.	< 6	< 8	< 45
	D_11	5 700	5,7	34	4,6	160	3 000	n.q.	< 4	< 5	< 30
	D_12	2 100	2,1	34	< 1	65	690	n.q.	< 4	< 5	< 30
	D_13	19 000	19	49	1,9	530	11 000	n.q.	< 4	< 5	< 35
	<i>Mittelwert</i>	<i>7 300</i>	<i>7,3</i>	<i>37</i>	<i>3,2</i>	<i>210</i>	<i>4 000</i>				
	<i>Median</i>	<i>4 100</i>	<i>4,1</i>	<i>34</i>	<i>3,2</i>	<i>130</i>	<i>2 000</i>				
	<i>Minimum</i>	<i>2 100</i>	<i>2,1</i>	<i>30</i>	<i>1,9</i>	<i>65</i>	<i>690</i>				
	<i>Maximum</i>	<i>19 000</i>	<i>19</i>	<i>49</i>	<i>4,6</i>	<i>530</i>	<i>11 000</i>				
Hong Kong	HK_14	3 200	3,3	210	3,5	270	1 300	29	< 3	< 4	< 20
Ungarn	H_15	740	0,7	14	< 2	28	320	n.q.	< 4	< 4	< 25
Irland	IRL_16	10 000	10	33	11	220	6 200	n.q.	< 6	< 7	< 30
	IRL_17	6 010	6,0	79	1,7	200	3 000	n.q.	< 3	< 4	< 25
	<i>Mittelwert</i>	<i>8 200</i>	<i>8,2</i>	<i>56</i>	<i>6,2</i>	<i>210</i>	<i>4 600</i>				
Italien	I_18	2 900	2,9	36	< 2	86	1 100	n.q.	< 8	< 9	< 40
Luxemburg	L_19	3 000	3,0	32	< 2	120	1 500	n.q.	< 6	< 8	< 40
Niederlande	NL_20	3 600	3,6	37	< 2	120	1 200	50	< 4	< 5	< 35
Norwegen	N_21	2 800	2,8	21	< 1	110	1 300	21	< 4	< 4	< 30
Philippinen	RP_22	3 200	3,2	32	< 2	130	1 300	14	< 4	< 4	< 20
Rumänien	RO_23	1 100	1,1	5,9	< 2	35	510	n.q.	< 6	< 8	< 35
Russland	RUS_24	780	0,8	12	< 1	46	310	n.q.	< 3	< 4	< 20
Slowakei	SK_25	890	0,9	6,6	< 2	31	370	n.q.	< 7	< 8	< 40
Spanien	E_26	2 700	2,7	19	< 4	57	1 300	n.q.	< 15	< 20	< 70
Schweden	S_27	3 300	3,3	45	< 2	170	1 500	n.q.	< 4	< 4	< 30
Ukraine	UA_28	1 100	1,1	13	< 2	53	540	n.q.	< 6	< 7	< 4
USA	USA_29	370 000	370	1 500	82	8 700	230 000	2 000	< 15	270	680
	USA_30	99 000	99	430	16	2 800	54 000	730	< 5	82	150
	<i>Mittelwert</i>	<i>240 000</i>	<i>240</i>	<i>980</i>	<i>49</i>	<i>5 700</i>	<i>140 000</i>	<i>1 400</i>	<i>< 25</i>	<i>180</i>	<i>420</i>
Haiti	RH_31	24 000	24	130	10	890	16 000	150	< 25	40	< 140

n.q.: nicht quantifizierbar (BDE 66 ist aufgrund der Überlagerung mit PCB 170 nicht in allen Proben quantifizierbar); <: kleiner Nachweisgrenze

Tabelle 4.17 (Fortsetzung)

Land	Proben-Nr.	BDE 85 pg/g Fett	BDE 99 pg/g Fett	BDE 100 pg/g Fett	BDE 119 pg/g Fett	BDE 126 pg/g Fett	BDE 138 pg/g Fett	BDE 153 pg/g Fett	BDE 154 pg/g Fett	BDE 183 pg/g Fett	BDE 190 pg/g Fett
Australien	AUS_1	170	2 200	1 400	<3	n.b.	26	1 400	160	66	9,3
Belgien	B_2	14	200	200	<3	<20	<3	620	21	27	<3
	B_3	15	210	200	<2	n.b.	3,9	710	25	16	<3
	<i>Mittelwert</i>	<i>15</i>	<i>210</i>	<i>200</i>				<i>660</i>	<i>23</i>	<i>22</i>	
Brasilien	BR_4	8,8	130	110	<4	<30	<3	120	17	14	<3
Bulgarien	BG_5	<4,9	120	57	<3	<20	4,4	160	36	2,2	<20
Kroatien	HR_6	18	310	200	<4	<30	9,3	300	55	7,6	<20
Tschech. Rep.	CZ_7	<5,1	88	84	<3	<20	<3	110	11	8,3	<3
Fiji	FJI_8	46	640	1 400	<3	n.b.	9,1	890	290	40	<15
Finnland	FIN_9	40	490	400	<6	<35	<6	610	52	22	<25
Deutschland	D_10	23	310	220	<3	n.b.	<3	760	25	31	<4
	D_11	89	1 200	450	<3	<20	9,2	590	52	26	3,0
	D_12	14	190	230	<2	n.b.	3,8	830	22	21	9,4
	D_13	300	1 700	2 900	<3	n.b.	35	1 700	172	85	8,4
	<i>Mittelwert</i>	<i>110</i>	<i>850</i>	<i>950</i>			<i>16</i>	<i>980</i>	<i>68</i>	<i>41</i>	<i>6,9</i>
<i>Median</i>		<i>56</i>	<i>760</i>	<i>340</i>			<i>9,2</i>	<i>790</i>	<i>39</i>	<i>29</i>	<i>8,4</i>
<i>Minimum</i>		<i>14</i>	<i>190</i>	<i>220</i>			<i>3,8</i>	<i>590</i>	<i>22</i>	<i>21</i>	<i>3,0</i>
<i>Maximum</i>		<i>300</i>	<i>1 700</i>	<i>2 900</i>			<i>35</i>	<i>1 700</i>	<i>170</i>	<i>85</i>	<i>9,4</i>
Hong Kong	HK_14	18	280	270	<2	n.b.	7,2	740	55	40	13
Ungarn	H_15	5,7	110	69	<4	<20	<3	180	13	6,3	<2
Irland	IRL_16	150	1 500	1 000	<5	<35	<4	990	89	62	<4
	IRL_17	81	870	560	<2	n.b.	12	1 000	50	73	8,6
<i>Mittelwert</i>		<i>120</i>	<i>1 200</i>	<i>790</i>				<i>1 000</i>	<i>69</i>	<i>68</i>	
Italien	I_18	41	500	260	<4	<30	14	660	79	8,5	26
Luxemburg	L_19	20	290	300	<3	<20	<3	670	27	31	<3
Niederlande	NL_20	59	500	320	<3	n.b.	19	1 300	52	35	12
Norwegen	N_21	38	420	320	<3	n.b.	<2	490	36	44	4,5
Philippinen	RP_22	23	310	290	<3	<20	<6	770	200	17	31
Rumänien	RO_23	7,7	170	91	<4	<25	<4	220	38	3,9	22
Russland	RUS_24	6,0	110	78	<1	n.b.	<2	180	35	1,6	<15
Slowakei	SK_25	7,8	120	87	<5	<35	19	190	36	5,1	<10
Spanien	E_26	22	420	270	<9	<50	<9	570	35	15	<25
Schweden	S_27	39	430	300	<3	n.b.	12	690	70	7,9	<15
Ukraine	UA_28	10	140	110	<4	<20	<4	150	26	4,8	<15
USA	USA_29	7 300	59 000	39 000	<15	<90	570	18 000	3 100	120	14
	USA_30	2 100	18 000	10 000	<5	n.b.	240	8 800	950	160	19
	<i>Mittelwert</i>	<i>4 700</i>	<i>38 000</i>	<i>25 000</i>			<i>410</i>	<i>13 000</i>	<i>2 000</i>	<i>140</i>	<i>17</i>
Haiti	RH_31	190	2 800	1 700	<15	<100	<10	940	170	250	20

n.b.: nicht bestimmt; <: kleiner Nachweisgrenze

Die PBDE-Kongenerere # 15, 28, 47, 99, 100, 153, 154 und 183 waren in allen Proben vorhanden, die Kongenerere # 71, 119 und 126 dagegen in keiner einzigen Probe. BDE 17, 75, 77, 138 und 190 wurden nur in einigen Proben gefunden, BDE 77 nur in Humanmilch aus den USA. BDE 203 und 209 wurden in beiden Proben nachgewiesen, aber nicht quantifiziert, da bei der Fettextraktion der Humanmilch (in den Jahren 2000 bis 2003) die Methodenentwicklung noch nicht begonnen wurde und durch mögliche Blindwerte das Ergebnis verfälscht werden könnte. Die Konzentrationen der verschiedenen Kongenerere variierten über mehr als fünf Größenordnungen zwischen < 1 pg/g Fett und 234 ng/g Fett (BDE 47 in der Probe aus Kalifornien). In Tabelle 4.18 sind die absoluten Konzentrationen und relativen Anteile an der Summe der PBDE der wichtigsten Kongenerere von allen untersuchten Proben zusammengefasst.

Tabelle 4.18: Konzentration mengenmäßig wichtiger PBDE-Kongenerere und relativer Anteil an der Summe der PBDE in Humanmilchproben aus verschiedenen Ländern. Mittelwert, Median, Minimum und Maximum sind angegeben.

	Mittelwert		Median		Minimum		Maximum	
	pg/g Fett	Anteil %	pg/g Fett	Anteil %	pg/g Fett	Anteil %	pg/g Fett	Anteil %
BDE 15	100	1,2	32	1,1	5,9	0,3	1 500	6,4
BDE 28	520	3,9	110	3,5	22	2,1	8 700	8,2
BDE 47	12 000	47	1 200	46	290	32	230 000	68
BDE 85	370	1,0	23	0,9	5,7	0,6	7 300	2,1
BDE 99	3 000	13	310	14	88	8,4	59 000	21
BDE 100	2 000	10	270	9,7	57	7,2	39 000	19
BDE 153	1 500	19	670	1	110	4,0	18 000	39
BDE 154	190	2,0	50	1,3	11	0,7	3 100	6,4
BDE 183	40	0,7	22	0,5	1,6	0,03	250	1,7

Die Gesamt-PBDE-Gehalte wurden als Summe aller untersuchten PBDE berechnet. Nicht nachgewiesene Kongenerere wurden dabei nicht mit ihren Nachweisgrenzen eingerechnet. Die PBDE-Gehalte der gepoolten Proben lagen zwischen 0,74 ng/g Fett (Bulgarien) und 374 ng/g Fett (USA, Kalifornien).

Die mit deutlichem Abstand höchsten PBDE-Gehalte wurden in den beiden US-amerikanischen Proben mit 374 ng/g Fett (Kalifornien) und 99 ng/g Fett (North Carolina) gefunden. Diese lagen um ein bis zwei Größenordnungen über denjenigen aller anderer

Länder. Dies deckte sich auch mit den Ergebnissen anderer Studien von She et al. (2005) und Schechter et al. (2003). Auch dort wurden die mit Abstand höchsten Konzentrationen in den USA gefunden.

Die nächsthöheren Konzentrationen hatten eine gepoolte Humanmilchprobe aus Deutschland (Ravensburg) mit 19 ng/g Fett, eine aus Australien mit 12,5 ng/g Fett und eine aus Irland (Dublin) mit 10,3 ng/g Fett. Hohe PBDE-Gehalte für Australien wurden auch in einer australischen Studie gefunden (Harden et al., 2005). In allen übrigen Proben lagen die Gehalte unter 10 ng/g Fett. Insgesamt zwei Drittel aller gepoolten Proben und mehr als 70 % der Länder (unter Berücksichtigung der Mittelwerte) wiesen Werte unter 5 ng/g Fett auf.

Die niedrigsten Konzentrationen von < 1 ng/g Fett wurden in Humanmilch aus Bulgarien, Brasilien, Ungarn, Russland und der Slowakei gemessen. Diese osteuropäischen Länder lagen damit um mindestens den Faktor 2 unter den westeuropäischen. Eine Humanmilchprobe aus Haiti, die nicht im Rahmen der Proben der WHO-Feldstudie untersucht wurde, hatte mit 24 ng/g Fett nach den beiden Proben aus den USA insgesamt den dritthöchsten Gehalt. Die Ergebnisse der WHO-Proben bestätigen meist die Resultate für diejenigen Länder, welche bereits nationale Untersuchungen durchgeführt hatten (Vieth et al., 2005; Ryan et al., 2004). Die gepoolte Humanmilchprobe aus Kalifornien lag jedoch um den Faktor vier über den mittleren Gehalten von Humanmilchproben aus den USA (Schechter et al., 2003; She et al., 2005).

Die Konzentrationen der vier deutschen Proben aus Baden-Württemberg lagen zwischen 2,1 und 19 ng/g Fett. Diese große Variabilität von nahezu einer Größenordnung wurde weder für PCDD/F und PCB noch für andere POPs im Rahmen der WHO-Studie gefunden. Dort unterschieden sich die Proben maximal um den Faktor zwei, meist war der Unterschied noch deutlich geringer.

Im Labor „Pestizide und Kontaminanten in Lebensmitteln tierischer Herkunft und Humanmilch“ wurden zusätzlich auch die Einzelproben aus Deutschland untersucht. In den gepoolten Humanmilchproben aus Ravensburg und Stuttgart gab es jeweils eine Probe, die den mittleren Gehalt für die gepoolte Probe überdurchschnittlich erhöhte. Diese beiden Einzelproben haben wohl einen speziellen Belastungshintergrund. Dadurch lassen sich die deutlichen höheren Gehalte der Poolproben und möglicherweise auch die unterschiedlichen Kongenerenmuster erklären. Diese beiden hochbelasteten Einzelproben verfälschen damit die Gesamtstatistik für Deutschland.

4.3.2 PBDE-Kongenerenmuster

Die PBDE-Kongenerenmuster unterschieden sich deutlich zwischen den einzelnen Proben und Ländern. Das vorherrschende Kongener in allen Proben war BDE 47 mit Ausnahme zweier Proben (Niederlande und Deutschland (Kehl)). In diesen beiden Proben war BDE 153 am intensivsten. Der BDE 47-Anteil an der PBDE-Summe variierte zwischen 32 % (Niederlande) und 63 % (USA, Kalifornien). In der Humanmilch aus Haiti lag der BDE 47-Anteil mit 68 % sogar noch höher. In Abbildung 4.14 werden die relativen Anteile der PBDE-Kongenere # 28, 47, 99, 100, 153 und 154 in den Proben aus den Niederlanden und USA (Kalifornien) mit dem Mittelwert aus allen untersuchten Humanmilchproben verglichen.

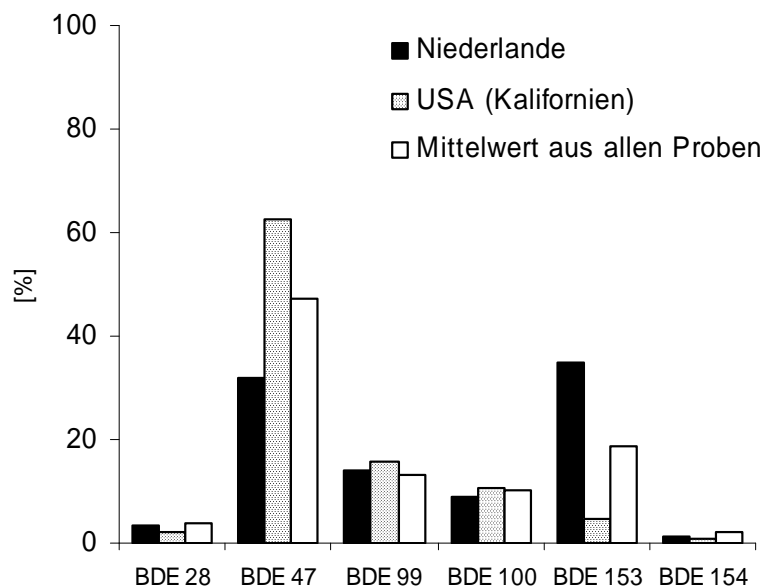


Abbildung 4.14: Vergleich der relativen Anteile der PBDE-Kongenere # 28, 47, 99, 100, 153 und 154 an der Summe der PBDE in Proben aus den Niederlanden und Kalifornien mit dem Mittelwert aus allen Humanmilchproben

Das mengenmäßig zweitintensivste Kongener war in den meisten Proben BDE 153 mit einem relativen Anteil zwischen 4,7 % (USA) und 39 % (Deutschland, Kehl). In fünf Proben war BDE 99 das zweitdominanteste Kongener (8,4 - 18,4 %). Unabhängig vom gesamten Kongenerenmuster lag die Summe dieser drei mit wenigen Ausnahmen zwischen 75 und 85 %. In Abbildung 4.15 sind die relativen Anteile der beiden Kongenere BDE 47 und 153 an der PBDE-Summe zusammengefasst.

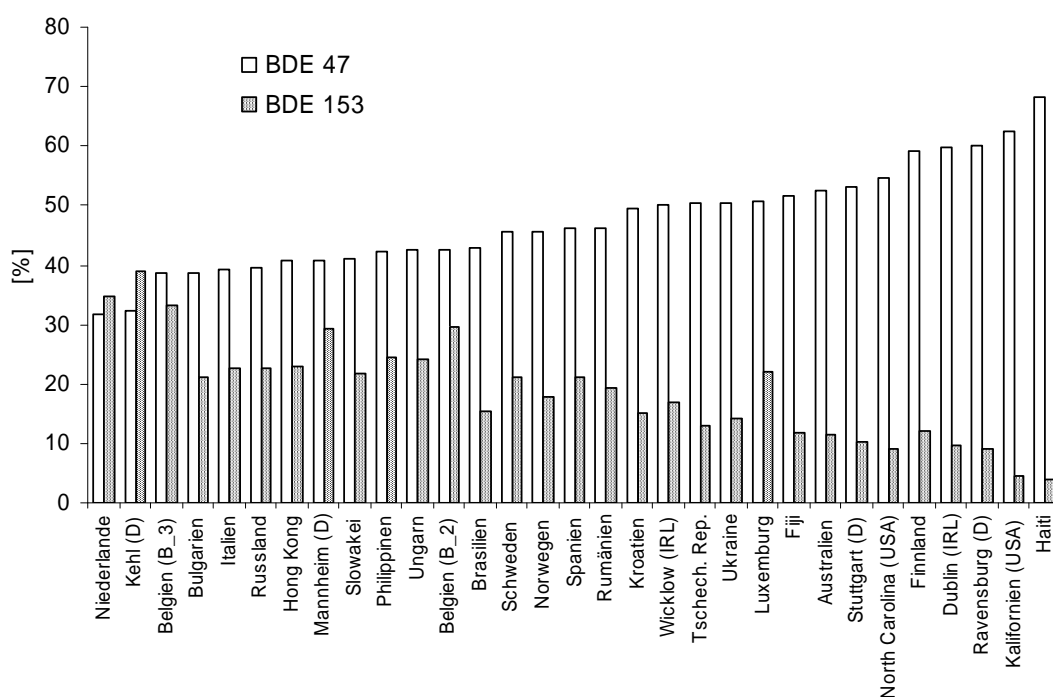


Abbildung 4.15: Relative Anteile der PBDE-Kongeneren # 47 und 153 in 31 Humanmilchproben aus 25 verschiedenen Ländern

Der Unterschied zwischen den Proben aus Kalifornien (und Haiti) und allen anderen Ländern zeigte sich besonders deutlich beim Verhältnis zwischen BDE 47 und 153. Dieses betrug in der Probe aus Kalifornien etwa 13 (Haiti 17). Für alle anderen Proben lag der Quotient zwischen 0,9 und 6,6. Dies ist mit der Studie von Schecter et al. (2003) vergleichbar. She et al. (2004) berichteten jedoch über US-amerikanische Proben mit BDE 153 als intensivstem Kongener.

Die vier Proben aus Baden-Württemberg zeigten untereinander erhebliche Unterschiede. Der relative Anteil von BDE 47 schwankte zwischen 32 (Kehl) und 60 % (Ravensburg), der von BDE 153 zwischen 9 (Ravensburg) und 39 % (Kehl). Die Kongenerenmuster der Poolproben mit den höheren PBDE-Belastungen (Ravensburg, Stuttgart) unterschieden sich deutlich von denjenigen der Proben aus Kehl und Mannheim. Sie waren eher mit den Proben aus den USA vergleichbar (siehe Abbildung 4.16).

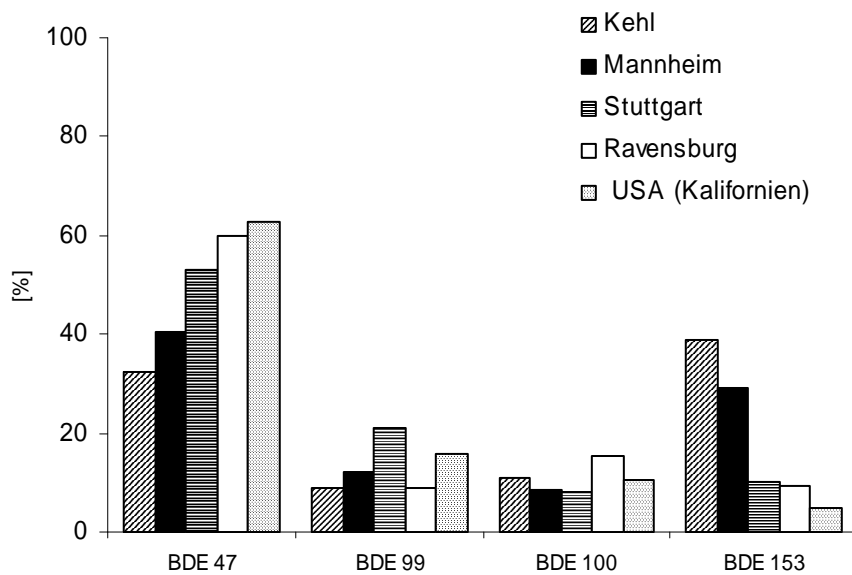


Abbildung 4.16: Vergleich der relativen Anteile der PBDE-Kongenere # 47, 99 und 153 an der Summe der PBDE in vier Proben aus Deutschland und einer Probe aus den USA (Kalifornien)

4.3.3 PBDD/F

Die Ergebnisse der Untersuchung von Humanmilchproben aus verschiedenen Ländern auf PBDD/F sind in Tabelle 4.19 zusammengefasst.

Tabelle 4.19: Konzentrationen von PBDD/F-Kongeneren in gepoolten Humammilchproben aus verschiedenen Ländern.

Land	Proben-Nr.	2,3,7,8-TBDD	1,2,3,7,8-PeBDD	1,2,3,4,7,8-HxBDD	1,2,3,7,8,9-HxBDD	1,2,3,4,6,7,8-HpBDD	OBDD
		pg/g Fett	pg/g Fett	pg/g Fett	pg/g Fett	pg/g Fett	pg/g Fett
Australien	AUS_1	< 0,05	< 0,2	< 0,3	< 0,2	< 0,6	< 2
Belgien	B_2	< 0,01	< 0,1	< 0,2	< 0,1	< 0,3	< 3
	B_3	< 0,05	< 0,2	< 0,4	< 0,2	< 0,3	< 2
Brasilien	BR_4	< 0,01	< 0,5	< 0,3	< 0,2	< 0,5	< 3
	BG_5	< 0,05	< 0,2	< 0,4	< 0,2	< 0,4	< 3
Kroatien	HR_6	< 0,01	< 0,2	< 0,4	< 0,2	< 0,5	< 10
Tschech. Rep.	CZ_7	< 0,01	< 0,2	< 0,5	< 0,2	< 0,5	< 6
Fiji	FJI_8	< 0,01	< 0,1	< 0,2	< 0,1	< 0,4	< 1
Finnland	FIN_9	< 0,01	< 0,2	< 0,5	< 0,3	< 0,7	< 5
Deutschland	D_10	< 0,05	< 0,3	< 0,6	< 0,3	< 0,7	< 6
	D_11	< 0,05	< 0,2	< 0,4	< 0,2	< 0,4	< 4
	D_12	< 0,01	< 0,1	< 0,4	< 0,2	< 0,3	< 2
	D_13	< 0,01	< 0,1	< 0,3	< 0,1	< 0,3	< 3
Hong Kong	HK_14	< 0,05	< 0,1	< 0,3	< 0,2	< 0,2	< 3
Ungarn	H_15	< 0,01	< 0,2	< 0,3	< 0,2	< 0,5	< 6
Irland	IRL_16	0,18	< 0,2	< 0,3	< 0,1	< 0,5	< 5
	IRL_17	< 0,01	< 0,1	< 0,3	< 0,1	< 0,4	< 4
Italien	I_18	0,13	< 0,1	< 0,3	< 0,2	< 0,5	< 3
Luxemburg	L_19	< 0,01	< 0,2	< 0,2	< 0,2	< 1,3	< 2
Niederlande	NL_20	< 0,05	< 0,2	< 0,3	< 0,2	< 0,4	< 2
Norwegen	N_21	< 0,05	< 0,2	< 0,4	< 0,3	< 0,4	< 2
Philippinen	RP_22	< 0,01	< 0,1	< 0,3	< 0,2	< 0,4	< 2
Rumänien	RO_23	< 0,05	< 0,3	< 0,5	< 0,3	< 3,2	< 3
Russland	RUS_24	0,05	< 0,1	< 0,3	< 0,1	< 0,3	< 3
Slowakei	SK_25	0,06	0,29	< 1,4	< 0,8	< 0,5	< 2
Spanien	E_26	0,28	< 0,2	< 0,2	< 0,1	< 0,3	< 2
Schweden	S_27	< 0,01	< 0,1	< 0,2	< 0,1	< 0,3	< 7
Ukraine	UA_28	< 0,01	< 0,2	< 0,3	< 0,2	< 0,7	< 5
USA	USA_29	< 0,01	< 0,1	< 0,3	< 0,2	< 0,4	< 2
	USA_30	< 0,01	< 0,1	< 0,2	< 0,1	< 0,4	< 2
Haiti	RH_31	< 0,05	< 0,2	< 0,3	< 0,2	< 0,4	< 50

<: Kleiner Nachweisgrenze

Tabelle 4.19 (Fortsetzung)

Land	Probe-Nr.	2,3,7,8-TBDF	1,2,3,7,8-PeBDF	2,3,4,7,8-PeBDF	1,2,3,4,7,8-HxBDF	1,2,3,6,7,8-HxBDF	2,3,4,6,7,8-HxBDF	1,2,3,7,8,9-HxBDF	1,2,3,4,7,8,9-HpBDF	OBDF
		pg/g Fett	pg/g Fett	pg/g Fett	pg/g Fett	pg/g Fett	pg/g Fett	pg/g Fett	pg/g Fett	pg/g Fett
Australien	AUS_1	0,66	<0,1	<0,1	<1,4	<0,7	<0,6	<0,7	<0,6	<100
Belgien	B_2	2,7	0,49	0,60	<1,1	<0,5	<0,3	<0,5	<0,3	<20
	B_3	1,8	<0,1	0,58	<1,5	<0,8	<0,3	<0,8	<0,3	<60
Brasilien	BR_4	<0,1	<0,1	0,10	<1,7	<0,9	<0,5	<0,9	<0,5	<20
Bulgarien	BG_5	<0,1	<0,1	<0,1	<1,7	<0,8	<0,4	<0,8	<0,4	<20
Kroatien	HR_6	<0,2	<0,3	0,67	<3,5	<1,7	<0,5	<1,7	<0,5	<50
Tschech. Rep.	CZ_7	<0,1	<0,1	<0,1	<2,4	<1,2	<0,5	<1,2	<0,5	<30
Fiji	FJI_8	<0,1	<0,1	<0,04	<1,4	<0,7	<0,4	<0,7	<0,4	<20
Finnland	FIN_9	0,47	<0,1	0,37	2,6	<1,9	<0,7	<1,9	<0,7	<20
Deutschland	D_10	<0,1	<0,2	0,94	<3,6	<1,8	<0,7	<1,8	<0,7	<140
	D_11	0,65	<0,1	0,46	<2,5	<1,2	<0,4	<1,2	<0,4	<100
	D_12	0,60	0,47	<0,1	<1,6	<0,8	<0,3	<0,8	<0,3	<50
	D_13	0,48	<0,1	<0,1	<1,5	<0,8	<0,3	<0,8	<0,3	<60
Hong Kong	HK_14	1,0	0,15	<0,1	<1,1	<0,6	<0,2	<0,6	<0,2	<70
Ungarn	H_15	0,54	<0,2	<0,1	<2,0	<1,0	<0,5	<1,0	<0,5	<25
Irland	IRL_16	0,94	0,28	0,45	<1,9	<0,9	<0,5	<0,9	<0,5	<25
	IRL_17	0,62	0,20	0,71	<1,3	<0,6	<0,4	<0,6	<0,4	<45
Italien	I_18	0,74	<0,1	0,15	2,8	<1,0	<0,5	<1,0	<0,5	<15
Luxemburg	L_19	2,0	0,31	0,25	<3,4	<1,7	<1,3	<1,7	<1,3	<20
Niederlande	NL_20	1,3	1,2	1,1	<1,5	<0,7	<0,4	<0,7	<0,4	<80
Norwegen	N_21	0,85	0,44	<0,1	<1,7	<0,9	<0,4	<0,9	<0,4	<65
Philippinen	RP_22	0,29	<0,1	<0,1	<2,4	<1,2	<0,4	<1,2	<0,4	<15
Rumänien	RO_23	0,16	<0,2	<0,6	<3,9	<2,0	<0,3	<2,0	<0,3	<50
Russland	RUS_24	<0,1	0,32	<0,1	<1,1	<0,6	<0,3	<0,6	<0,3	<75
Slowakei	SK_25	0,32	<0,2	<0,2	<2,5	<1,4	<0,5	<1,4	<0,5	<20
Spanien	E_26	0,53	<0,1	<0,1	<1,2	<0,6	<0,3	<0,6	<0,3	<10
Schweden	S_27	0,55	<0,1	0,33	3,8	<0,5	<0,3	<0,5	<0,3	<20
Ukraine	UA_28	0,59	<0,1	<0,1	<1,9	<0,9	<0,7	<0,9	<0,7	<40
USA	USA_29	0,74	0,10	0,38	<1,2	<0,6	<0,4	<0,6	<0,4	<15
	USA_30	0,85	<0,1	<0,05	<1,3	<0,6	<0,4	<0,6	<0,4	<65
Haiti	RH_31	0,57	0,17	0,26	<1,8	<0,9	n.a.*	<0,9	n.a.*	<90

<: kleiner Nachweisgrenze

n.a.*: nicht analysiert

1,2,3,4,6,7,8-HpBDF konnte aufgrund zu hoher Blindwerte nicht analysiert werden

PBDD-Kongenere konnten nur in wenigen Proben nachgewiesen werden. 2,3,7,8-TBDD wurde in vier Proben gefunden, 1,2,3,7,8-PeBDD in einer einzigen. Die Gehalte lagen dabei zwischen 0,05 und 0,29 pg/g Fett.

Im Gegensatz dazu waren insbesondere tetra- und pentasubstituierte PBDF-Kongenere in zahlreichen Proben in deutlich höheren Konzentrationen nachweisbar. Das vorherrschende Kongener war 2,3,7,8-TBDF, das mit Konzentrationen zwischen 0,16 und 2,7 pg/g Fett in mehr als 75 % aller Proben vorhanden war. Daneben waren auch 1,2,3,7,8-PeBDF (0,1 bis 1,2 pg/g Fett) und 2,3,4,7,8-PeBDF (0,2 bis 1,1 pg/g Fett) in 32 % bzw. 48 % aller Proben nachweisbar. Weitere 2,3,7,8-substituierte PBDF-Kongenere mit Ausnahme von 1,2,3,4,7,8-/1,2,3,6,7,8-HxBDF waren nicht nachweisbar. 1,2,3,4,6,7,8-HpBDF konnte aufgrund hoher Blindwerte nicht quantifiziert werden. Auch in anderen Publikationen von Choi et al. (2003a) und Ohta et al. (2004b) wurden hauptsächlich 2,3,7,8-TBDF, 2,3,4,7,8-PeBDF und 2,3,7,8-TBDD mit Konzentrationen bis 4 pg/g Fett gefunden.

Die Berechnung der „WHO-PBDD/F-TEQ“ erfolgte mit den WHO-TEF für PCDD/F (siehe Tabelle 4.20). Diese Werte lagen unter Einbezug der Nachweisgrenze („upper-bound“-TEQ) zwischen 0,56 und 1,7 pg/g Fett, mit halber Nachweisgrenze („middle-bound“-TEQ) bei 0,28 bis 1,1 pg/g Fett und ohne Berücksichtigung der Nachweisgrenze („lower-bound“-TEQ) zwischen 0 und 0,95 pg/g Fett. Der Beitrag der tatsächlich nachgewiesenen PBDD/F-Kongenere betrug im Mittel 25 % („upper-bound“-TEQ, Bereich 0 - 66 %) bzw. 36 % („lower-bound“-TEQ, Bereich 0 - 80 %). Der mit Abstand größte Beitrag zum PBDD/F-TEQ kam dabei vom 2,3,4,7,8-PeBDF, das mit einem TEF von 0,5 einen Anteil am „upper-bound“-TEQ von bis zu 42 % hatte.

Es gab keine Korrelationen zwischen den PBDE- und PBDD/F-Gehalten. Auch die PBDD/F-Konzentrationen der beiden Humanmilchproben aus den USA waren trotz ihrer deutlich höheren PBDE-Gehalte mit denjenigen aller übrigen Proben vergleichbar und lagen in der gleichen Größenordnung. Dies könnte darauf hindeuten, daß der Abbau von PBDE keine Quelle für PBDD/F-Belastung des Menschen darstellt.

Tabelle 4.20: PBDD/F-Konzentrationen in Humanmilchproben aus verschiedenen in Ländern, ausgedrückt als „WHO-PBDD/F-TEQ“. Die Nachweisgrenzen (NWG) wurden jeweils nicht („lower-bound“-TEQ), zur Hälfte („middle-bound“-TEQ) oder vollständig („upper-bound“-TEQ) miteingerechnet. In Klammern ist jeweils der relative Anstieg (in %) bei Einberechnung der halben oder vollen Nachweisgrenzen angegeben

Land	Proben-Nr.	NWG nicht eingerechnet	halbe NWG eingerechnet		volle NWG eingerechnet	
		("lower-bound"-TEQ)	("middle-bound"-TEQ)		("upper-bound"-TEQ)	
		pg/g Fett	pg/g Fett	(%)	pg/g Fett	(%)
Australien	AUS_1	0,07	0,36	(81)	0,66	(89)
Belgien	B_2	0,60	0,80	(25)	1,01	(41)
	B_3	0,47	0,77	(39)	1,07	(56)
	<i>Mittelwert</i>	<i>0,54</i>	<i>0,79</i>	<i>(32)</i>	<i>1,04</i>	<i>(49)</i>
Brasilien	BR_4	0,05	0,51	(90)	0,98	(95)
Bulgarien	BUL_5	0	0,36	(-)	0,71	(-)
Kroatien	HR_6	0,34	0,84	(60)	1,35	(75)
Tschech. Rep.	CZ_7	0	0,41	(-)	0,82	(-)
Fiji	FJI_8	0	0,24	(-)	0,47	(-)
Finnland	Fin_9	0,49	0,94	(48)	1,39	(65)
Deutschland	D_10	0,47	1,09	(57)	1,72	(73)
	D_11	0,30	0,60	(50)	0,90	(67)
	D_12	0,08	0,36	(78)	0,64	(88)
	D_13	0,05	0,33	(85)	0,58	(91)
	<i>Mittelwert</i>	<i>0,23</i>	<i>0,60</i>	<i>(62)</i>	<i>0,96</i>	<i>(77)</i>
	<i>Median</i>	<i>0,19</i>	<i>0,48</i>	<i>(60)</i>	<i>0,77</i>	<i>(75)</i>
	<i>Minimum</i>	<i>0,05</i>	<i>0,33</i>	<i>(85)</i>	<i>0,58</i>	<i>(91)</i>
<i>Maximum</i>	<i>0,47</i>	<i>1,09</i>	<i>(57)</i>	<i>1,72</i>	<i>(73)</i>	
Hong Kong	HK_14	0,11	0,34	(68)	0,58	(81)
Ungarn	H-15	0,05	0,43	(88)	0,80	(94)
Irland	IRL_16	0,51	0,81	(37)	1,10	(54)
	IRL_17	0,43	0,63	(32)	0,84	(49)
	<i>Mittelwert</i>	<i>0,47</i>	<i>0,72</i>	<i>(35)</i>	<i>0,97</i>	<i>(52)</i>
Italien	I_18	0,56	0,81	(31)	1,05	(47)
Luxemburg	L_19	0,34	0,80	(58)	1,26	(73)
Niederlande	NL_20	0,73	1,01	(28)	1,28	(43)
Norwegen	N_21	0,11	0,48	(77)	0,85	(87)
Philippinen	RP_22	0,03	0,39	(92)	0,74	(96)
Rumänien	RO_23	0,02	0,79	(97)	1,56	(99)
Russland	RUS_24	0,07	0,28	(75)	0,50	(86)
Slowakei	SK_25	0,38	0,83	(54)	1,28	(70)
Spanien	E_26	0,33	0,58	(43)	0,83	(60)
Schweden	S_27	0,60	0,75	(20)	0,91	(34)
Ukraine	UA_28	0,06	0,39	(85)	0,72	(92)
USA	USA_29	0,27	0,48	(44)	0,68	(60)
	USA_30	0,09	0,30	(70)	0,52	(83)
	<i>Mittelwert</i>	<i>0,18</i>	<i>0,39</i>	<i>(54)</i>	<i>0,60</i>	<i>(70)</i>
Haiti	RH_31	0,20	0,52	(62)	0,83	(76)

4.3.4 PXDD/F

Erste Priorität hatte die Bestimmung der toxikologisch besonders relevanten tetra- und penta-substituierten PXDD/F. Vier 2,3,7,8-substituierte TXDD (insgesamt 254 Kongenere) und acht TXDF (insgesamt 496 Kongener) können theoretisch vorkommen. Bei den pentasubstituierten gibt es bereits zwanzig 2,3,7,8-PeXDD (insgesamt 420) und vierzig PeXDF (480). Eine Untersuchung auf hexa-, hepta- und octasubstituierte Kongenere war erst nach dem tatsächlichen Nachweis von tetra- und pentasubstituierten Kongeneren geplant. Die

Berechnung des „WHO-PXDD/F-TEQ“ ist nicht sinnvoll, wenn zu viele Kongenere gar nicht nachweisbar sind.

In den am Ende der Nahrungskette stehenden Menschen werden nur 2,3,7,8-substituierte PCDD/F gefunden (Oehme, 1998). Unter dieser Voraussetzung wurde angenommen, daß, falls PXDD/F in den Humanmilchproben nachgewiesen werden, es sich nur um 2,3,7,8-substituierte Kongenere handelt.

In allen untersuchten Humanmilchproben wurden aber keine tetra- und pentasubstituierten PXDD/F nachgewiesen. Es wurden auch keine Signale festgestellt, die auf PXDD/F hinweisen könnten. Dies steht im Gegensatz zu Untersuchungen von Humanmilch in Japan. Ohta et al. (2004b) konnten dort 2,3,7,8-substituierte PXDD/F, wie 2,3,7,8-substituierte mono- und dibromierte Dibenzo-p-dioxine nachweisen. Die PXDD/F-TEQ-Werte betragen bis zu 4,4 pg TEQ/g Fett. Die verwendete Probenaufarbeitung unterschied sich von den Standard-Aufarbeitungsmethoden durch Verseifung des Fettes mit KOH/Ethanol vor der Extraktion. Bei zu hohen Temperaturen oder zu langer Verseifung kann es dabei zum Abbau von hochbromierten PBDE kommen (Covaci et al., 2003).

Die Nachweisgrenzen lagen mit 0,03 pg/g Fett im Bereich der TBDD/F und um den Faktor 5 bis 10 über denjenigen der chlorierten Homologen und dennoch für die Bestimmung dieser gemischt-halogenierten Kongenere in Humanmilch ausreichend.

4.3.5 Vergleich von PBDD/F mit PCDD/F

Im Gegensatz zu den PCDD/F, wo nahezu alle 2,3,7,8-substituierten Kongenere in den Humanmilchproben nachgewiesen werden konnten, waren nur wenige PBDD/F-Kongenere nachweisbar. Die wichtigsten waren dabei 2,3,7,8-TBDF (nachweisbar in 80 % aller Proben) und 2,3,4,7,8-PeBDF (in 50 %). In Tabelle 4.21 werden die Gehalte dieser beiden bromierten Kongenere mit denjenigen der chlorierten Homologe verglichen (mit Berücksichtigung der Nachweisgrenze) sowie deren Verhältnis zusammengefasst. Die Gehalte von 2,3,7,8-TBDF und 2,3,7,8-TCDF waren zumeist vergleichbar, wogegen 2,3,4,7,8-PeCDF durchschnittlich um eine Größenordnung höher konzentriert war als das bromierte Homolog.

Tabelle 4.21: Vergleich der Gehalte von 2,3,7,8-TCDF und -TBDF sowie 2,3,4,7,8-PeCDF und -PeBDF in Humanmilchproben. Mittelwert, Minima und Maxima sowie das Verhältnis der Homologen sind angegeben.

Kongener	Konzentration in pg/g Fett		
	Mittelwert	Minimum	Maximum
2,3,7,8-TBDF	0,68	< 0,05	2,7
2,3,7,8-TCDF	0,67	0,21	1,5
Verhältnis 2,3,7,8-TBDF / 2,3,7,8-TCDF	1,2	0,05	3,6
2,3,4,7,8-PeBDF	0,29	< 0,04	1,1
2,3,4,7,8-PeCDF	6,7	1,2	14
Verhältnis 2,3,4,7,8-PeBDF / 2,3,4,7,8-PeCDF	0,05	0,01	0,22

4.4 Untersuchung von Lebensmitteln und Futtermitteln

4.4.1 PBDE

Gehalte:

Es wurden hauptsächlich fetthaltige Lebensmittel wie Fleisch und Fisch untersucht, da diese größtenteils zur PBDE-Belastung des Menschen beitragen. Zum Vergleich wurden auch pflanzliche Lebensmittel (Grünkohl) untersucht. Die Ergebnisse der Untersuchung von tierischen und pflanzlichen Lebensmitteln sowie Futtermitteln sind in Tabelle 4.22 zusammengefasst.

Tabelle 4.22: Konzentrationen von PBDE-Kongeneren und deren Summe in pg/g und ng/g Fett und Frischgewicht (FG) in Lebensmittel- und Futtermittelproben aus Baden-Württemberg

Probenart	Proben-Nr.	Σ PBDE pg/g Fett	Σ PBDE ng/g Fett	Σ PBDE pg/g FG	Σ PBDE ng/g FG	BDE 15 pg/g Fett	BDE 17 pg/g Fett	BDE 28 pg/g Fett	BDE 47 pg/g Fett	BDE 66 pg/g Fett	BDE 71 pg/g Fett	BDE 75 pg/g Fett
Kuhmilch	ML_1	180	0,18	5,4	0,005	0,5	0,5	2,0	100	<2	<0,5	<0,5
	ML_2	130	0,13	4,0	0,004	0,3	<0,5	1,4	66	<2	<0,5	<0,5
	ML_3	210	0,22	6,4	0,006	0,3	0,6	1,7	100	<1	<0,5	<0,5
	ML_4	140	0,14	4,3	0,004	0,3	0,3	1,5	72	<4	<0,5	<0,5
	<i>Mittelwert</i>	170	0,17	5,0	0,005	0,4	0,5	1,6	84			
<i>Median</i>	160	0,16	4,8	0,005	0,3	0,5	1,6	86				
Butter	BU_1	260	0,26	2,10	0,21	0,2	<0,5	1,1	100	3,2	<0,5	<0,5
	BU_2	310	0,31	2,50	0,25	<0,1	<0,5	1,4	120	3,8	<0,5	<0,5
	BU_3	150	0,15	1,20	0,12	<0,1	<0,5	0,8	69	1,8	<0,5	<0,5
	BU_4	260	0,26	2,10	0,20	<0,1	<0,5	1,1	120	1,5	<0,5	<0,5
	<i>Mittelwert</i>	250	0,24	2,00	0,20	0,20	0,20	1,1	102	2,5		
<i>Median</i>	260	0,26	2,10	0,21	0,21	0,21	1,1	110	2,5			
Hühnerrei	EI_1	22 000	22	1.800	1,8	<0,1	1,7	13	6 200	57	<2	<2
	EI_2	340	0,34	27	0,03	<1	<2	<2	110	<4	<2	<3
	EI_3	170	0,17	13	0,01	<0,1	<0,5	<0,5	42	<2	<0,5	<1
	EI_4	280	0,28	23	0,02	<0,1	0,5	1,4	81	<3	<0,5	<0,5
	<i>Mittelwert</i>	5 700	5,7	470	0,47	0,47	0,47	1,600				
<i>Median</i>	310	0,31	25	0,03	0,03	0,03	1,600	96				
Fleisch	FL_1	230	0,23	11	0,01	1,5	0,8	4,1	36	<3	<0,5	<0,5
	FL_2	500	0,50	100	0,10	0,8	0,9	2,6	160	<2	<0,5	<0,5
	FL_3	130	0,13	24	0,02	1,8	0,9	3,8	61	<2	<0,5	<1
	FL_4	540	0,54	130	0,13	1,0	0,9	2,7	160	<2	<0,5	<0,5
	FL_5	22 000	22	22 000	22	5,1	49	160	14 000	86	<3	<4
	FL_6	1 400	1,4	59	0,06	2,8	13	31	690	<3	<3	<3
<i>Mittelwert</i>	4 100	4,1	3 700	3,72	2,2	11	34	2 500				
<i>Median</i>	520	0,52	80	0,08	0,08	1,6	0,9	160				
Zachtfisch	ZF_1	29 000	29	1 100	1,1	51	55	860	17 000	742	<5	520
	ZF_2	4 200	4,2	210	0,21	16	8,3	140	2 400	126	<2	41
	ZF_3	4 000	4,0	200	0,20	15	120	220	3 000	<10	<7	<9
	ZF_4	1 100	1,1	120	0,12	8,8	39	58	820	<2	<1	<1
	<i>Mittelwert</i>	9 600	10	410	0,41	23	55	320	5 800			
<i>Median</i>	4 100	4,1	210	0,21	16	47	180	2 700				
Wildfisch	WF_1	460 000	460	39 000	39	530	89	11 000	34 000	1 400	<15	<15
	WF_2	370 000	370	48 000	47	300	54	3 700	290 000	450	<10	<10
	WF_3	450 000	450	26 000	26	1 300	62	6 500	330 000	730	<15	<15
	WF_4	630 000	630	500	0,50	470	890	7 000	400 000	3 100	<60	<80
	WF_5	170 000	170	85	0,09	1 500	2 300	8 600	110 000	650	<140	<170
	WF_6	350 000	350	56 000	56	360	76	4 800	270 000	760	<10	<15
	WF_7	370 000	370	18 000	18	450	76	2 400	270 000	860	<15	<15
<i>Mittelwert</i>	400 000	400	27 000	27	700	510	6 300	240 000	1 100			
<i>Median</i>	370 000	370	26 000	26	470	76	6 500	270 000	760			
Futtermittel	FM_1	400	0,40	120	0,12	0,83	6,4	16	200	12	<1	3
	FM_2	14 000	14	2 200	2,2	15	99	520	7 900	420	<3	<4
	FM_3	79	0,079	27	0,03	0,76	0,5	1,6	33	<3	<1	<1

<: kleiner Nachweisgrenze

Tabelle 4.22 (Fortsetzung)

Probenart	Proben-Nr.	BDE 77 pg/g Fett	BDE 85 pg/g Fett	BDE 99 pg/g Fett	BDE 100 pg/g Fett	BDE 119 pg/g Fett	BDE 138 pg/g Fett	BDE 153 pg/g Fett	BDE 154 pg/g Fett	BDE 183 pg/g Fett	BDE 190 pg/g Fett
Kühhmilch	MI_1	<4	<1	51	9,7	<0,5	<0,5	7,2	3,2	3,0	<0,5
	MI_2	<4	<1	42	7,6	<0,5	<0,5	8,2	3,5	3,1	<0,5
	MI_3	<4	1,3	76	11	<0,5	<0,5	12	4,2	2,8	<0,5
	MI_4	<3	1,1	42	7,4	<0,5	<0,5	8,6	2,8	6,6	<1
	Mittelwert			53	8,9			8,9	3,4	3,9	
Median			47	8,6			8,4	3,3	3,0		
Butter	BU_1	<4	1,6	100	11	<0,5	0,7	23	5,5	5,0	<0,5
	BU_2	<4	2,9	120	12	<0,5	<0,5	36	7,5	3,1	<0,5
	BU_3	<3	<0,5	48	8,3	<0,5	<0,5	10	3,4	4,9	<0,5
	BU_4	<4	1,8	96	13	<0,5	<0,5	12	4,8	5,5	<0,5
	Mittelwert			91	11			20	5,3	4,6	
Median			98	12			17	5,1	4,9		
Hühnerrei	EI_1	<10	310	11 000	1 900	<3	88	1 300	550	220	9,7
	EI_2	<20	<4	130	35	<3	<3	31	14	18	<4
	EI_3	<6	<1	68	17	<1	<1	24	7,4	13	<1
	EI_4	<4	2,5	110	28	<0,5	2,1	38	9,1	14	<1
	Mittelwert			2 800	500			350	145	66	
Median			156	31			34	11	16		
Fleisch	FL_1	<4	2,2	70	26	<0,5	1,2	53	5,5	24	1,9
	FL_2	<4	7,2	200	26	<0,5	<0,5	43	15	41	<1
	FL_3	<4	<1	37	7,5	<0,5	<0,5	6,7	3,3	3,7	<0,5
	FL_4	<4	8,0	230	21	<0,5	3,1	49	16	49	<1
	FL_5	<20	630	5 800	420	16	45	580	57	18	<1
	FL_6	<1	5,1	370	160	<2	5,7	79	54	n.b.	n.b.
	Mittelwert			1 100	110			135	25	27	
Median			7,2	26			51	15	24		
Zuchtfisch	ZF_1	<50	16	3 600	3 600	<6	<4	540	1 500	37	<3
	ZF_2	<15	<2	620	510	<2	<1	74	170	19	<1
	ZF_3	<70	<5	17	350	<3	<3	14	220	3,8	<2
	ZF_4	<8	<1	10	110	<0,5	<1	6,0	47	3,3	<0,5
	Mittelwert			1 100	1 100			159	480	16	
Median			320	350			44	200	12		
Wildfisch	WF_1	<50	77	2 300	80 000	<5	<3	11 000	13 000	320	<3
	WF_2	<45	99	1 300	49 000	<4	<3	8 600	16 000	330	<3
	WF_3	<55	120	530	71 000	<4	<3	15 000	19 000	270	<3
	WF_4	<410	<50	81 000	78 000	<35	<30	18 000	30 000	1 800	<30
	WF_5	<950	<120	13 000	18 000	<80	<65	3 700	6 100	1 100	<55
	WF_6	<50	120	1 100	49 000	<4	<2	9 200	15 000	290	<2
	WF_7	<65	130	160	58 000	<4	<3	13 000	21 000	120	<2
Mittelwert			1 09	14 000	58 000		11 000	17 000	600		
Median			120	1 300	58 000		11 000	16 000	320		
Futtermittel	FM_1	<9	3,2	86	37	<0,5	<0,5	12	17	9,2	<1
	FM_2	<25	<3	1 600	1 800	300	<1	250	670	27	5,5
	FM_3	<6	<1	19	6,2	<0,5	<0,5	4,3	3,3	9,7	<2

<: kleiner Nachweisgrenze

Tabelle 4.22 (Fortsetzung)

Probenart	Proben-Nr.	ΣPBDE pg/g FG	ΣPBDE ng/g FG	BDE 15 pg/g FG	BDE 17 pg/g FG	BDE 28 pg/g FG	BDE 47 pg/g FG	BDE 66 pg/g FG	BDE 71 pg/g FG	BDE 75 pg/g FG	BDE 77 pg/g FG
Grünkohl	GK_1	170	0,17	1,1	< 0,1	5,7	81	3,6	< 0,1	< 0,1	< 1
	GK_2	120	0,12	0,8	< 0,5	3,8	55	< 2	< 0,5	2,2	< 3
	GK_3	82	0,08	0,6	< 0,1	3,3	42	< 2	< 0,1	< 0,1	< 1
	GK_4	6 200	6,2	2,9	13	33	1 800	33	< 0,5	< 1	< 4
	GK_5	130	0,13	0,6	< 0,1	4,0	66	2,8	< 0,5	< 0,5	< 2
	GK_6	51	0,05	0,5	< 0,1	1,8	27	< 2	< 0,1	< 0,1	< 0,5
	GK_7	51	0,05	0,3	< 0,1	2,0	27	< 2	< 0,5	< 0,1	< 1
	GK_8	61	0,06	0,5	< 0,1	2,5	33	< 5	< 0,1	< 0,1	< 1
	GK_9	61	0,06	0,6	< 0,5	3,1	33	1,2	< 0,1	< 0,1	< 0,5
	GK_10	73	0,07	0,5	< 0,5	4,0	39	1,4	< 0,1	< 0,1	< 1
	GK_11	110	0,11	0,7	< 0,1	5,2	73	1,8	< 0,1	< 0,1	< 0,5
	GK_12	85	0,08	0,8	< 0,1	3,6	50	1,4	< 0,1	< 0,1	< 0,5
Mittelwert		600	0,60	0,8	6,0	190					
Median		84	0,08	0,6	3,7	46					
Probenart	Bezeichnung	BDE 85 pg/g FG	BDE 99 pg/g FG	BDE 100 pg/g FG	BDE 119 pg/g FG	BDE 138 pg/g FG	BDE 153 pg/g FG	BDE 154 pg/g FG	BDE 183 pg/g FG	BDE 190 pg/g FG	
Grünkohl	GK_1	1,4	47	10	< 0,1	0,4	4,9	4,9	7,3	< 0,5	
	GK_2	1,1	38	6,0	< 0,5	< 0,5	3,6	4,1	3,3	< 2	
	GK_3	0,8	18	4,4	< 0,1	< 0,1	2,8	3,1	5,4	< 0,5	
	GK_4	120	3 200	340	< 0,5	25	340	180	200	< 4	
	GK_5	1,4	34	7,0	< 0,1	0,3	4,0	3,7	5,8	< 1	
	GK_6	0,3	10	2,5	< 0,1	< 0,1	2,0	2,1	3,8	< 0,5	
	GK_7	< 0,1	12	2,9	< 0,1	< 0,2	1,7	2,0	3,4	< 1	
	GK_8	< 0,1	15	3,3	< 0,1	< 0,1	1,5	1,9	3,2	< 0,5	
	GK_9	0,4	14	3,4	< 0,1	0,1	1,5	1,6	2,5	< 0,5	
	GK_10	0,5	16	3,7	< 0,1	< 0,1	1,8	1,8	3,5	< 0,5	
	GK_11	0,5	21	5,8	< 0,1	0,1	1,6	2,0	2,6	< 0,5	
	GK_12	0,6	17	4,1	< 0,1	< 0,1	1,7	1,9	3,3	< 0,5	
Mittelwert		13	290	33	31	17	20				
Median		0,7	18	4	1,9	2,1	3,5				

<: kleiner Nachweisgrenze

Die niedrigsten Gesamt-PBDE-Gehalte hatten Kuhmilch-, Butter-, Hühnereier- sowie Fleisch- bzw. Fettproben von Rind, Schwein, Pferd und Schaf (130 - 1400 pg/g Fett). Mit Ausnahme jeweils einer hochbelasteten Pferdefett- und Hühnereiprobe aus Freilandhaltung (jeweils 22000 pg/g Fett) lagen alle Werte innerhalb einer Größenordnung. Um den Faktor 5 bis 10 höhere Konzentrationen zwischen 1100 und 29000 pg/g Fett konnten in Zuchtfischen nachgewiesen werden. Die mit deutlichem Abstand höchsten Gehalte in fetthaltigen Lebensmitteln wurden in Wildfischen aus Neckar und Rhein gefunden. Die Gehalte lagen mit 170 bis 630 ng/g Fett nochmals um 1 bis 2 Größenordnungen über denjenigen von Zuchtfischen.

Der Fettgehalt dieser Lebensmittel tierischer Herkunft variierte zwischen $< 0,1$ % (Hecht, Zander) und > 80 % (Butter). Die ermittelten Gesamt-PBDE-Gehalte lagen damit zwischen 4 (Kuhmilch) und 56000 pg/g (Wildfisch) bezogen auf das Frischgewicht (FG). Die Gehalte in Butter, Fleisch und Zuchtfisch waren überwiegend innerhalb einer Größenordnung. Die mit Abstand höchsten Gehalte hatten wiederum die Wildfische, mit Ausnahme der sehr fettarmen Hecht- und Zanderproben. Die Grünkohlproben hatten bezogen auf das Frischgewicht zumeist vergleichbare PBDE-Gehalte wie die untersuchten Fleischproben. Eine Grünkohlprobe hatte eine um nahezu zwei Größenordnungen höhere PBDE-Konzentration. Diese Probe war auch hinsichtlich deutlich höherer PCDD/F- und PCB-Gehalte aufgefallen.

Insgesamt lagen die Durchschnittskonzentrationen der untersuchten Lebensmittelproben aus Baden-Württemberg im gleichen Bereich wie in anderen europäischen Ländern. Die Gehalte an Gesamt-PBDE für die fetthaltigen tierischen Lebensmittel außer Fisch waren $\leq 0,25$ ng/g FG und damit vergleichbar mit Werten von $\leq 0,17$ ng/g FG in anderen europäischen Studien (Domingo, 2004).

Aufgrund der wenigen Resultate lässt sich noch keine durchschnittliche Belastung abschätzen, da zum Beispiel bei den Hühnereiern eine von vier untersuchten Proben bedeutend höher belastet war. Die ermittelten Konzentrationen für Zucht- und Wildfische waren mit bis zu 60 ng/g FG ebenfalls in der gleichen Größenordnung wie die anderer europäischer Länder. Mögliche Trends lassen sich daraus für die untersuchten Lebensmittelgruppen aber noch nicht ableiten.

Kongenerenmuster:

Das Kongenerenmuster war in Lebensmitteln von warm- und kaltblütigen Tieren unterschiedlich. BDE 47 war mit Abstand das häufigste Kongener bei Zucht- und Wildfischen mit relativen Anteilen über 57 %. Von den übrigen Kongeneren trugen nur BDE 100 und BDE 99 in einigen Proben wesentlich zur Gesamtbelastung mit 10 bis 20 % bei. Dies deckt sich mit Fisch-Studien in Deutschland und der Schweiz (Lepom et al., 2002; Zennegg et al., 2003). Der relative Anteil von BDE 99 war in anderen tierischen Lebensmitteln deutlich höher als bei Fischen. Bei allen Hühnereiern überstieg der mittlere relative BDE 99-Anteil (42 %) denjenigen von BDE 47 (29 %). Bei Butter und Fleisch lagen beide Kongenere im Durchschnitt im gleichen Bereich. Von allen Lebensmittelgruppen variierten die relativen Anteile der Haupt-Kongenere BDE 47, 99, 100 und 153 bei den Fleischproben am stärksten. In Abbildung 4.17 sind die relativen Anteile der wichtigsten Kongenere in den verschiedenen Lebensmitteln dargestellt.

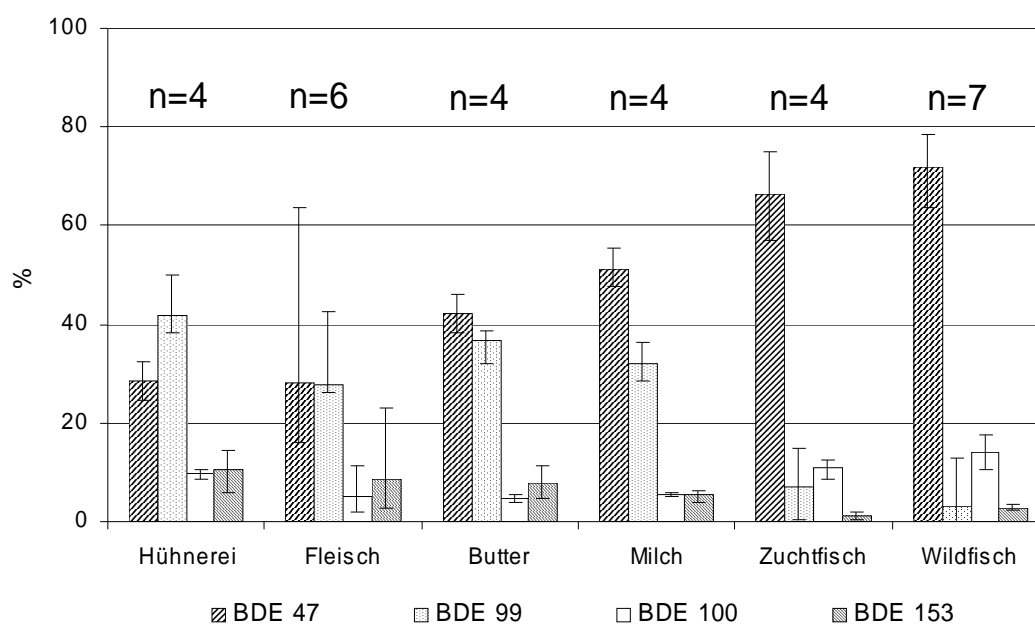


Abbildung 4.17: Mittlerer relativer Anteil der wichtigsten PBDE-Kongenere in den untersuchten Lebensmittelproben. Minima und Maxima sind angegeben.

Bei den Grünkohl-Proben dominierten die beiden Kongenere BDE 47 und 99 mit einem mittleren relativen Anteil von 51 und 26 %. Alle übrigen Kongenere lagen unter 5 %. Eine Ausnahme stellte dabei die um mehr als den Faktor 50 höher belastete Probe GK_4 dar. Hier war das Verhältnis von BDE 47 und 99 mit 29 und 52 % umgekehrt. Das Kongenerenmuster

der Futtermittel lag zwischen demjenigen von Fischen und den anderen tierischen Lebensmitteln. Milchaustauscher als Futtermittel war vom Muster her mit den Kuhmilchproben vergleichbar.

4.4.2 Vergleich der PBDE-Gehalte mit denen von Indikator-PCB

PCB werden wie PBDE größtenteils über fetthaltige tierische Lebensmittel vom Menschen aufgenommen und haben ein sehr hohes Bioakkumulationspotential. Deshalb wurde die Summe der sechs Indikator-PCB (PCB # 28, 52, 101, 138, 153 und 180) mit dem PBDE-Totalgehalt verglichen. Die Indikator-PCB tragen bei tierischen Lebensmitteln etwa Zweidrittel zur PCB-Gesamtsumme bei. Der PBDE-Gehalt korrelierte mit der PCB-Belastung im hohen Konzentrationsbereich bis ca. 100 ng/g FG für PBDE (siehe Abbildung 4.18). Es waren aber auch größere Variationen zu beobachten.

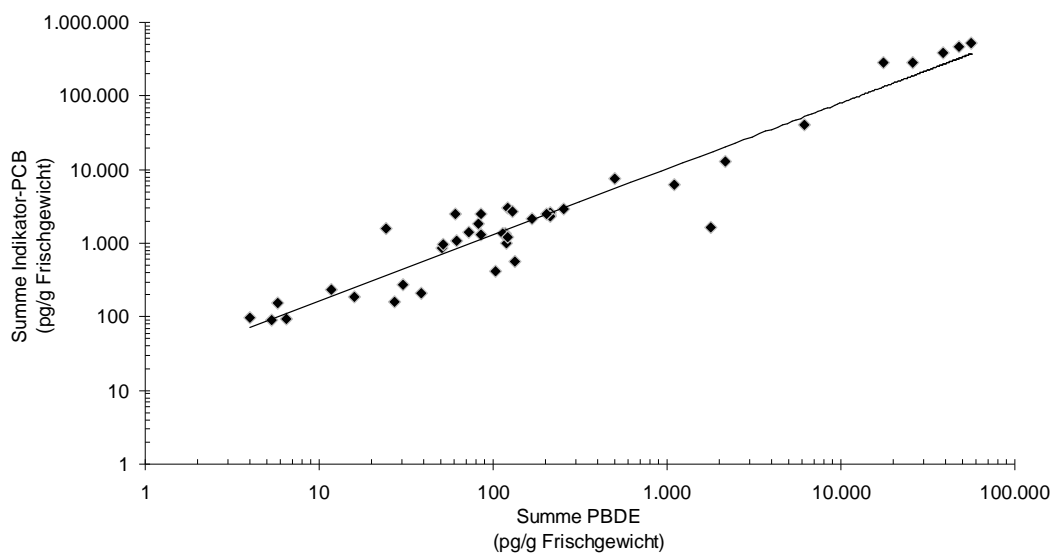


Abbildung 4.18: Vergleich der PBDE-Summenkonzentration mit der Summenbelastung von sechs Indikator-PCB (# 28, 52, 101, 138, 153, 180) in Lebensmitteln

Im Konzentrationsbereich < 300 pg/g FG der PBDE und < 3000 pg/g FG der Indikator-PCB ließ sich ein Zusammenhang nicht mehr erkennen (Abbildung 4.19). In diesem Konzentrationsbereich lagen mit Ausnahme der Wildfische die meisten der untersuchten Lebensmittelproben.

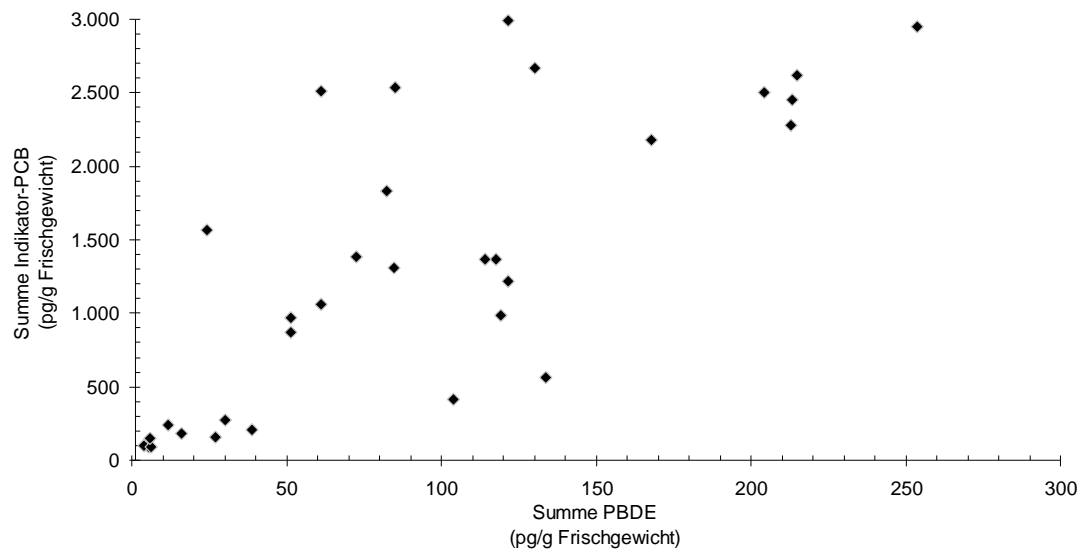


Abbildung 4.19: Vergleich der PBDE-Summenkonzentration mit der Summenbelastung von 6 Indikator-PCB (# 28, 52, 101, 138, 153, 180) in Lebensmitteln im Konzentrationsbereich < 300 pg/g Fett für die PBDE-Summenkonzentration

Wie Tabelle 4.23 zeigt, waren die Gehalte der Indikator-PCB in allen untersuchten Proben mindestens viermal und im Mittel etwa 10 - 25mal höher als die PBDE-Konzentrationen mit Ausnahme der Hühnereiprobe EI_1. Hier lag der Gehalt an PBDE knapp über demjenigen der Indikator-PCB.

Tabelle 4.23: Vergleich der Konzentrationen und des Konzentrationsverhältnisses der Summe der PBDE und sechs Indikator-PCB (# 28, 52, 101, 138, 153, 180) in Lebensmitteln (pg/g Frischgewicht (FG)). Das Verhältnis aus PCB und PBDE errechnet sich jeweils aus den Einzelergebnissen.

Lebensmittel		Σ PBDE pg/g FG	Indikator-PCB pg/g FG	Verhältnis PCB / PBDE
Kuhmilch	Mittelwert	5,0	110	23
	Minimum	4,0	91	15
	Maximum	6,4	150	36
Butter	Mittelwert	200	2 800	15
	Minimum	120	2 500	11
	Maximum	250	3 000	25
Hühnerei	Mittelwert	470	580	9
	Minimum	13	190	0,9
	Maximum	1 800	1 700	15
Fleisch	Mittelwert	65	690	24
	Minimum	11	240	4
	Maximum	130	1 600	65
Zuchtfisch	Mittelwert	410	3 100	10
	Minimum	120	1 400	6
	Maximum	1 100	6 200	12
Wildfisch	Mittelwert	27 000	280 000	14
	Minimum	85	2 500	9
	Maximum	56 000	520 000	30
Grünkohl	Mittelwert	600	4 900	18
	Minimum	51	870	7
	Maximum	6 200	41 000	41

4.4.3 Abschätzung der täglichen PBDE-Aufnahme aus Lebensmitteln

Den Hauptbeitrag zur täglichen Aufnahme von PBDE beim Menschen liefern neben Fleisch- und Milchprodukten insbesondere Fische aufgrund der hohen PBDE-Gehalte. Aus den ermittelten Daten für verschiedene Lebensmittel und der Warenkorbzusammensetzung (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2004) lässt sich die Aufnahme abschätzen. Bei der Umrechnung der mittleren Gehalte der Lebensmittel (ohne Berücksichtigung der Maximalwerte) ergab sich eine Aufnahme von 39 ng Gesamt-PBDE / Tag. Den größten Anteil tragen Fleisch/Fleischprodukte mit 48 % und Fisch (hier wurden nur die Zuchtfische berücksichtigt) mit 39 % dazu bei. Die abgeschätzten Belastungen lagen in einem vergleichbaren Bereich wie diejenigen anderer Studien (Domingo, 2004). Berücksichtigt man auch Wildfische bei der Berechnung, lag die Gesamtaufnahme an PBDE um bis zu einer

Größenordnung höher. Die hier ermittelten Werte lagen immer noch etwa vier bis fünf Größenordnungen unter dem von Darnerud et al. (2001) vorgeschlagenen LOAEL-Wert von 1 mg/kg/Tag. Aufgrund der geringen Datenbasis konnte aus den berechneten Daten aber kein Rückschluss auf die Gesamtbelastung über Lebensmittel gezogen werden.

4.4.4 PBDD/F und PXDD/F

2,3,7,8-substituierte PBDD/F, TeXDD/F (tetrasubstituierte PXDD/F) und PeXDD/F (pentasubstituierte PXDD/F) waren in keiner der untersuchten Lebensmittel- und Futtermittelproben nachweisbar. Die Nachweisgrenzen für PBDD/F lagen zwischen 0,01 pg/g Fett für tetrasubstituierte und maximal 100 pg/g Fett für octasubstituierte Kongenere. PXDD/F waren mit einer Nachweisgrenze von 0,03 pg/g Fett ebenfalls nicht detektierbar. Selbst in den mit PBDE sehr hoch belasteten Wildfischen aus Neckar und Rhein (170 - 460 ng/g Fett) waren PBDD/F nicht nachweisbar. Da 2,3,7,8-substituierte Kongenere nicht vorhanden waren, war die Berechnung des „WHO-PBDD/F-TEQ“ bzw. des „WHO-PXDD/F-TEQ“ sowie der Vergleich mit dem WHO-PCDD/F-TEQ für Lebensmittelproben nicht sinnvoll. In vielen Fällen hätte der „upper-bound-PBDD/F-TEQ“ als Summe der Nachweisgrenzen über dem PCDD/F-TEQ gelegen. Der Grund hierfür ist, daß die Nachweisgrenzen der chlorierten Kongenere um circa den Faktor 10 unter denjenigen der bromierten Homologen liegen.

4.5 Proben aus Guiyu (China)

4.5.1 PBDE

Humanmilch:

Die PBDE-Konzentration der Humanmilchprobe aus Guiyu betrug 51 ng/g Fett. Die Ergebnisse für die Einzelkongenere sowie deren relativer Anteil sind in Tabelle 4.24 zusammengefasst. Im Vergleich dazu war der PBDE-Gehalt der Humanmilch aus dem benachbarten Hong Kong mit 4 ng/g Fett deutlich niedriger belastet. Auch im Vergleich mit weiteren Proben der WHO-Studie war die Humanmilch deutlich höher belastet, betrug aber nur ungefähr die Hälfte des Durchschnitts der USA.

Tabelle 4.24: Konzentrationen und relative Anteile von PBDE-Kongeneren sowie deren Summe in Humanmilch- und Hühnereiprobe aus Guiyu

	Humanmilch		Hühnerei			
	HM_Guiyu		EI_Guiyu_1		EI_Guiyu_2	
	pg/g Fett	(%)	pg/g Fett	(%)	pg/g Fett	(%)
BDE 15	2 300	4,5	28	3,9	20	1,7
BDE 17	160	0,3	< 1		1,3	0,1
BDE 28	9 500	19	14	2,0	8,2	0,7
BDE 47	28 000	55	140	20	47	3,9
BDE 66	1 100	2,2	5,5	0,8	2	0,2
BDE 71	< 3		< 1		< 0,5	
BDE 75	440	0,9	< 1		< 0,5	
BDE 77	260	0,5	< 5		< 3	
BDE 85	69	0,1	3,9	0,5	2,2	0,2
BDE 99	880	1,7	130	18	60	5,0
BDE 100	2 100	4,1	39	5,5	27	2,3
BDE 119	< 3		< 1		< 0,5	
BDE 138	43	0,1	16	2,3	29	2,4
BDE 153	3 500	6,9	120	17	270	23
BDE 154	1 000	2,0	38	5,4	67	5,6
BDE 183	1 100	2,2	150	21	620	52
BDE 190	180	0,4	24	3,4	42	3,5
Σ PBDE	51 000		710		1 200	

Die Hauptkongenere in der Humanmilch waren BDE 47 mit einem Anteil von 55 %, gefolgt von BDE 28 mit 18 %. BDE 15, mit einem Anteil von 4,5 %, war nach BDE 153 (7 %) das vierthäufigste Kongener. Die drei di-, tri- und tetrabromierten Kongenere machten einen Anteil von mehr als 78 % am Gesamt-PBDE-Gehalt der Probe aus. Die in den Humanmilchproben der WHO-Feldstudie als Hauptkongenere auftretenden BDE # 99, 100 und 153 trugen lediglich ca. 13 % bei.

Hühnereier:

Die PBDE-Gehalte der beiden Hühnereiprobe aus Guiyu lagen bei 0,71 und 1,2 ng/g Fett (siehe Tabelle 4.24). Diese waren in der gleichen Größenordnung wie die niedrig belasteten Hühnereiprobe aus Baden-Württemberg (0,17 - 0,34 pg/g Fett) und eine Größenordnung niedriger als eine höher belastete Probe (22 ng/g Fett). Das Kongenerenmuster der beiden Proben variierte stark. Hexa- und heptabromierte Kongenere machten einen Anteil zwischen 49 % (EI_Guiyu_2) und 87 % (EI_Guiyu_2) aus. In den Eiprobe aus Baden-Württemberg lag der Anteil dieser Kongenere deutlich niedriger (10 - 26 %).

4.5.2 PBDD/F und PXDD/F

Humanmilch:

In der Humanmilchprobe konnten hauptsächlich tetra- und pentasubstituierte PBDF nachgewiesen werden (siehe Tabelle 4.25). 2,3,7,8-TBDF und 2,3,4,7,8-PeBDF-Kongenerere kamen in ähnlichen Konzentrationen vor (3 und 4,5 pg/g Fett). Derart hohe Gehalte an 2,3,7,8-TBDF und 2,3,4,7,8-PeBDF konnten in keiner der bislang untersuchten Humanmilchproben der WHO-Studie nachgewiesen werden. Den größten Anteil am „WHO-PBDD/F-TEQ“ hatte aufgrund des deutlich größeren TEF (0,1 für 2,3,7,8-TBDF und 0,5 für 2,3,4,7,8-PeBDF) 2,3,4,7,8-PeBDF. Der Anteil dieses Kongeners lag zwischen 60 % („lower-bound“-TEQ) und 70 % („upper-bound“-TEQ). Tetra- und pentasubstituierte PXDD/F waren nicht nachweisbar.

Tabelle 4.25: Konzentrationen der PBDD/F-Kongenerere in Hühnerei- und Humanmilchproben aus Guiyu

	Humanmilch	Hühnerei	
	HM_Guiyu pg/g Fett	HM_Guiyu_1 pg/g Fett	HM_Guiyu_2 pg/g Fett
2,3,7,8-TBDD	0,29	< 0,01	< 0,01
1,2,3,7,8-PeBDD	< 0,1	< 0,1	< 0,05
1,2,3,4,7,8- / 1,2,3,6,7,8-HxBDD	< 0,5	< 0,2	< 0,2
1,2,3,7,8,9-HxBDD	< 0,3	< 0,1	< 0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpBDD	< 0,7	< 0,3	< 0,1
OBDD	< 1,3	< 0,7	< 0,4
2,3,7,8-TBDF	3,6	1,0	1,7
1,2,3,7,8-PeBDF	2,0	< 0,1	0,11
2,3,4,7,8-PeBDF	4,5	0,88	1,3
1,2,3,4,7,8 / 1,2,3,6,7,8-HxBDF	3,0	< 0,9	< 0,3
1,2,3,7,8,9-HxBDF	< 1,1	< 0,5	< 0,2
2,3,4,6,7,8-HxBDF	< 1,1	< 0,5	< 0,2
1,2,3,4,6,7,8-HpBDF*	n.a.	n.a.	n.a.
1,2,3,4,7,8,9-HpBDF	< 0,7	< 0,3	< 0,1
OBDF	< 30	< 8	< 3

* aufgrund zu hoher Blindwerte nicht auswertbar (n.a.)

Hühnereier:

In beiden Hühnereiprüfungen konnten ausschließlich tetra- und pentabromierte Dibenzofurane nachgewiesen werden (siehe Tabelle 4.25). Die Konzentrationen der beiden Hauptkongenerere 2,3,7,8-TBDF und 2,3,4,7,8-PeBDF lagen zwischen 0,88 und 1,7 pg/g Fett. Der Anteil von

2,3,4,7,8-PeBDF am „WHO-PBDD/F-TEQ“ lag bei 49 und 68 % („upper-bound-TEQ“) bzw. 82 und 79 % („lower-bound-TEQ“). Tetra- und pentasubstituierte PXDD/F konnten in den beiden Hühnereiprobe aus Guiyu ebenfalls nicht nachgewiesen werden.

4.5.3 Gesamt-Dioxin-TEQ und Vergleich mit PBDE

Der Anteil des „WHO-PBDD/F-TEQ“ am „Gesamt-Dioxin-TEQ“ (Summe aus WHO-PCDD/F-TEQ und „WHO-PBDD/F-TEQ“) lag in den beiden Hühnereiprobe und der Humanmilch zwischen 21 und 69 % („upper-bound“-TEQ) beziehungsweise 19 und 67 % („lower-bound“-TEQ). In Tabelle 4.26 sind die Ergebnisse zusammengefasst. Bei Hühnereiprobe HM_Guiyu_2 lag der „PBDD/F-TEQ“ mit und ohne Einbeziehung der Nachweisgrenze um mehr als den Faktor zwei über dem WHO-PCDD/F-TEQ. Im Gegensatz zu den PCDD/F, wo nahezu alle siebzehn 2,3,7,8-substituierten Kongenere nachgewiesen werden konnten, waren größtenteils nur 2,3,7,8-TBDF und 2,3,4,7,8-PeBDF detektierbar.

Tabelle 4.26: Vergleich von WHO-PCDD/F-TEQ und „WHO-PBDD/F-TEQ“ jeweils auf upper-bound- (mit voller Nachweisgrenze) und lower-bound-Niveau (ohne Nachweisgrenze) in pg/g Fett und Anteil am „Gesamt-Dioxin-TEQ“ (Summe aus WHO-PCDD/F-TEQ und „WHO-PBDD/F-TEQ“) in Klammern (%)

	Humanmilch		Hühnerei			
	HM_Guiyu		EI_Guiyu_1		EI_Guiyu_2	
	pg/g Fett	(%)	pg/g Fett	(%)	pg/g Fett	(%)
WHO-PCDD/F-TEQ						
upper-bound	14,1	(79)	0,86	(49)	0,43	(31)
lower-bound	14,1	(81)	0,85	(61)	0,40	(33)
"WHO-PBDD/F-TEQ"						
upper-bound	3,8	(21)	0,89	(51)	0,96	(69)
lower-bound	3,3	(19)	0,54	(39)	0,82	(67)
"Gesamt-Dioxin-TEQ"						
upper-bound	17,9		1,8		1,4	
lower-bound	17,4		1,4		1,2	

Das im Vergleich zu den untersuchten Humanmilch- (WHO-Studie) und Hühnereiprobe (Baden-Württemberg) deutlich unterschiedliche PBDE-Kongenerenmuster lässt auf eine spezielle PBDE-Quelle schließen. Aufgrund der geringen Datenbasis konnte keine Aussage über eine mögliche Korrelation zwischen PBDE und PBDD/F gemacht werden. Die beiden Hühnereiprobe aus Guiyu waren die einzigen untersuchten Lebensmittelproben, in denen 2,3,7,8-substituierte PBDD/F nachgewiesen werden konnten. Aufgrund der geringen

Probenzahl ist eine abschließende Bewertung möglicher Zusammenhänge nur nach Untersuchung von zusätzlichem Probenmaterial möglich.

5 Ausblick

Die Blindwerte für DecaBDE waren für die Bestimmung der mit DecaBDE sehr niedrig belasteten Lebensmittel- oder Humanmilchproben zum Teil deutlich zu hoch und schwankten sehr stark. Ein Ansatz zur Verbesserung der Blindwerte liegt hier, wie von Pöpke et al. (2004) vorgeschlagen, im vollständigen Verzicht von Rotationsverdampfern und Kunststoffteilen bei der Aufarbeitung. Dazu wurde bereits ein TurboVap-System zur kontaminationsfreien Konzentrierung von Lösungen beschafft.

Die weitere Absenkung der Nachweisgrenzen unter 200 pg/g Fett für DecaBDE ist durch Veränderung der Injektions- und Trennbedingungen bei der Gaschromatographie möglich. Zersetzungen im Injektor können mit Hilfe eines „on-column“-Injektors anstatt des verwendeten Splitlos-Injektors reduziert werden. Zusätzlich kann auch die Verwendung sehr kurzer Trennsäulen für DecaBDE die thermische Belastung auf der Kapillarsäule verringern. Die eingesetzte 15-m-Säule für die Trennung aller verfügbaren PBDE stellte einen Kompromiss zwischen längeren Säulen für die Trennung der niedriger bromierter BDE und sehr kurzen (5 m) für die Bestimmung von DecaBDE dar, um alle Kongenere in einem Lauf bestimmen zu können.

PBDE konnten von den PCB in der Probenaufarbeitung nicht abgetrennt werden. Dadurch kam es zwischen TetraBDE und HeptaCB zu chromatographischen Überlagerungen. Insbesondere bei deutlich höheren Konzentrationen der kritischen PCB-Kongenere war die Quantifizierung der jeweiligen PBDE-Kongenere nicht mehr möglich. Diese Interferenzen können neben der Verwendung von Kapillarsäulen mit stationären Phasen anderer Polarität vor allem durch die Abtrennung der PCB von den PBDE bei der Probenaufarbeitung, wie von Liu et al. (2005) beschrieben, vermieden werden.

Weitere Untersuchungen zur Ermittlung der durchschnittlichen PBDE-Belastung verschiedener Lebensmittel in Baden-Württemberg und der zeitlichen Entwicklung der Gehalte in Abhängigkeit vom Einsatz der technischen Flammschutzmittel sind notwendig. Bei den Hühner-, Fleisch- und Grünkohlproben wurden sehr unterschiedliche Konzentrationen festgestellt. Hier wären weitere Daten über Quellen und Aufnahmewege interessant.

Aufgrund der hohen Blindwerte konnten noch keine Daten über die Belastung von Lebensmittel oder Humanmilch mit DecaBDE ermittelt werden. Für dieses Kongener wird derzeit noch aufgrund des hohen Molekulargewichts die grundsätzliche Möglichkeit der Aufnahme und Bioakkumulation in der Nahrungskette diskutiert. Bislang wurde DecaBDE in einigen Lebensmittelproben als mengenmäßig wichtigstes Kongener gefunden (Schechter et al, 2004).

Um die toxikologische Relevanz der PBDD/F im Vergleich mit den PCDD/F besser bewerten zu können, sind Daten zur relativen Toxizität der Kongenere bzgl. 2,3,7,8-TCDD notwendig. Bei PBDD/F können auch nicht-2,3,7,8-substituierte Kongenere wie 2,3,7-TrBDD aufgrund der deutlich größeren Bromsubstituenten ein größeres toxikologisches Potential aufweisen als ihre chlorierten Homologen (Birnbaum et al., 2003).

Die Nachweisgrenzen für die bromierten und gemischt-halogenierten Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane waren bei der Untersuchung von Humanmilch zumeist ausreichend. Für die zum Teil deutlich niedriger belasteten Lebensmittelproben wäre aber eine deutliche Absenkung der Nachweisgrenzen um mindestens den Faktor 10 notwendig gewesen, um einen Vergleich mit den rein chlorierten Dibenzo-p-dioxinen und Dibenzofuranen anstellen zu können. Deutliche höher Probeneinwaagen sind hier ein mögliche Option. Eine weitere Untersuchung von biologischen Proben auf PBDD/F und PXDD/F erscheint anhand der vorgestellten Daten nur für höher belastete Humanmilch- oder Lebensmittelproben sinnvoll.

6 Literatur

Ahrens, A., Weiß, M., 2003. Leitfaden zur Anwendung umweltverträglicher Stoffe, Teil 5.2 Flammenschutzmittel, Förderkennzeichen 201 28 213, Umweltbundesamt, Berlin

Akutsu, K., Kitagawa, M., Nakazawa, H., Makino, T., Iwazaki, K., Oda, H., Hori, S., 2003. Time-trend (1973-2000) of polybrominated diphenyl ethers in Japanese mother's milk. *Chemosphere* 53, 645-654

Alaee, M., Arias, P., Sjödin, A., Bergman, A., 2003. An overview of commercially used brominated flame retardants, their applications, their use patterns in different countries/regions and possible modes of release. *Environ Int* 29, 683-689

Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG, 1997. Nr. L 00.00 - 38/1 bis 38/4. Berlin, Wien, Zürich: Beuth Verlag. ISBN 3-410-11220-0

Appel, K., 1991. Polybromierte Dibenzodioxine und Dibenzofurane - Toxikologische Beurteilung. In: Bundesgesundheitsblatt 34. Jahrgang. Köln, Berlin: Carl Heymanns Verlag. ISBN 3-452-21971-2

Alaee, M., Wenning R., 2002. The significance of brominated flame retardants in the environment: current understanding, issues and challenges. *Chemosphere* 46, 579-582

Ashizuka, Y., Nakagawa, R., Tobiishi, K., Hori, T., Iida, T., 2005. Determination of polybrominated diphenyl ethers and polybrominated dibenzo-p-dioxins/dibenzofurans in marine products. *J Agric Food Chem* 53, 3807-3813

Ballschmiter, K., Bacher, R., 1996. Dioxine: Chemie, Analytik, Vorkommen, Umweltverhalten und Toxikologie der halogenierten Dibenzop-dioxine und Dibenzofurane. Weinheim, New York: VCH Verlagsgesellschaft. ISBN 3-527-28768-X

Ballschmiter, K., Zell, M., 1980. Analysis of polychlorinated biphenyls (PCB) by glass capillary gas chromatography. *Fresenius Z Anal Chem* 302, 20-31

Barontini, F., Cozzani, V., Cuzzola, A., Petarca, L., 2001. Investigation of hexabromocyclododecane thermal degradation pathways by gas chromatography/mass spectrometry. *Rapi Commun Mass Sp* 15, 690-698

Becher, G., 2005. The stereochemistry of 1,2,5,6,9,10-hexabromocyclododecane and its graphic representation. *Chemosphere* 58, 989-991

Behnisch, P., Hosoe, K., Sakai, S., 2001. Bioanalytical screening methods for dioxins and dioxin-like compounds - a review of bioassay/biomarker technology. *Environ Int* 27, 413-439

Betts, K., 2003. Why do PBDE levels vary so widely? *Environ Sci Technol* 37, 164-165

Birnbaum, L., Staskal, D., 2004. Brominated flame retardants: Cause for concern? *Environ Health Persp* 112, 9-17

Birnbaum, L., Staskal, D., Diliberto, J., 2003. Health effects of polybrominated dibenzo-p-dioxins (PBDDs) and dibenzofurans (PBDFs). *Environ Int* 29, 855-860

Bocio, A., Llobet, J., Domingo, J., Corbella, J., Teixido, A., Casas, A., 2003. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in foodstuff: human exposure through the diet. *J Agric Food Chem* 51, 3191-3195

Braekevelt, E., Tittlemier, S., Tomy, G., 2003. Direct measurement of octanol-water partition coefficients of some environmentally relevant brominated diphenyl ether congeners. *Chemosphere* 51, 563-567

Brown, D., Chu, M., van Overmeire, I., Chu, A., Clark, G., 2001. Determination of REP values for the CALUX bioassay and comparison to the WHO TEF values. *Organohalogen Compd* 53, 211-214

Brown, D., van Overmeire, I., Goeyens, L., Denison, M., de Vito, M., Clark, G., 2004. Analysis of Ah receptor pathway activation by brominated flame retardants. *Chemosphere* 55, 1509-1518

Chatkittikunwong, W., Creaser, C., 1994. Bromo-, bromochloro- and chloro-dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in incinerator flyash. *Chemosphere* 1994, 559-566

Choi, J.-W., Fujimaki, S., Kitamura, K., Hashimoto, S., Ito, H., Suzuki, H., Noriyuki, S., Sakai, S., Morita, M., 2003a. Polybrominated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and diphenyl ethers in Japanese human adipose tissue. *Environ Sci Technol* 37, 817-821

Choi, J.-W., Onodera, J., Kitamura, K., Hashimoto, S., Ito, H., Suzuki, N., Sakai, S.-S., Morita, M., 2003b. Modified clean-up for PBDD, PBDF and PBDE with an active carbon column - ist application to sediments. *Chemosphere* 53, 637-643

Covaci, A., Voorspoels, S., de Boer, J., 2003. Determination of brominated flame retardants, with emphasis on polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in environmental samples - a review. *Environ Int* 29, 735-756

Cramer, P., Ayling, R., Thornburg, K., Stanley, J., Remmers, J., Breen, J., Schwemberger, J., 1990. Evaluation of an analytical method for the determination of polybrominated dibenzo-p-dioxins/dibenzofurans (PBDD/PBDF) in human adipose tissue. *Chemosphere* 20, 821-827

Darnerud, P., Eriksen, G., Johannesson, T., Larsen P., Viluksela M., 2001. Polybrominated diphenyl ethers: occurrence, dietary exposure and toxicology. *Environ Health Persp* 109, 49-68

De Boer, J., Allchin, C., Law, R., Zegers, B., Boon, J., 2001. Method for the analysis of polybrominated diphenylethers in sediments and biota. *Trends Anal Chem* 20, 591-599

De Boer, J., de Boer, K., Boon, J., 2000. Polybrominated biphenyls and diphenylethers. In: *The Handbook of Environmental Chemistry*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. ISBN 3-540-65338-6

De Jong, A., van der Heeft, E., Marsman, J., Liem, A., 1992. Investigation on occurrence of polyhalogenated (Br/Cl) dibenzodioxins and dibenzofurans in cow's milk and fish tissue. *Chemosphere* 25, 1551-1557

De Wit, C., 2002. An overview of brominated flame retardants in the environment. *Chemosphere* 46, 583-624

Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V., 2004. Ernährungsbericht 2004. Bonn. ISBN 3-88749-183-1

Domingo, J., 2004. Human exposure to polybrominated diphenyl ethers through the diet. *J Chromatogr A* 1054, 321-326

Donnelly, J., Munslow, W., Grange, A., Pettit, T., Simmons, R., Kumar, K., 1991. A gas chromatographic/mass spectrometric approach for isomer-specific environmental monitoring of the 1700 bromo-, chloro-, and bromochloro-dibenzo-p-dioxins. *Biol Mass Spectrom* 20, 329-337

Donnelly, J., Munslow, W., Vonnahme, T., Nunn, N., Hedin, C., Sovocool, G., Mitchum, R., 1987. The chemistry and mass spectrometry of brominated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans. *Biomed Environ Mass* 14, 465-472

Ebert, J., Bahadir, M., 2003. Formation of PBDD/F from flame retarded plastic materials under thermal stress. *Environ Int* 29, 711-716

Ebert, J., Lorenz, W., Bahadir, M., 1999. Optimization of the analytical performance of polybrominated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PBDD/F). *Chemosphere* 39, 977-986

Eljarrat, E., de la Cal, A., Barceló, D., 2003. Potential chlorinated and brominated interferences on the polybrominated diphenyl ether determinations by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr A* 1008, 169-181

Entscheidung 2455/2001/EG des europäischen Parlaments und des Rates vom 20. November 2001 zur Festlegung der Liste prioritärer Stoffe im Bereich der Wasserpolitik und zur Änderung der Richtlinie 2000/60/EG, Amtsblatt Nr. L 331 vom 15/12/2001 S. 1-5

Eriksson, J., Jakobsson, E., Marsh, G., Berman, A., 2001. Photo decomposition of brominated diphenylethers in methanol/water, Proceedings of BFR 2001, Stockholm, Sweden, 2001, 77-80

Gerecke, A., Kohler, M., Zennegg, M., Schmid, P., Heeb, N., 2003. Detection of α -isomer dominated HBCD (hexabromocyclodecane) in Swiss fish at levels comparable to PBDEs (polybrominated diphenyl ethers). *Organohalogen Compd* 61, 155-158

Gerecke, A., Schmid, P., Heeb, N., Zennegg, M., Hartmann, P., Kohler, P., Kohler, M., 2004. Formation of lower brominated congeners by anaerobic degradation of decbromodiphenyl ether in sewage sludge. Proceedings of BFR 2004, Toronto, Canada, 2004, 235-238

Hagberg, J., van Bavel, B., Löthgren, C.-J., Lindström, G., 2005b. Occurrence and levels of PCDD/Fs and PBDD/Fs in fly ash from two different incinerators at a hazardous waste treatment plant. *Organohalogen Compd* 67, 2200-2203

Haglund, P., Lindkvist, K., Malmvärn, A., Wiberg, K., Bignert, A., Nakano, T., Asplund, L., 2005. High levels of biogenic dibromo and tribromo dibenzo-p-dioxins in Swedish fish. *Organohalogen Compd* 67, 1267-1270

Harden, F., Toms, L.-M., Moore, M., Symons, R., Ahokas, J., Burniston, D., Fürst, P., Müller, J., 2005. Polybrominated diphenyl ethers in human milk from Australia. *Organohalogen Compd*, 662-666

Hardy, M., 2002. A comparison of the properties of the major commercial PBDPO/PBDE product to those of major PBB and PCB products. *Chemosphere* 46, 717-728

Harrad, S., Wijesekera, R., Hunter, S., Halliwell, C., Baker, R., 2004. Preliminary assessment of U.K. human dietary and inhalation exposure to polybrominated diphenyl ethers. *Environ Sci Technol* 38, 2345-2350

Haug, L.S., Becher, G., 2004. Interlaboratory comparison on dioxins in food 2004: Fifth round of an international study. Norwegian institute of public health, P.O. Box 4404 Nydalen, NO-0403 Oslo, Norway. ISBN 82-8082-100-7

Haug, L.S., Becher, G., 2005. Interlaboratory comparison on dioxins in food 2005: Sixth round of an international study. Norwegian institute of public health, P.O. Box 4404 Nydalen, NO-0403 Oslo, Norway. ISBN 82-8082-145-7

Hindersinn, R., 1990. Historical aspects of polymer fire retardance. In *Fire and Polymers, Hazard Identification and Prevention*, edited by G. L. Nelson. New York: American Chemical Society Symposium Series No. 425, Washington D.C., ISBN13: 978-0-8412-1779-9

Huang, L., Paiva, A., Tong, H., Monson, S., Gross, M., 1992. Application of gas chromatography high-resolution mass spectrometry to the determination of trace monobromopolychlorodibenzo-p-dioxins in environmental samples. *J Am Soc Mass Spectr* 3, 248-259

Huwe, J., Larsen, G., 2005. Polychlorinated dioxins, furans, and biphenyls, and polybrominated diphenyl ethers in a U.S. meat market basket and estimates of dietary intake. *Environ Sci Technol* 39, 5606-5611

Janak, K., Covaci, A., Voorspoels, S., Becher, G., 2005. Hexabromocyclododecane in marine species from the western scheldt estuary: diastereoisomer- and enantiomer-specific accumulation. *Environ Sci Technol* 39, 1987-1994

Kiviranta, H., Ovaskainen, M.-L., Vertiainen, T., 2004. Market basket study on dietary intake of PCDD/Fs, PCBs, and PBDEs in Finland. *Environ Int* 30, 923-932

Korytar, P., Covaci, A., de Boer, J., Gelbin, A., Brinkmann, U., 2005. Retention-time database of 126 polybrominated diphenyl ether congeners and two bromkal technical mixtures on seven capillary gas chromatographic columns. *J Chromatogr A* 1065, 239-249

Krumwiede, D., Münster, D., Griep-Raming, J., 2004. Optimization of parameters for the analysis of the decabrominated diphenylether using PTV and split/splitless injectors and the consecutive setup of a dual column analysis method. *Organohalogen Compd* 2004, 189-192

Law, J., Kohler, M., Heeb, N., Gerecke, A., Schmid, P., Voorspoels, S., Covaci, A., Becher, G., Janak, K., Thomsen, C., 2005. Hexabromocyclododecane challenges scientists and regulators. *Environ Sci Technol* 38, 281A-287A

Lenoir, D., Schramm, K.-W., Hutzinger, O., Schedel, G., 1991. Photochemical degradation of brominated dibenzo-p-dioxins and -furans in organic solvents. *Chemosphere* 22, 821-834

Lepom, P., Karasyova, T., Sawal, G., 2002. Occurrence of polybrominated diphenyl ethers in freshwater fish from Germany. *Organohalogen Compd.* 58, 209-212

Lind, Y., Darnerud, P., Atuma, S., Aune, M., Becker, W., Bjerselius R., Cnattinigijs, S., Glynn, A., 2003. Polybrominated diphenyl ethers in breast milk from Uppsala county, Sweden. *Environ Res* 93, 186-194

Lindberg, P., Sellström, U., Häggberg, L., de Wit, C., 2004. Higher brominated diphenyl ethers and hexabromocyclododecane found in eggs of peregrine falcons (*Falco peregrinus*) breeding in Sweden. *Environ Sci Technol* 38, 93-96

Liu, H., Zhang, Q., Cai, Z., Jiang, G., 2005. Separation of PBDEs, PCBs and dioxins in process of cleanup. *Organohalogen Compd* 67, 254-257

Lopez, D., Athanasadou, M., Athanassiadis, I., Estrada, L., Diaz-Barriga, F., Bergman, A., 2005. A preliminary study on PBDEs and HBCDD in blood and milk from Mexican women. *Organohalogen Compd* 67, 483-487

Malisch, R., Bruns-Weller, E., Knoll, A., Thoma, H., Peichl, L., 1997. Results of a quality control study of different analytical methods for determination of PCDD/PCDF in kale samples. *Organohalogen Compd* 31, 83-88

Malisch, R., Fraise, D., Abad, E., Rivera, J., 2003. Results of a quality control study for determination of PCDD/F and dioxin-like PCBs in food and feed samples. *Organohalogen Compd.* 60, 114-117

Malisch, R., van Leeuwen, FXR., 2002. Third round of WHO-coordinated exposure study: Analysis of PCDDs, PCDFs and PCBs in human milk. *Organohalogen Compd.* 56, 317-320.

Malmvärn, A., Zebühr, Y., Jensen, S., Kautsky, L., Greyerz, E., Nakano, T., Asplund, L., 2005. Identification of polybrominated dibenzo-p-dioxins in blue mussels (*mytilus edulis*) from the baltic sea. *Environ Sci Technol* 39, 2005

Marsh, G., Hu, J., Jakobsson, E., Rahm, S., Bergman, A., 1999. Synthesis and characterization of 32 polybrominated diphenyl ethers. *Environ Sci Technol* 33, 3033-3037

Meironyte, D., Noren, K., Bergman, A., 1999. Analysis of polybrominated diphenyl ethers in swedish human milk. A time related study, 1972-1997. *J Toxicol Env Heal A* 58, 329-341

NATO/CCMS, 1988. International toxicity equivalency factor (I-TEF). Method of risk assessment for complex mixtures of dioxins and related compounds. Pilot study on international information exchange on dioxins and related compounds, Report Number 176, August 1988, North Atlantic Treaty Organization, Committee on Challenges of Modern Society

Ohta, S., Okumura, T., Nishimura, H., Nakao, T., Osamau, A., Miyata, H., 2004a. Characterization of Japanese pollution by PBDEs, TBBPA, PCDD/DFs, PBDD/DFs and PXDD/DFs observed in the long-term stock-fishes and sediments. *Proceedings of BFR 2004*, Toronto, Canada, 2004, 175-178

Ohta, S., Okumura, T., Nishimura, H., Nakao, T., Shimizu, Y., Ochiai, F., Aozasa, O., Miyata, H., 2004b. Levels of PBDEs, TBBPA, TBPs, PCDDs/DFs, PXDD/DFs and PBDDs/DFs in human milk of nursing women and dairy milk products in Japan. *Organohalogen Compd* 66, 2857-2862

Onodera, J., Ueda, Y., Choi, J.-W., Hashimoto, S., Suzuki, N., Morita, M., Sato, H., 2003. Influence of PBDEs in an analytical method for PBDDs/PBDFs by high-resolution GC/MS. *Bunseki Kagaku* 52, 205-213

Palm, A., Cousins, I.T., Mackay, D., Tysklind, M., Metcalfe, C., Alaei, M., 2002. Assessing the environmental fate of chemicals of emerging concern: a case study of the polybrominated diphenyl ethers. *Environ Pollut* 117,195-213

Oehme, M., 1998. *Handbuch Dioxine: Quellen, Vorkommen, Analytik*. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag. ISBN 3-8274-0126-7

Päpke, O., Fürst, P., Herrman, T., 2004. Determination of polybrominated diphenylethers (PBDEs) in biological tissues with special emphasis on QC/QA measures. *Talanta* 63,1203-1211

Päpke, O., Herrman, T., 2004. Polybrominated diphenylethers (PBDEs) in fish samples of various origins. *Organohalogen Compd* 66, 3971-3976

Pirard, C., De Pauw, E., Focant, J.-P., 2003. New strategy for comprehensive analysis of polybrominated diphenyl ethers, polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polycglorinated dibenzofurans and polychlorinated biphenyls by gas chromatography coupled with mass spectrometry. *J Chromatogr A* 998, 169-181

Rahman, F., Langford, K. H., Scrimshaw M., D., Lester J. N., 2001. Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants. *Sci Total Environ* 275, 1-17

Rayn, J., Patry, B., 2005. Body burdens and exposure from food for polybrominated diphenyl ethers (BDEs) in Canada. *Organohalogen Compd* 67, 209-212

Remberger, M., Sternbeck, J., Palm, A., Kaj, L., Strömberg, K., Brorström-Lunden, E., 2004. The environmental occurrence of hexabromocyclododecane in Sweden. *Chemosphere* 54, 9-21

Richtlinie 2002/69/EG der Kommission vom 26. Juli 2002 zur Festlegung der Probenahme- und Untersuchungsverfahren für die amtliche Kontrolle von Dioxinen sowie zur Bestimmung von dioxinähnlichen PCB in Lebensmitteln, Amtsblatt Nr. L 209 vom 06/08/2002, 5-14

Richtlinie 2002/95/EG des europäischen Parlaments und des Rates vom 27. Januar 2003 zur Beschränkung der Verwendung bestimmter gefährlicher Stoffe in Elektro- und Elektronikgeräten, Amtsblatt Nr. L 037 vom 13/02/2003, 19-23

Richtlinie 2003/11/EG des europäischen Parlaments und des Rates vom 6. Februar 2003 zur 24. Änderung der Richtlinie 76/769/EWG des Rates über Beschränkungen des Inverkehrbringens und der Verwendung gewisser gefährlicher Stoffe und Zubereitungen (Pentabromdiphenylether, Octabromdiphenylether), Amtsblatt Nr. L 042 vom 15/02/2003, 45-46

Richtlinie 2004/44/EG der Kommission vom 13. April 2004 zur Änderung der Richtlinie 2002/69/EG zur Festlegung der Probenahme- und Untersuchungsverfahren für die amtliche Kontrolle von Dioxinen sowie zur Bestimmung von dioxinähnlichen PCB in Lebensmitteln, Amtsblatt Nr. L 113 vom 20/04/2004, 17-18

Richtlinie 83/264/EWG des Rates vom 16. Mai 1983 zur vierten Änderung der Richtlinie 76/769/EWG zur Angleichung der Rechts- und Verwaltungsvorschriften der Mitgliedsstaaten für Beschränkung des Inverkehrbringens und der Verwendung gewisser gefährlicher Stoffe und Zubereitungen, Amtsblatt Nr. L 147 vom 06/06/1983, 9-10

Ryan, J., 2004. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in human milk; occurrence worldwide. Proceedings of BFR 2001, Stockholm, Sweden, 2001, 17-21

Safe, S., 1990. Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs), and related compounds: environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalency factors. Crit Rev Toxicol 21, 51-88

Schechter, A., Pöpke, O., Tung, K.-C., Staskal, D., Birnbaum, L., 2004. Polybrominated diphenyl ethers contamination of United States food. Environ Sci Technol 38, 5306-5311

Schechter, A., Pavuk, M., Pöpke, O., Ryan, J.J., Birnbaum, L., Rosen, R., 2003. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in U.S. mothers milk. *Environ Health Perspect* 111, 1723-1729.

Schlummer, M., Brandl, F., Mäurer, A., Gruber, L., Wolz, G., 2004. Polymers in waste electric and electronic equipment (WEEE) contain PBDD/F in the ppb-range. *Organohalogen Compd* 66, 859-863

Sellström, U., Söderstrom, G., de Wit, C., Tysklind, M., 1998. Photolytic debromination of decabromodiphenyl ether (DeBDE). *Organohalogen Compd* 35, 447-450

She, J., Holden, A., Dharp, M., Derry, C., Hooper, K., 2005. PBDEs are higher than PCBs in thirty percent breast milk samples from the pacific northwest. *Organohalogen Compd* 67, 647-650

She, J., Holden, A., Sharp, M., Tanner, M., Williams-Derry, C., Hooper, K., 2004. Unusual pattern of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in US breast milk. *Organohalogen Compd* 66, 3895-3900

Sjödin, A., Patterson, D., Bergman, A., 2003. A review on human exposure to brominated flame retardants - particularly polybrominated diphenyl ethers. *Environ Int* 29, 829-839

Thomsen, C., Haug, L., Leknes, H., Lundanes, E., Becher, G., Lindström, G., 2002. Comparing electron ionization high-resolution and electron capture low-resolution mass spectrometric determination of polybrominated diphenyl ethers in plasma, serum and milk. *Chemosphere* 46, 641-648

Thomsen, C., Liane, V., Froshaug, M., Becher, G., 2005. Levels of brominated flame retardants in human samples from Norway through three decades. *Organohalogen Compd* 67, 658-661

Tomy, G., Budakowski, W., Halldorson, T., Whittle, D. M., Keir, M., Marvin, C., MacInnis, G., Alae, M., 2004. Biomagnification of α - and γ -Hexabromocyclododecane Isomers in a Lake Ontario food web. *Environ Sci Technol* 38, 2298-2303

United States Environmental Protection Agency (EPA), Office of water, 1994. Method 1613: Tetra- through octa-chlorinated dioxins and furans by isotope dilution HRGC/HRMS. EPA-821-F-97-008, Washington D.C.

Van den Berg, M., Birnbaum, L., Bosveld, A., Brunstrom, B., Cook, P., Feeley, M., Giesy, J., Hanberg, A., Hasegawa, R., Kennedy, S., Kubiak, T., Larsen, J., van Leeuwen, F.X., Liem, A., Nolt, C., Peterson, R., Poellinger, L., Safe, S., Schrenk, D., Tillitt, D., Tysklind, M., Younes, M., Waern, F., Zacharewski, T., 1998. Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environ Health Persp* 106, 775-792

Van Leeuwen, FXR., Malisch, R., 2002. Results of the third round of the WHO-coordinated exposure study on the levels of PCBs, PCDD and PCDFs in human milk. *Organohalogen Compd* 56, 311-316

Verordnung über Verbote und Beschränkungen des Inverkehrbringens gefährlicher Stoffe, Zubereitungen und Erzeugnisse nach dem Chemikaliengesetz (Chemikalien-Verbotsverordnung- ChemVerbots V) vom 13. Juni 2003 (BGBl. I. S. 867) zuletzt geändert am 21. Juni 2005 (BGBl. I, Nr. 35, S. 1666)

Verordnung zum Schutz vor Gefahrstoffen (Gefahrstoffverordnung - GefStoffV) vom 23. Dezember 2004 (BGBl. I S. 3758), geändert durch Artikel 2 der Verordnung vom 23. Dezember 2004 (BGBl. I S. 3855)

Vieth, B., Rüdiger, T., Ostermann, B., Milke, H., 2005. Rückstände von Flammschutzmitteln aus Deutschland unter besonderer Berücksichtigung von polybromierten Diphenylethern (PBDE), Förderkennzeichen 202 61 218/03. Umweltbundesamt, Berlin

Wang, D., Cai, Z., Jiang, G., Leung, A., Wong, M., Wong, W., 2005. Determination of polybrominated diphenyl ethers in soil and sediment from an electronic waste recycling facility. *Chemosphere* 60, 810-816

Watanabe, I., Tatsukawa, R., 1987. Formation of brominated dibenzofurans from the photolysis of flame retardant decabromobiphenyl ether in hexane solution and sun light. *Bull Environ Contam Toxicol* 39, 953-959

Watanabe, K., Senthil Kumar, K., Masunaga, Takasuga, T., Iseki, N., Morita, M., 2004. Brominated organic contaminants in the liver and egg of common cormorants (*Phalacrocorax carbo*) from Japan. *Environ Sci Technol* 38, 4071-4077

Weber, R., Kuch, B., 2003. Relevance of BFRs and thermal conditions on the formation pathways of brominated and brominated-chlorinated dibenzodioxins and dibenzofurans. *Environ Int* 29, 699-710

WHO/ICPS, Environmental Health Criteria 205, 1998. Polybrominated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans, International program on chemical safety. World Health Organization, Geneva, ISBN 92-4-157205-1

WHO Technical Report Series, No. 930, 2005. Evaluation of certain food contaminants. Sixty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organization, Geneva, [in press]

Wiberg, K., Rappe, C., 1992. Analysis of bromo-, chloro- and mixed bromo/chloro-dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in salmon, osprey and human milk. *Chemosphere* 24, 1431-1439

Wong, A., Lei, Y., Alaei, M., Wania, F., 2001. Vapor pressures of the polybrominated diphenyl ethers. *J Chem Eng Data* 46, 239-242

Wu, N., Webster, T., Herrman, T., Pöpke, O., Tickner, J., Hale, R., Harvey, E., La Guardia, M., Jacobs, E., 2005. Associations of PBDE levels in breast milk with diet and dust concentrations. *Organohalogen Compd* 67, 654-657

Zennegg, M., Kohler, M., Gerecke, A., Schmid, P., 2003. Polybrominated diphenyl ethers in whitefish from Swiss lakes and farmed rainbow trout. *Chemosphere* 51, 545-553

Anhang 1: Chemikalien und Referenzstandards

Tabelle 1: Herkunft und Qualität der verwendeten Chemikalien und Materialien

Chemikalien / Materialien	Herkunft	Qualität
Bio-Beads S-X3	Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA	200 – 400 mesh
Kieselgel 60	Merck, Darmstadt, D	0,062 – 0,2 mm
Schwefelsäure 98 %	Merck, Darmstadt, D	suprapur
Natriumhydroxid	Roth, Karlsruhe, D	≥ 99 %, p.a.
Florisil	LGC Promochem, Wesel, D	100 – 200 mesh
Natriumsulfat wasserfrei	Merck, Darmstadt, D	p.a.
L(+)-Ascorbinsäure	Roth, Karlsruhe, D	≥ 99,5 %, p.a.
Supelclean ENVI-Carb 120/400 (Carbopack B)	SUPELCO, Bellefonte, PA, USA	
Celite 545	Merck, Darmstadt, D	Korngröße 0,02 – 0,1 mm
silanierte Glaswolle	Alltech, München, D	
Glasfaserfilter, ohne Bindemittel (MN 85/90 BF)	Macherey-Nagel, Düren, D	Dicke 0,40 mm, Rückhaltevermögen 0,5 µm
Lösungsmittel		
n-Nonan	Promochem, Wesel, D	99,99 %
n-Dodecan	Sigma Aldrich, Steinheim, D	99 %
Toluol	Malinckrodt Baker, Deventer, NL	99 %
	CVUA Freiburg	rückstandsfrei destilliert
n-Heptan	Malinckrodt Baker, Deventer, NL	99,0 %
	CVUA Freiburg	rückstandsfrei destilliert
Essigsäureethylester	CVUA Freiburg	rückstandsfrei destilliert
Cyclohexan	CVUA Freiburg	rückstandsfrei destilliert
n-Hexan	CVUA Freiburg	rückstandsfrei destilliert
Ethanol	Merck, Darmstadt, D	99,8 %
	CVUA Freiburg	rückstandsfrei destilliert
<i>tert</i> -Butylmethylether	Fluka, Buchs, CH	99,8 %
	CVUA Freiburg	rückstandsfrei destilliert
Dichlormethan	Roth, Karlsruhe, D	Rotisolv, HPLC

Tabelle 2: Verwendete unmarkierte und $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierte PBDE-Referenzstandards

Kongener	IUPAC-Nomenklatur	unmarkiert	$^{13}\text{C}_{12}$ -markiert
4,4'-Dibromdiphenylether	BDE 15	x	x
2,2',4-Tribromdiphenylether	BDE 17	x	
2,2,4'-Tribromdiphenylether	BDE 28	x	x
2,2',4,4'-Tetrabromdiphenylether	BDE 47	x	x
2,3',4,4'-Tetrabromdiphenylether	BDE 66	x	
2,3',4',6-Tetrabromdiphenylether	BDE 71	x	
2,4,4',6-Tetrabromdiphenylether	BDE 75	x	
3,3',4,4'-Tetrabromdiphenylether	BDE 77	x	x
2,2',3,4,4'-Pentabromdiphenylether	BDE 85	x	
2,2',4,4',5-Pentabromdiphenylether	BDE 99	x	x
2,2',4,4',6-Pentabromdiphenylether	BDE 100	x	x
2,3',4,4',6-Pentabromdiphenylether	BDE 119	x	
3,3',4,4',5-Pentabromdiphenylether	BDE 126	x	x
2,2',3,4,4',5-Hexabromdiphenylether	BDE 138	x	
2,2',4,4',5,5'-Hexabromdiphenylether	BDE 153	x	x
2,2',4,4',5,6'-Hexabromdiphenylether	BDE 154	x	
2,2',3,3,4',5',6-Heptabromdiphenylether	BDE 183	x	x
2,3,3',4,4',5,6-Heptabromdiphenylether	BDE 190	x	
2,2',3,4,4',5,5',6-Octabromdiphenylether	BDE 203	x	
2,2',3,3',4,4',5,5',6,6'-Decabromdiphenylether	BDE 209	x	x

Alle Originallösungen wurden von Cambridge Isotope Laboratories (CIL, Andover, USA) bezogen. Die Originallösungen hatten eine Konzentration von 50 +/- 5 µg/ml in n-Nonan (außer BDE 138: 75 +/- 5 µg/ml) und eine chemische Reinheit von > 95 %. Die Isotopenreinheit lag bei den $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten Kongeneren bei > 99 %.

Tabelle 3: Unmarkierte und $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierte PBDD/F-Referenzstandards

Kongener	Abkürzung	unmarkiert	$^{13}\text{C}_{12}$ -markiert
2,3,7,8-Tetrabromdibenzo-p-dioxin	2,3,7,8-TBDD	x ¹	x ¹
1,2,3,7,8-Pentabromdibenzo-p-dioxin	1,2,3,7,8-PeBDD	x ¹	x ¹
1,2,3,4,7,8-Hexabromdibenzo-p-dioxin	1,2,3,4,7,8-HxBDD	x ¹	x ¹
1,2,3,6,7,8-Hexabromdibenzo-p-dioxin	1,2,3,6,7,8-HxBDD	x ¹	x ¹
1,2,3,7,8,9-Hexabromdibenzo-p-dioxin	1,2,3,7,8,9-HxBDD	x ¹	
1,2,3,6,7,8-Hexabromdibenzo-p-dioxin / 1,2,3,7,8,9-Hexabromdibenzo-p-dioxin	1,2,3,6,7,8-HxBDD / 1,2,3,7,8,9-HxBDD		x ¹
1,2,3,4,6,7,8,9-Octabromdibenzo-p-dioxin	OBDD	x ¹	x ¹
2,3,7,8-Tetrabromdibenzofuran	2,3,7,8-TBDF	x ¹	x ¹
1,2,3,7,8-Pentabromdibenzofuran	1,2,3,7,8-PeBDF	x ¹	x ¹
2,3,4,7,8-Pentabromdibenzofuran	2,3,4,7,8-PeBDF	x ¹	x ¹
1,2,3,4,7,8-Hexabromdibenzofuran	1,2,3,4,7,8-HxBDF	x ¹	x ¹
1,2,3,4,6,7,8-Heptabromdibenzofuran	1,2,3,4,6,7,8-HpBDF	x ¹	
1,2,3,4,6,7,8,9-Octabromdibenzofuran	OBDF	x ²	

¹ Bezogen von Cambridge Isotope Laboratories (CIL), Andover, USA

² Bezogen von Wellington Laboratories, Ontario, Kanada

Die Standardlösungen für bromierte Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane wurden von CIL und Wellington Laboratories (Ontario, Kanada) bezogen. Die Konzentration der Stammlösung betrug jeweils 5 +/- 0,5 µg/ml (außer für OBDF: 25 +/- 1,2 µg/ml), die chemische Reinheit war mit > 95 % (Ausnahme: $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,6,7,8-/1,2,3,7,8,9-HxBDD 88%) und die Isotopenreinheit der isotopenmarkierten Verbindungen mit > 99 % angegeben. Lösungsmittel waren n-Nonan bzw. ein n-Nonan/Toluol-Gemisch.

Tabelle 4: Verwendete unmarkierte und $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierte PXDD/F-Referenzstandards

Kongener	Abkürzung	unmarkiert	$^{13}\text{C}_{12}$ -markiert
2-Brom-3,7,8-trichlordibenzo-p-dioxin	2-B-3,7,8-TrCDD	x ¹	
1-Brom-2,3,7,8-tetrachlordibenzo-p-dioxin	1-B-2,3,7,8-TCDD	x ²	x ¹
2-Brom-1,3,7,8-tetrachlordibenzo-p-dioxin	2-B-1,3,7,8-TCDD	x ¹	
2,3,-Dibrom-7,8-dichlordibenzo-p-dioxin	2,3-DB-7,8-DCDD	x ¹	x ²
2-Brom-3,6,7,8,9-pentachlordibenzo-p-dioxin	2-B-3,6,7,8,9-PeCDD	x ¹	
1-Brom-2,3,6,7,8,9-hexachlordibenzo-p-dioxin	1-B-2,3,6,7,8,9-HxCDD	x ¹	
1-Brom-2,3,4,6,7,8,9-heptachlordibenzo-p-dioxin	1-B-2,3,4,6,7,8,9-HpCDD	x ¹	
3-Brom-2,7,8-trichlordibenzofuran	3-B-2,7,8-TrCDF	x ¹	
1-Brom-2,3,7,8-tetrachlordibenzofuran	1-B-2,3,7,8-TCDF	x ¹	

¹ Bezogen von CIL

² Bezogen von Wellington

Die Standardlösungen für gemischt bromiert-chlorierte Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane wurden ebenfalls bei CIL und Wellington bezogen. Die Konzentration der Stammlösung betrug jeweils 50 +/- 5 µg/ml, die chemische Reinheit war mit > 98 %, die Isotopenreinheit der isotopenmarkierten Verbindungen mit > 99 % angegeben. Lösungsmittel waren n-Nonan bzw. ein n-Nonan/Toluol-Gemisch.

Tabelle 5: Verwendete unmarkierte und $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierte HBCD-Referenzstandards

Kongener	Abkürzung	unmarkiert	$^{13}\text{C}_{12}$ -markiert
α -1,2,5,6,9,10-Hexabromcyclododecan	α -HBCD	x	x
β -1,2,5,6,9,10-Hexabromcyclododecan	β -HBCD	x	x
γ -1,2,5,6,9,10-Hexabromcyclododecan	γ -HBCD	x	x

Unmarkierte HBCD-Standardlösungen wurden bei CIL, $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierte bei Wellington bezogen. Die Konzentration der Stammlösungen betragen jeweils 50 +/- 2,5 $\mu\text{g/ml}$ in Toluol. Die chemische Reinheit war mit $\geq 98\%$, die Isotopenreinheit der isotopenmarkierten Verbindungen mit $\geq 99\%$ angegeben.

Tabelle 6: Zur Quantifizierung von PBDE verwendete interne Standardlösung. Das Lösungsmittel ist ein Gemisch aus Cyclohexan und n-Nonan.

¹³ C ₁₂ -markierte Kongenere	Konzentration [pg/μl]
BDE 15	5
BDE 28	10
BDE 47	12,5
BDE 77	12,5
BDE 99	15
BDE 100	15
BDE 126	15
BDE 153	25
BDE 183	25
BDE 209	160

Tabelle 7: Zur Quantifizierung von PBDD/F verwendete interne Standardlösung. Das Lösungsmittel ist ein Gemisch aus Toluol und n-Nonan.

¹³ C ₁₂ -markierte Kongenere	Konzentration [pg/μl]
2,3,7,8-TBDD	2
1,2,3,7,8-PeBDD	3
1,2,3,4,7,8-HxBDD	4
1,2,3,6,7,8-/1,2,3,7,8,9-HxBDD	4
OBDD	40
2,3,7,8-TBDF	2
1,2,3,7,8-PeBDF	3
2,3,4,7,8-PeBDF	3
1,2,3,4,7,8-HxBDF	4

Tabelle 8: Zur Quantifizierung von PXDD/F verwendete interne Standardlösung. Das Lösungsmittel ist ein Gemisch aus Toluol und n-Nonan

¹³ C ₁₂ -markierte Kongenere	Konzentration [pg/μl]
2,3,-DB-7,8-DCDD	2
1-B-2,3,7,8-TCDD	2

Tabelle 9: Zur Quantifizierung von HBCD verwendete interne Standardlösung. Das Lösungsmittel ist Toluol.

¹³ C ₁₂ -markierte Diastereomere	Konzentration [pg/μl]
α-HBCD	100
β-HBCD	100
γ-HBCD	100

Tabelle 10: Zur Quantifizierung von PBDE verwendete Kalibrierlösung. Das Lösungsmittel ist ein Gemisch aus Cyclohexan und n-Nonan.

Unmarkierte Kongenere	Konzentration der Kalibrierlösungen in pg/µl					
BDE 15	0,125	0,25	0,5	2,5	5	12,5
BDE 17	0,25	0,5	1	5	10	25
BDE 28	0,25	0,5	1	5	10	25
BDE 47	0,313	0,625	1,25	6,25	12,5	31,3
BDE 66	0,313	0,625	1,25	6,25	12,5	31,3
BDE 71	0,313	0,625	1,25	6,25	12,5	31,3
BDE 75	0,313	0,625	1,25	6,25	12,5	31,3
BDE 77	0,313	0,625	1,25	6,25	12,5	31,3
BDE 85	0,375	0,75	1,5	7,5	15	37,5
BDE 99	0,375	0,75	1,5	7,5	15	37,5
BDE 100	0,375	0,75	1,5	7,5	15	37,5
BDE 119	0,375	0,75	1,5	7,5	15	37,5
BDE 126	0,375	0,75	1,5	7,5	15	37,5
BDE 138	0,625	1,25	2,5	12,5	25	62,5
BDE 153	0,625	1,25	2,5	12,5	25	62,5
BDE 154	0,625	1,25	2,5	12,5	25	62,5
BDE 183	0,625	1,25	2,5	12,5	25	62,5
BDE 190	0,625	1,25	2,5	12,5	25	62,5
BDE 203	1,25	2,5	5	25	50	125
¹³C₁₂-markierte Kongenere						
BDE 15			2,5			
BDE 28			5			
BDE 47			6,25			
BDE 77			6,25			
BDE 99			7,5			
BDE 100			7,5			
BDE 126			7,5			
BDE 153			7,5			
BDE 183			12,5			
Wiederfindungsstandard						
Mirex			20			

Tabelle 11: Zur Quantifizierung von BDE 209 verwendete Kalibrierlösungen. Das Lösungsmittel ist ein Gemisch aus Cyclohexan und n-Nonan.

	Konzentrationen der Kalibrierlösungen in pg/µl		
¹² C ₁₂ -BDE 209	40	200	400
¹³ C ₁₂ -BDE 209		160	
Wiederfindungsstandard			
Mirex		20	

Tabelle 12: Zur Quantifizierung von PBDD/F verwendete Kalibrierlösungen. Das Lösungsmittel ist ein Gemisch aus Toluol und n-Nonan.

unmarkierte Kongenere	Konzentrationen der Kalibrierlösungen in pg/µl						
2,3,7,8-TBDD	0,015	0,03	0,06	0,12	0,18	0,36	0,9
1,2,3,7,8-PeBDD	0,023	0,045	0,09	0,18	0,27	0,54	1,35
1,2,3,4,7,8-HxBDD	0,03	0,06	0,12	0,24	0,36	0,72	1,8
1,2,3,6,7,8-HxBDD	0,03	0,06	0,12	0,24	0,36	0,72	1,8
1,2,3,7,8,9-HxBDD	0,03	0,06	0,12	0,24	0,36	0,72	1,8
OBDD	0,3	0,6	1,2	2,4	3,6	7,2	18
2,3,7,8-TBDF	0,015	0,03	0,06	0,12	0,18	0,36	0,9
1,2,3,7,8-PeBDF	0,023	0,045	0,09	0,18	0,27	0,54	1,35
2,3,4,7,8-PeBDF	0,023	0,045	0,09	0,18	0,27	0,54	1,35
1,2,3,4,7,8-HxBDF	0,03	0,06	0,12	0,24	0,36	0,72	1,8
1,2,3,4,6,7,8-HpBDF	0,045	0,09	0,18	0,36	0,54	1,08	2,7
OBDF	0,3	0,6	1,2	2,4	3,6	7,2	18
¹³C₁₂-markiert							
2,3,7,8-TBDD				1			
1,2,3,7,8-PeBDD				1,5			
1,2,3,4,7,8-HxBDD				2			
1,2,3,6,7,8-/ 1,2,3,7,8,9-HxBDD				2			
OBDD				20			
2,3,7,8-TBDF				1			
1,2,3,7,8-PeBDF				1,5			
2,3,4,7,8-PeBDF				1,5			
1,2,3,4,7,8-HxBDF				2			
Wiederfindungsstandard							
¹³ C ₁₂ -BDE 77				5			

Tabelle 13: Zur Quantifizierung von tetra- und pentasubstituierten PXDD/F verwendete Kalibrierlösungen. Das Lösungsmittel ist ein Gemisch aus Toluol und n-Nonan.

unmarkierte Kongenere	Konzentrationen der Kalibrierlösungen in pg/μl		
2-B-3,7,8-TriCDD	0,04	0,1	1
3-B-2,7,8-TriCDF	0,04	0,1	1
2,3-DiB-7,8-DiCDD	0,06	0,15	1,5
1-B-2,3,7,8-TCDD	0,06	0,15	1,5
2-B-1,3,7,8-TCDD	0,06	0,15	1,5
1-B-2,3,7,8-TCDF	0,06	0,15	1,5
¹³C₁₂-markierte Kongenere			
2,3-DiB-7,8-DiCDD		1	
1-B-2,3,7,8-TCDD		1	
Wiederfindungsstandard			
¹³ C ₁₂ -BDE 77		2	

Tabelle 14: Zur Quantifizierung von HBCD verwendete Kalibrierlösungen. Das Lösungsmittel ist Toluol.

unmarkierte Diastereomere	Konzentrationen der Kalibrierlösungen in pg/μl				
α-HBCD	2	10	25	100	200
β-HBCD	2	10	25	100	200
γ-HBCD	2	10	25	100	200
¹³C₁₂-markierte Kongenere					
α-HBCD			100		
β-HBCD			100		
γ-HBCD			100		
Wiederfindungsstandard					
¹³ C ₁₂ -BDE 77			2,5		

Anhang 2: Probenaufarbeitung zur Bestimmung von PBDE, PBDD/F und PXDD/F

Homogenisierung der Probe

Bei fetthaltigen Lebensmittelproben wurden nur die essbaren Anteile verwendet und mit Mixern (Thermomix, Vorwerk, Wuppertal, D) ca. 100 - 300 g zerkleinert und gleichzeitig homogenisiert. Die homogenisierte Probe wurde anschließend zur Gefriertrocknung eingesetzt. Homogenisierte Milchproben wurden direkt gefriergetrocknet, bei nicht homogenisierter Milch (z.B. Rohmilch) erfolgte zuerst die Rahmabtrennung mittels Kühlzentrifuge (Sigma 6K10, Osterode, D) bei 4 °C und anschließend die Gefriertrocknung des Rahms. Für diese Proben war eine Bestimmung des Fettgehaltes nicht möglich. Frische pflanzliche Lebensmittel wurden mit Mixern zerkleinert und homogenisiert und anschließend gefriergetrocknet. Die Zugabe der internen Standards erfolgte hier direkt auf die Probe vor der Gefriertrocknung. Humanmilchproben wurden vor der Gefriertrocknung durch intensives Schütteln bzw. Rühren bei gleichzeitigem Erwärmen soweit wie möglich homogenisiert und anschließend vollständig oder in Teilmengen gefriergetrocknet. Trockene Futtermittelproben, wie Pellets oder trockene Einzelkomponenten mit niedrigem Wassergehalt < 15 %, wurden mit einem Mixer zerkleinert und homogenisiert und dann direkt zur Extraktion eingesetzt.

Gefriertrocknung

Ein Aliquot der homogenisierten Probe wurde zur Trocknung eingesetzt. Die Einwaage (bis ca. 300 g) richtete sich dabei nach dem Fettgehalt der Proben. Nach Trocknung und Extraktion sollte möglichst 5-10 g Fett zur Verfügung stehen. Vor der Gefriertrocknung wurden die Proben auf ungefähr -40° C tiefgefroren und anschließend mittels einer Gefriertrocknungsanlage (Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen, Osterode, D) getrocknet. Die Trocknungszeiten richteten sich dabei nach Wassergehalt und Probeneinwaage. Als Beispiel werden in Tabelle 1 die Parameter der Gefriertrocknung von Humanmilch zusammengefasst:

Tabelle 1: Parameter für die Gefriertrocknung von Humanmilch

Trocknungsabschnitt	Sollwert Temperatur [°C]	Sollwert Vakuum [mbar]	Zeit [h:min]
1	- 30	0,370	0:01
2	- 20	0,370	0:30
3	- 20	0,370	0:30
4	20	0,370	1:30
5	20	0,370	15:00
6	25	0,070	3:00

Extraktion

Fettextraktion:

Die gefriergetrocknete Probe wurde direkt in eine Glasextraktionshülse mit Glasfritte (Innendurchmesser: 4 cm, Länge: 10 cm, mit Glasfaserfilter) für die Twisselmann-Extraktion eingefüllt und mit Glaswolle abgedeckt. Diese Extraktionsmethode wurde bereits routinemäßig für die Extraktion von PCDD/F und PCB in Lebensmitteln und Futtermitteln sowie Humanmilch im CVUA Freiburg eingesetzt (Malisch und van Leeuwen, 2002). Dabei hat die Probe im Gegensatz zur Soxhlet-Extraktion permanent Kontakt mit heißem Lösungsmittel (siehe Abbildung 1).

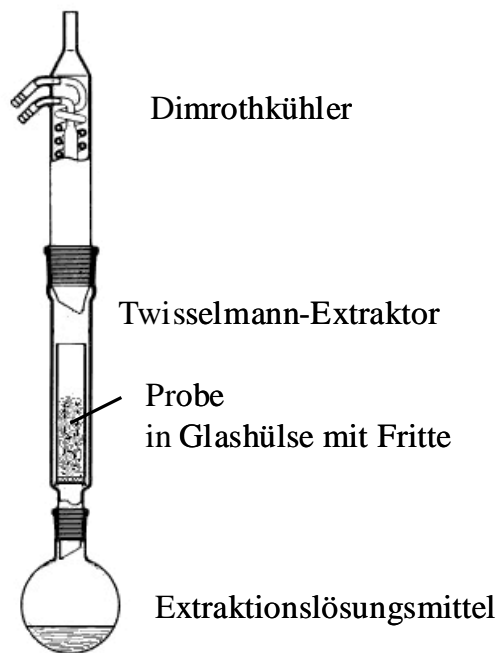


Abbildung 1: Aufbau einer Extraktionsapparatur zur heißen Extraktion von biologischen Proben mit Twisselmann-Extraktor und Dimrothkühler. Die Probe wird in einer Glashülse mit Fritte vorgelegt und das Extraktionslösungsmittel erhitzt.

Als Lösungsmittel wurde für fetthaltige Lebensmittel (außer Rohmilch) und fetthaltige Futtermittel ein Gemisch aus Cyclohexan und Toluol (1+1) eingesetzt. Der abgetrennte und getrocknete Rahm der Rohmilch wurde nach Soxhlet mit n-Hexan extrahiert. Für homogenisierte Kuhmilch und Humanmilch sowie Milchpulver wurde die Twisselmann-Extraktion mit einem Gemisch aus Ethanol und Toluol (70+30) durchgeführt. Dabei werden auch die polarerer Fettanteile mitextrahiert. Dieser Fettrohextrakt wurde mit *tert*-Butylmethylether zur Abtrennung mitextrahierter polarer Fettbegleitstoffe aufgereinigt. Dazu wurde der getrocknete Fettrohextrakt für ca. 1 bis 2 min unter Ultraschallbehandlung in 80 ml *tert*-Butylmethylether suspendiert. Zur Abtrennung unlöslicher Stoffe wurde die Lösung anschließend zentrifugiert. Die überstehende Lösung wurde abdekantiert und das Zentrifugat erneut in gleicher Weise mit 30 ml *tert*-Butylmethylether behandelt. Die *tert*-Butylmethylether-Extrakte wurden anschließend vereinigt. Der getrocknete Fettextrakt wurde zur gravimetrischen Bestimmung des Fettgehalts und zur weiteren Aufarbeitung eingesetzt.

Extraktion bei pflanzlichen Proben:

Die Aufarbeitung von pflanzlichen Proben ist bis zur Gelpermeationschromatographie (GPC) mit denjenigen der PCDD/F- und PCB-Bestimmung identisch (Malisch et al., 1997). Eine spezielle Validierung dieser Schritte für die PBDE, PBDD/F und PXDD/F wurde nicht durchgeführt. Die weiteren Aufreinigungsschritte nach der GPC entsprachen dann wieder denjenigen für fetthaltige Proben.

Fetteinwaage und Zugabe des internen Standards

Ein Aliquot des extrahierten Fettes, das alle zu untersuchenden Analyten enthält, wurde mit den $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten Standards für PBDE (30 μl), PBDD/F (10 μl) und PXDD/F (25 μl) dotiert. Dafür wurden, wenn möglich, maximal 3,75 g Fett in 25 ml Essigsäureethylester/Cyclohexan-Gemisch (1+1) gelöst und nach Zusatz der internen Standards gemischt. Zur Abtrennung von Partikeln und Trübungen wurde die Lösung in 25-ml-Braunglas-Zentrifugengläser überführt und in einer Kühlzentrifuge (Sigma 6K10, Osterode, D) 5 min bei 20 °C und 4000 U/min zentrifugiert.

Automatisierte Gelpermeationschromatographie

Pro Injektion wurden 5 ml des Probenextraktes aufgegeben. Der Fluss der mobilen Phase betrug 5 ml/min. Elutionslösungsmittel war ein Gemisch aus Essigsäureethylester/Cyclohexan 1+1 (v/v). Die Elutionsbereiche der Analyten wurden mittels reiner Standardlösungen ermittelt. Als Anhaltspunkte dienten die Fraktionierungsvolumen für PCDD/F sowie PCB. Aufgrund gerätespezifischer Besonderheiten konnten insgesamt nur 20 ml Probe (4 Injektionen á 5 ml) auf die Säule aufgegeben werden. Damit konnten insgesamt maximal 3,0 g Fett bei 3,75 g Fetteinwaage in 25 ml aufgearbeitet werden. Die Fraktion bis 19 min wurde verworfen und die Fraktion 19 bis 35 min in einem 500-ml-Rundkolben gesammelt.

Herstellung der Gelsäule:

50 g Bio-Beads S-X3 (Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA) wurden in einem 600-ml-Becherglas mit 200 ml Essigsäureethylester/Cyclohexan 1+1 (v/v) aufgeschlämmt und für mindestens 3 – 4 h quellen gelassen. Die Chromatographiesäule (Latek Labortechnik, Eppelheim, D) hatte eine Länge von 58 cm und einen Innendurchmesser von 25,4 mm und

das Volumen wurde mittels zweier Verteilerstempel eingestellt. Das gequollene Gelmaterial wurde in die Säule eingeschlämmt.

Aufkonzentrierung der Extrakte und Zusatz des „Keepers“

Die vereinigten gelchromatographischen Eluate wurden am Rotationsverdampfer bis auf ein Restvolumen von einigen Millilitern eingengt. Die eingengten Extrakte wurden mittels Essigsäureethylester/Cyclohexan 1+1 (v/v) in einen 25-ml-Braunglas-Spitzkolben mit 3-ml-Spitzansatz überführt und bei gleichzeitiger Bestimmung von PCB mit 50 µl n-Dodecan als „Keeper“ versetzt. Diese Lösung wurde am Rotationsverdampfer bis auf circa 0,5 ml eingengt. Lösungsmittelreste wurden dann im Stickstoffstrom bei 50 °C abgeblasen. Der eingengte Rückstand der Gelchromatographie wurde in ca. 2 ml n-Heptan gelöst.

Kieselgel/Schwefelsäure-Säule

Der Extrakt wurde unter mehrmaligem Nachspülen des Kolbens mit n-Heptan auf die Säule aufgegeben. Die Elution erfolgte mit insgesamt 20 ml n-Heptan. Das Eluat wurde in einem 25-ml-Braunglas-Spitzkolben mit 3-ml-Spitzansatz aufgefangen.

Herstellung der Kieselgel-Schwefelsäure-Säule:

300 g Kieselgel wurden bei 600 °C mindestens 10 h im Muffelofen geglüht, dort auf circa 100 °C abgekühlt und bis zur Abkühlung auf Zimmertemperatur im Exsikkator aufbewahrt.

Zur Herstellung der Kieselgel-Schwefelsäure-Mischung wurden 100 g geglühtes Kieselgel in eine 500-ml-Schraubverschlussflasche eingewogen und mit 25 ml (46 g) Schwefelsäure 96 % versetzt. Die verschlossene Flasche wurde für circa 3 h bis zur Homogenität der Mischung geschüttelt und mindestens 12 h stehen gelassen. Zur Herstellung der Kieselgel-Natronlauge-Mischung wurden 100 g geglühtes Kieselgel in einer 500-ml-Schraubverschlussflasche mit 30 ml 1 molarer Natronlauge versetzt. Die verschlossene Flasche wurde bis zur Homogenität der Mischung geschüttelt und mindestens 12 h stehen gelassen. Zur Herstellung von Kieselgel mit 5 % Wasser wurden 95 g geglühtes Kieselgel in einer 500-ml-Schraubverschlussflasche mit 5 g Wasser versetzt. Die verschlossene Flasche wurde bis zur Homogenität der Mischung geschüttelt und mindestens 12 h stehen gelassen.

Eine 10 cm lange Braunglas-Chromatographie-Säule mit einem Innendurchmesser von 1 cm und aufgesetztem Trichter wurde mit einem mit Toluol extrahierten Glaswolle-Pfropfen beschickt und anschließend in folgender Reihenfolge befüllt:

- 0,3 g Kieselgel mit 5 % Wasser
- 1,0 g Kieselgel/Natronlauge-Mischung
- 0,3 g Kieselgel mit 5 % Wasser
- 1,0 g Kieselgel/Schwefelsäure-Mischung
- 0,3 g Kieselgel mit 5 % Wasser

Die gepackte Säule wurde anschließend mit 40 ml n-Heptan konditioniert. Die Kieselgel-Schwefelsäure-Säule wurde für jede Probe neu hergestellt.

Florisil-Säule

Hier erfolgte die Abtrennung der PBDE und PCB von den PXDD/F. Das auf 1 ml eingeeengte Eluat der Kieselgel-Schwefelsäure-Säule wurde direkt unter zweimaligem Nachspülen des Kolbens (insgesamt ca. 5 ml) auf die Säule gegeben.

Herstellung der Florisil-Säule:

100 g Florisil wurden bei 600 °C mindestens 10 Stunden im Muffelofen gegläht, dort auf circa 100 °C abgekühlt und bis zur Abkühlung auf Zimmertemperatur im Exsikkator aufbewahrt.

Zur Herstellung des mit 3 % Wasser desaktivierten Florisils wurden 97 g des geglähten Florisils in einer 500-ml-Schraubverschlussflasche mit 3 g Wasser versetzt. Die Mischung wurde circa 5 min von Hand bis zur Homogenität der Mischung leicht geschüttelt und dann mindestens 24 h im verschlossenen Gefäß bei Raumtemperatur stehen gelassen. Nach einem Tag wurde die Mischung erneut geschüttelt und abermals für 24 h stehengelassen. Um Veränderungen der Aktivität durch Aufnahme von Luftfeuchtigkeit zu vermeiden, wurde die Mischung mindestens monatlich frisch angesetzt. Wasserfreies Natriumsulfat wurde für mindestens 12 h im Muffelofen bei 650 °C gegläht, dort auf circa 100 °C abgekühlt und bis zur Abkühlung auf Zimmertemperatur im Exsikkator aufbewahrt.

Eine 30 cm lange Braunglas-Chromatographie-Säule mit einem Innendurchmesser von 1 cm und einem 50-ml-Vorratsgefäß wurde mit einem mit Toluol extrahierten Glaswolle-Pfropfen beschickt und mit n-Heptan bis zum Vorratsgefäß gefüllt. 6 g desaktiviertes Florisil wurden langsam eingerieselt und durch vorsichtiges Kreisen luftblasenfrei eingeschichtet. Anschließend wurde das Florisil mit einer dünnen Schicht geglühtem Natriumsulfat (circa 0,3 g) überschichtet und das überstehende n-Heptan abgelassen. Die Florisil-Säule wurde für jede Probe neu hergestellt.

PBDE- und PCB-Aufarbeitung

n-Heptan-Fraktion der Florisil-Säule:

Die Elution der polybromierten Diphenylether erfolgte mit 50 ml n-Heptan (abzüglich der zum Nachspülen verbrauchten Menge). Das Eluat wurde dafür in einem 100-ml-Spitzkolben mit 1-ml-Spitzansatz aufgefangen. Eine säulenchromatographische Abtrennung der PBDE von den PCB fand nicht statt. Sollen neben PBDE auch PCB bestimmt werden, wird das n-Heptan-Eluat der Florisil-Säule im Verhältnis 1:1 geteilt. Die PBDE-Fraktion wurde am Rotationsverdampfer bis auf circa 5 ml eingengt und unter Nachspülen mit n-Heptan in einen 25-ml-Spitzkolben mit spitzzulaufendem 1-ml-Spitzansatz überführt.

Analysenextrakt PBDE:

Zur Bestimmung der Wiederfindung wurde der aufkonzentrierten Lösung 50 µl (entspricht 2 ng) des Wiederfindungsstandard Mirex zugesetzt. Nach dem Einengen der Lösung am Rotationsverdampfer auf circa 1 ml wurden die Lösungsmittelreste im Stickstoffstrom entfernt. Der Rückstand wurde unter Abspülen der Glaswand in 30 µl Cyclohexan (50 µl bei gleichzeitiger PCB-Bestimmung) aufgenommen, im Ultraschallbad gelöst und auf dem Reagenzglasschüttler vorsichtig geschüttelt. Die für die GC/MS-Analytik messfertige Lösung wurde in ein 0,7-ml-Probegläschen aus Braunglas überführt.

Analysenextrakt PCB:

Sollen zusätzlich auch di-, mono- und nicht-ortho-substituierten PCB untersucht werden, wie z.B. bei den Proben aus Haiti und Guiyu, wird die weitere Aufarbeitung gemäß der etablierten Methode des CVUA Freiburg durchgeführt (Malisch et al., 2003).

PBDD/F- und PXDD/F-Aufarbeitung***Toluol-Fraktion der Florisil-Säule:***

Nach der Elution der PBDE und PCB mit n-Heptan wurden die PBDD/F, PXDD/F zusammen mit den PCDD/F mit 60 ml Toluol von der Florisil-Säule eluiert. Nach Einengen der Fraktion und Abblasen mit Stickstoff bis zur Trockne wurde der Rückstand in 1 ml n-Hexan aufgenommen und unter zweimaligem Nachspülen mit 0,5 ml n-Hexan in ein Probegläschen für das Aktivkohle-Aufreinigungssystem überführt.

Aktivkohle-Aufreinigung:

Mittels des automatisierten Aktivkohle-Aufreinigungssystems erfolgte eine weitere Nachreinigung des Extraktes und speziell die Abtrennung noch vorhandener PCB- und PBDE-Spuren. Das System (Gilson, Middleton, USA) bestand aus zwei HPLC-Pumpen (für n-Hexan und Toluol), Injektor, Fraktionssammler, Mischkammer sowie der jeweils verwendeten Aktivkohle-Säule.

Nach der Aufgabe des Extraktes (Aufgabevolumen: 2 ml) wurde die Säule mit 30 ml n-Hexan (Fluss: 1,5 ml/min) gespült und die Verbindungen anschließend in umgekehrter Richtung mit 37,5 ml Toluol bei einem Fluss von 1,5 ml/min in 100-ml-Spitzkolben mit 1-ml-Spitzansatz eluiert. Eine Auftrennung in PCDD/F, PBDD/F und PXDD/F wurde nicht durchgeführt.

Herstellung der Aktivkohle-Säulen:

10 g Carbopack B (SUPELCO, Bellefonte, USA) wurden 24 Stunden mit Toluol extrahiert. Celite 545 (Merck, Darmstadt, D) wurde im Muffelofen bei 600 °C geglüht. 0,2 g gereinigtes Carbopack B und 2 g geglühtes Celite 545 wurden für die PBDD/F- und PXDD/F-Aufreinigung in einem Schraubdeckelglas 5 min durch Schütteln gemischt. 0,5 g der Mischung wurden in eine Glassäule (Innendurchmesser: 1 cm, Länge: 10 cm, Chem Valve Omnifit, Cambridge, GB) eingefüllt, auf ca. 12 mm zusammengepresst und in das

Probenaufarbeitungssystem eingebaut. Die PCB-Auftrennung wurde entsprechend mit 2 g Carbopack B und 2 g Celite 545 durchgeführt. Eine geeignete Glassäule (Innendurchmesser: 1cm, Länge: 25 cm, Chem Valve Omnifit, Cambridge, GB) wurde befüllt, auf ca. 14,5 cm zusammengepresst und in das Probenaufarbeitungssystem eingebaut.

Analysenextrakt PBDD/F und PXDD/F:

Die Toluolfraktion wurde auf 1 ml aufkonzentriert, 20 µl (100 pg) des Wiederfindungsstandards BDE 77 (¹³C₁₂-isotopenmarkiert) zugegeben und anschließend nahezu zur Trockne eingengt und je nach benötigtem Endvolumen (Quantifizierung von PBDD/F, PXDD/F und/oder PCDD/F) in 20 bis 50 µl Toluol aufgenommen.

Anhang 3: Probenaufarbeitung zur Bestimmung von HBCD

Die Bestimmung von HBCD ließ sich nicht in die bereits bestehende Methode zum Nachweis von PBDE, PBDD/F und PXDD/F einbauen. Deshalb wurde eine separate möglichst einfache und schnelle Methode entwickelt.

Die Gefriertrocknung und Fettextraktion erfolgten in gleicher Weise wie für die übrigen bromierten Verbindungen. Einem Aliquot von 0,25 g des extrahierten Fetts wurden dann nach Lösen in 2 ml n-Heptan 50 µl des $^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkierten Mischstandards (5 ng je Diastereomer) zugesetzt.

Die Abtrennung von Fett und anderen oxidierbaren Begleitstoffen erfolgte über eine Kieselgel-Schwefelsäure-Säule (Länge 10 cm, Innendurchmesser: 1 cm) bestehend aus folgenden Schichten (von oben nach unten):

- 0,5 g Kieselgel, desaktiviert mit 5 % Wasser (Herstellung siehe Anhang 2)
- 4 g Kieselgel-Schwefelsäure-Gemisch (Herstellung siehe Anhang 2)
- 0,5 g Kieselgel, desaktiviert mit 5 % Wasser (Herstellung siehe Anhang 2)

Nach der Probenaufgabe wurde die Säule mit 20 ml n-Heptan gespült, um alle PCDD/F, PBDE und PCB zu eluieren. Die Elution der HBCD-Diastereomere erfolgte im Anschluss mit 20 ml eines Gemisches aus n-Heptan und Dichlormethan (1+1) in einen 25 ml Spitzkolben mit 3-ml-Spitzansatz. Das Eluat wurde danach auf ca. 2 ml aufkonzentriert, so daß Dichlormethan nahezu vollständig entfernt war. Der Extrakt wurde auf eine mit 3 g Florisil (desaktiviert mit 3 % Wasser) und ca. 0,25 g geglühtem Natriumsulfat gefüllte Säule (Länge 30 cm, Innendurchmesser: 1 cm) gegeben. Nach der Probenaufgabe erfolgte das Vorspülen der Säule mit 20 ml n-Heptan, die Elution von HBCD im Anschluss erneut mit 20 ml n-Heptan/Dichlormethan (1+1) in einen 25 ml Spitzkolben mit Spitzansatz.

Dieses Eluat wurde dann für eine Quantifizierung mittels HRGC/HRMS und LC/MS-MS im Verhältnis 1:1 geteilt. Für die GC/MS-Messung erfolgte nach weiterem Aufkonzentrieren die Zugabe des Wiederfindungsstandards BDE 77 ($^{13}\text{C}_{12}$ -isotopenmarkiert, 500 pg). Anschließend wurde der Extrakt mit N_2 bis fast zur Trockne eingeengt und in 30 µl Toluol aufgenommen. Für die LC/MS-Messung erfolgte nach Aufkonzentrieren bis fast zur Trockne der Zusatz von 100 µl Methanol.

Anhang 4: Quantifizierung mit HRGC/HRMS und LC/MS-MS

Tabelle 1: HRGC-Parameter für die Quantifizierung von PBDE und HBCD

Trace GC (Thermo, Bremen, D)	
Säule	DB-5-MS (J&W Scientific, Folsom, USA), Länge: 15, 30 m, ID: 0,25 mm, Filmdicke: 0,25 µm
Trägergas	Helium 5.0 Fluss: 1,0 ml/min (30-m-Säule), 1,5 ml/min (15-m-Säule)
Injektion	splitlos (splitlose Zeit: 1,5 bis 2 min) PTV (splitlose Zeit: 2 min)
Injektionsvolumen	1 µl
Injektortemperatur	300 °C
Temperaturprogramm	30-m-Säule: 120 °C, 2min isotherm, 30 °C/min auf 210 °C, 3 °C/min auf 255 °C, 20 °C/min auf 300 °C, 4min isotherm 15-m-Säule: 100 °C, isotherm 2min, 8 °C/min auf 220 °C, 5 °C/min auf 320 °C, 4 min isotherm
Transferkapillare	280 °C

Tabelle 2 : HRGC-Parameter für PBDD/F und PXDD/F

Trace GC (Thermo, Bremen, D)	
Säule	DB-5-MS (J&W Scientific, Folsom, USA), Länge: 15 m, ID: 0,25 mm, Filmdicke: 0,25 µm
Trägergas	Helium 5.0 Fluss: 1,5 ml/min (PBDD/F), 1,0 ml/min (PXDD/F)
Injektion	PTV (Lösungsmittel gesplitet)
Injektionsvolumen	5 µl
Injektorprogramm	100 °C, 0,2 min isotherm, Splitfluss 70 ml/min, 700 °C/min auf 320 °C, 10 min isotherm, splitlose Zeit 2 min
Temperaturprogramm	PBDD/F: 100 °C, 2min isotherm, 8 °C/min auf 220 °C, 5 °C/min auf 320 °C, 4 min isotherm PXDD/F: 100 °C, 2min isotherm, 5 °C/min auf 320 °C
Transferkapillare	280 °C

Tabelle 3: HRMS-Parameter zur Bestimmung von PBDE, PBDD/F, PXDD/F und HBCD

MAT 95 XP (Thermo, Bremen, D)	
Ionisation	Elektronenionisation
Elektronenenergie	45 eV
Filamentstrom	0,7 mA
Quellentemperatur	280 °C
Auflösung (10 % Tal)	10'000 (8'000 - 14'000)

Tabelle 4: Isotopenmassen für die Quantifizierung von PBDE mittels SIM

PBDE	Ion	Masse unmarkiert [u]	Masse ¹³ C ₁₂ -markiert [u]	Isotopen- Verhältnis	SIM-Gruppe
Di-BDE	M ⁺	325.8936	337.9339	0,51	1
	[M+2] ⁺	327.8916	339.9319		
Tri-BDE	[M+2] ⁺	405.8021	417.8424	1,02	2
	[M+4] ⁺	407.8001	419.8403		
Tetra-BDE	[M-2Br+2] ⁺	325.8760	337.9162	2,03	3
	[M-2Br+4] ⁺	327.8741	339.9142		
Penta-BDE	[M-2Br+2] ⁺	403.7865	415.8267	1,02	4
	[M-2Br+4] ⁺	405.7845	417.8247		
Hexa-BDE	[M-2Br+4] ⁺	483.6950	495.7352	1,53	5
	[M-2Br+6] ⁺	485.6930	497.7332		
Hepta-BDE	[M-2Br+4] ⁺	561.6055	573.6457	1,02	6
	[M-2Br+6] ⁺	563.6035	575.6437		
Octa-BDE	[M-2Br+4] ⁺	639.5156		0,77	7
	[M-2Br+6] ⁺	641.5140			
Deca-BDE	[M-2Br+6] ⁺	797.3350	809.3752	0,82	8
	[M-2Br+8] ⁺	799.3330	811.3732		
Mirex		331.8096		0,79	3
		333.8067			

Tabelle 5: Isotopenmassen für die Quantifizierung von PBDD/F mittels SIM

PBDD/F	Ion	Masse unmarkiert [u]	Masse ¹³ C ₁₂ -markiert [u]	Isotopen- Verhältnis	SIM-Gruppe
TBDD	[M+4] ⁺	499.6898	511.7301	1,54	1
	[M+6] ⁺	501.6878	513.7280		
PeBDD	[M+4] ⁺	577.6004	589.6406	1,03	2
	[M+6] ⁺	579.5983	591.6386		
HxBDD	[M+6] ⁺	657.5088	669.5491	1,37	3
	[M+8] ⁺	659.5068	671.5470		
HpBDD	[M+6] ⁺	735.4193	747.4596	1,03	4
	[M+8] ⁺	737.4173	749.4575		
OBDD	[M+6] ⁺	813.3298	825.3701	0,82	5
	[M+8] ⁺	815.3278	827.3681		
TBDF	[M+4] ⁺	483.6949	495.7352	1,54	1
	[M+6] ⁺	485.6929	497.7331		
PeBDF	[M+4] ⁺	561.6054	573.6457	1,03	2
	[M+6] ⁺	563.6034	575.6436		
HxBDF	[M+4] ⁺	639.5159	651.5562	0,77	3
	[M+6] ⁺	641.5139	653.5542		
HpBDF	[M+6] ⁺	719.4244	731.4647	1,03	4
	[M+8] ⁺	721.4224	733.4626		
OBDF	[M+6] ⁺	797.3349	809.3752	0,82	5
	[M+8] ⁺	799.3329	811.3731		
¹³ C ₁₂ -BDE 77	[M+2] ⁺		495.7529	0,69	1
	[M+4] ⁺		497.7508		

Tabelle 6: Isotopenmassen für die Quantifizierung von TXDD/F und PeXDD/F mittels SIM

TXDD/F	Ion	Masse unmarkiert [u]	Masse ¹³ C ₁₂ -markiert [u]	Isotopen-Verhältnis
Br ₁ Cl ₃ DD	[M+2] ⁺	363.8455		0,52
	[M+4] ⁺	365.8434		
Br ₂ Cl ₂ DD	[M+2] ⁺	409.7929	421.8332	1,11
	[M+4] ⁺	411.7900	423.8302	
Br ₃ Cl ₁ DD	[M+2] ⁺	453.7424		0,85
	[M+4] ⁺	455.7404		
Br ₁ Cl ₃ DF	[M] ⁺	347.8506		0,52
	[M+2] ⁺	349.8485		
Br ₂ Cl ₂ DF	[M+2] ⁺	393.7980		1,11
	[M+4] ⁺	395.7960		
Br ₃ Cl ₁ DF	[M+2] ⁺	437.7475		0,85
	[M+4] ⁺	439.7454		
Br ₁ Cl ₄ DD	[M+2] ⁺	399.8040	411.8442	1,20
	[M+4] ⁺	401.8013	413.8415	
Br ₂ Cl ₃ DD	[M+2] ⁺	443.7537		0,93
	[M+4] ⁺	445.7513		
Br ₃ Cl ₂ DD	[M+2] ⁺	487.7033		0,74
	[M+4] ⁺	489.7011		
Br ₄ Cl ₁ DD	[M+4] ⁺	533.6508		1,25
	[M+6] ⁺	535.6486		
Br ₁ Cl ₃ DF	[M+2] ⁺	383.8091		1,20
	[M+4] ⁺	385.8064		
Br ₂ Cl ₂ DF	[M+2] ⁺	427.7588		0,93
	[M+4] ⁺	429.7563		
Br ₃ Cl ₂ DF	[M+2] ⁺	471.7084		0,74
	[M+4] ⁺	473.7061		
Br ₄ Cl ₁ DF	[M+4] ⁺	517.6558		1,25
	[M+6] ⁺	519.6537		
¹³ C ₁₂ -BDE 77	[M+2] ⁺		495.7529	0,69
	[M+4] ⁺		497.7508	

Tabelle 7: Isotopenmassen für die Quantifizierung von HBCD mittels SIM

1,2,5,6,9,10-HBCD	Ion	Masse		Isotopen- Verhältnis
		unmarkiert [u]	¹³ C ₁₂ -markiert [u]	
Σ α,β,γ-HBCD	[M-3Br-2H+2] ⁺	398.8776	410.9179	1,02
	[M-3Br-2H+4] ⁺	400.8756	412.9158	
	[M-Br+4] ⁺	560.7289	572.7687	1,02
	[M-Br+6] ⁺	562.7269	574.7667	
¹³ C ₁₂ -BDE 77	[M+2] ⁺		495.7529	0,69
	[M+4] ⁺		497.7508	

Tabelle 8: HPLC-MS-Parameter für die Quantifizierung von HBCD**Agilent 1100** (Agilent Technologies, Palo Alto, USA)

Säule	Luna C18(2) (Phenomenex, Aschaffenburg, D)		
	Phase: C ₁₈ , "endcapped"		
	Dimension: Länge 50 mm, I.D. 2 mm		
	Partikelgröße: 5 µm		
	Porengröße: 100 Å		
mobile Phase	A: H ₂ O/Methanol/Acetonitril		
	B: Methanol/Acetonitril		
Injektionsvolumen:	10 µl		
Gradient			
[min]	A [%]	B [%]	Fluss [ml/min]
0	50	50	0,25
7,5	0	100	0,25
10,5	0	100	0,25
10,51	0	100	1,5
11,50	0	100	1,5
11,51	50	50	0,8
14,75	50	50	0,8
14,76	50	50	0,25
Druck	400 bar		

Micromass Quattro LC (Waters, Milford, USA)

MS	Tandem-Massenspektrometer	
Ionisation	ESI (-)	
Modus	Selektion eines Vorläuferions im 1. Quadrupol, Fragmentierung im 2. Quadrupol und Selektion eines Produkts im 3. Quadrupol („multiple reaction monitoring“, MRM)	
Massen	Vorläuferion	Produktion
	638,5	78,8
	640,5	78,8
	640,5	80,8
	652,5	78,8
Konusspannung	15 V	
Kollektorspannung	15 eV	

CURRICULUM VITAE

PERSÖNLICHE DATEN

Alexander Kotz
geboren am 17. September 1976
in Mutlangen / Ostalbkreis (Deutschland)
Staatsangehörigkeit: Deutsch

HOCHSCHULSTUDIUM / SCHULAUSSBILDUNG

2003 – 2006	Doktorarbeit in Organisch Analytischer Chemie unter der Betreuung von Prof. Dr. Michael Oehme an der Universität Basel, Schweiz
August 2003 – Februar 2004	Masterarbeit in Organisch Analytischer Chemie unter der Betreuung von Prof. Dr. Michael Oehme an der Universität Basel, Schweiz
Mai 2002 – April 2003	Praktisches Jahr zur Ausbildung zum staatlich geprüften Lebensmittelchemiker am Chemischen und Veterinäruntersuchungsamt Freiburg, Deutschland
1997 – 2001	Studium der Lebensmittelchemie an der Technischen Universität München, Deutschland
1987 – 1996	König-Karlmann-Gymnasium Altötting, Deutschland
1983 – 1987	Grundschule in Iggingen (Ostalbkreis) und Markt (Lkr. Altötting), Deutschland

ZIVILDienst

1996 – 1997 BRK-Altenheim Neuötting (Lkr. Altötting), Deutschland

Während meines Studiums an der Universität Basel habe ich Vorlesungen der folgenden Personen besucht:

Prof. Dr. Michael Oehme, Prof. Dr. Urs Séquin, PD Dr. André Herrmann,
Prof. Dr. Patricia Holm, Dr. Katja Knauer

