

Afdeling Contaminanten

Discussienota 81.13

Projekt: Onderzoek monsters landbouw- en
visserijprodukten op contaminanten.

Onderwerp: Voorstellen voor normstelling van
individuele gechloreerde bifenylen in zuivel
produkten, ruwvoeder, mengvoeder, vis en
vlees.

pr.nr. 3.369

1981-02-02

Verzendlijst

Direkteur	RIKILT
Sektorhoofden (3x)	"
Afd. Contaminanten (7x)	"
Leesportefeuilles sektor/bibliotheek (4x)	"
Projektbeheer	"
Normalisatie	"
Secretariaat Projektgroep JMG-COO (10x)	RIZA, Lelystad
Werkgroep LAC "Visverontreiniging" (15x)	Min. L en V. 's-Gravenhage
Werkgroep LAC "Bodem en Gewas" (15x)	"
Werkgroep LAC "Zuivel" (20x)	"
Werkgroep LAC "Vee en Vlees" (15x)	"
LAC-plenair (30x)	"
V.d. Meijs	VKA
Mol	"
Kloet	"

Discussienota 81.13

Pr.Nr. 3.369

Project: Onderzoek monsters landbouw- en visserijprodukten op contaminanten (LAC, Min. L. en V.)

Onderwerp: Voorstellen voor normstelling van individuele gechlloreerde bifenylen in zuivelprodukten, mengvoeder, ruwvoeder, vis en vlees

Doel:

- 1 Aangeven waarom PCB-toleranties gebaseerd moeten zijn op een bepalingsmethodiek, die individuele gechlloreerde bifenylen bepaalt.
- 2 Aangeven aan de hand van welke gechlloreerde bifenylen die nieuwe toleranties gesteld zouden kunnen worden.
- 3 Voorstel doen welke toleranties voor verschillende produkten gehanteerd zouden kunnen worden.

Samenvatting:

Een overzicht wordt gegeven van de verschillende in de literatuur gegeven mogelijkheden om PCB's te bepalen evenals een overzicht van onze huidige kennis met betrekking tot het voorkomen van individuele gechlloreerde bifenylen in diverse landbouw- en visserijprodukten. Het blijkt dat een aantal componenten (nl. 23) bruikbaar zijn voor monitoring doeleinden, zgn. indicatoren. Uit deze indicatoren is een keuze gemaakt om te gebruiken als component voor tolerantie eisen en wel de indicatoren 2,4-4', 2,5-2'5', 2,4,5-2'5', 2,3,4,-2'4'5', 2,4,5-2'4'5' en 2,3,4,5-2'4'5'.

Voor een aantal produkten wordt aangegeven welke waarde de som van de bedoelde zes componenten niet mag overschrijden.

Verantwoordelijk: ir L.G.M.Th. Tuinstra,

Samenstellers/Medewerkers: H.J. Keukens, R.J. van Mazijk,

A.J. van Munsteren, A.H. Roos en W.A. Traag

Inleiding

Op dit moment is de situatie zo dat PCB's nagenoeg in elke matrix aantoonbaar zijn. Vanwege de accumulerende eigenschappen van PCB's zullen de hoogste concentraties worden aangetroffen in produkten van dierlijke oorsprong (einde voedselketen). PCB's worden ook aangetroffen in lucht, regen, water, slib, verpakkingsmateriaal, mengvoeder, ruwvoeder enz. (1-9). Met andere woorden de landbouw en visserij worden direkt en indirekt geconfronteerd met het alom aanwezig zijn van PCB's.

Het bepalen van PCB's brengt problemen met zich mee. Immers theoretisch zijn er 209 individuele gechlloreerde bifenylen mogelijk, praktisch worden er ca. 100 aangetoond. Door de industrie worden diverse technische mengsels voor uiteenlopende bestemmingen aangeboden, waarbij de gemiddelde chloreringsgraad tussen de technische mengsels verschillend is en dat betekent weer, dat in het ene technische mengsel andere componenten aanwezig kunnen zijn dan in het andere technische mengsel. Een derde complicatie is dat de verschillende individuele gechlloreerde bifenylen zich in het milieu en de voedselketen anders gedragen, anders afbreken en metaboliseren, waardoor een vergelijking met het oorspronkelijke technische mengsel niet meer mogelijk is.

In het algemeen kan gesteld worden dat het voor de landbouw en de visserij zeer belangrijk is bij het bepalen van contaminanten in eindprodukten mogelijkheden te hebben om de oorspronkelijke besmettingsbron op te sporen, zodat daar gepaste maatregelen genomen kunnen worden. Dit houdt in dat onderlinge relaties (accumulatiefactoren) bekend moeten zijn c.q. bepaald moeten worden.

De analytici hebben voor de bepaling van PCB's in de loop van de tijd een groot aantal methoden beschreven, die op twee principes zijn terug te voeren nl.

A het geëxtraheerde PCB-mengsel chemisch omzetten tot één component en deze dan gaschromatografisch bepalen.

B het geëxtraheerde PCB-mengsel als zodanig op een gaschromatograaf injecteren om tot een scheiding van de samenstellende componenten te komen.

ad A

- 1 Het geëxtraheerde PCB-mengsel dechloreren tot bifenyl en dat bepalen met een gaschromatograaf uitgerust met een vlamionisatiedetektor (GC-FID) of met een vloeistofchromatograaf en UV-detektie (10,11). Tot op heden zijn weinig praktische toepassingen bekend. Ook is niet bekend of alle PCB's even gemakkelijk omgezet worden. Een belangrijk bezwaar is dat het oorspronkelijke piekenpatroon (dat min of meer de chloreringsgraad aangeeft) verloren is gegaan. Teruggaan naar de besmettingsbron is daardoor veel moeilijker geworden.
- 2 Het geëxtraheerde PCB-mengsel perchloreren tot decachloorbifenyl (DCB) en dat bepalen met een gaschromatograaf uitgerust met een electron capture detektor (GC-EC) (12-15). Ook hierbij gaat het oorspronkelijke piekenpatroon verloren. Verder is het een groot bezwaar, dat vooral lager gechloreerde bifenylen niet of nauwelijks om te zetten zijn in DCB. Hierdoor is deze methode niet bruikbaar voor verpakkingsmateriaal (en daarin verpakte produkten), dat voor- namelijk besmet is met lager gechloreerde bifenylen. Bepaalde soorten monsters (slib, krachtvoeder) geven met deze methode een veel te hoog DCB-gehalte (16-17). Voor produkten van dierlijke oorsprong wordt een iets te hoog gehalte gevonden (17-19). De te hoge DCB resultaten worden veroorzaakt door de aanwezigheid van stoffen, die onder de reactieomstandigheden omgezet worden in DCB. Een ander bezwaar van de perchloreringsmethode is, dat bij minder goed gekozen gaschromatografische scheidingscondities (bijvoorbeeld een te korte kolom) andere stoffen kunnen interfereren met DCB (20). Sommige onderzoekers (o.a. RIV) geven de besmetting niet in DCB-gehalte, maar rekenen vanuit het DCB-gehalte terug naar het technische mengsel Chlophen A60. Dit suggereert bovendien dat het gehalte in het monster bepaald is ten opzicht van het technische mengsel Chlophen A60.

ad B

Bij de bepaling op gepakte kolommen of op capillairen werd door vele onderzoekers de kwantificatie uitgevoerd door vergelijking ten opzicht van technische mengsels.

Sommige onderzoekers maakten zelfs mengsels van verschillende technische PCB mengsels om een zo goed mogelijke overeenkomst te verkrijgen met het piekenpatroon uit het onderzochte monster. Bij deze zgn. piekpatroonvergelijkingsmethode werd vooral door Amerikaanse onderzoekers het totale piekoppervlak van het monster vergeleken met een mengsel van technische PCB-mengsels. Anderen nemen een aantal overeenkomstige pieken in monster en technische mengsel.

Vooraf wanneer deze piekpatroonvergelijkingen uitgevoerd worden met capillaire gaschromatografie ziet men de verschillen tussen de technische mengsels en de monsterextrakten zeer duidelijk (21-23). Ook ziet men dan dat er tussen verschillende soorten monsters veel minder overeenstemming is dan bij analyse op een gepakte kolom. Het is op een capillaire kolom mogelijk om b.v. onderscheid te maken tussen verschillende vissoorten ofschoon deze wel in hetzelfde water rondzwemmen (21).

Op initiatief van de werkgroep LAC Visverontreiniging werd in 1978 besloten om PCB metingen te gaan uitvoeren aan de hand van individuele gechlloreerde bifenylen. Vrij snel daarna werd een onderzoek programma voor individuele gechlloreerde bifenylen in melk opgesteld, gevolgd door onderzoekingen in mengvoeder en ruwvoeder.

Resultaten

De metingen verricht in melk, allerlei soorten zeevissen, mengvoerders en ruwvoerders zijn weergegeven in een aantal verslagen en publicaties (1-2, 24-26). Er werden uitvoerige voederexperimenten uitgevoerd met melkvee en met slachtkuikens om de zgn. accumulatiefactor voor naar vet te bepalen (27-29). Voor varkens werd een globale indruk verkregen van deze factoren door enkele monsters vet te meten van varkens uit een RIV voederproef (30).

Vooraf de afgelopen maanden is er voor het identificeren en confirmeren veelvuldig gebruik gemaakt van onze GC-MS combinatie. Hierdoor was het mogelijk elders verrichte en in de literatuur beschreven onderzoekingen beter te kunnen beoordelen (26, 31-33). De door ons eigen onderzoek verkregen gegevens zijn samengevat in bijlage 1. In de kolommen 1 en 2 zijn nummering en structuur weergegeven. In kolom 3 is voor de technische mengsels van Aroclor 1221-1260 het gehalte van geïdentificeerde gechlloreerde bifenylen gegeven. Het aantal Cl-atomen per bifenyl werd m.b.v. GC-MS bevestigd.

In kolom 4 is een belangrijk praktisch aspect aangegeven nl. in hoeverre een bepaalde component commercieel verkrijgbaar is. Dit is een moment opname. Bij voldoende belangstelling worden deze componenten in produktie genomen c.q. gehouden. In kolom 5 zijn de accumulatiefactoren (verhouding van het gehalte van een PCB-component in resp. melkvet, varkensvet, slachtkuikenvet en het gehalte van de component in het voer op droge stof) gegeven voor melkvee, varkens en slachtkuikens, zoals deze bepaald zijn in voederproeven (27, 28, 30). In kolom 6 zijn globale gemiddelde gehalten gegeven, die aangetoond werden in diverse vissoorten, mengvoeder, ruwvoeder en melk.

In kolom 7 wordt aangegeven welke individuele componenten (onder de in bijlage 2 aangegeven omstandigheden) goed te bepalen zijn. Om dit na te gaan en natuurlijk ook om identificaties uit te voeren is het noodzakelijk de component zelf als zuivere standaard in bezit te hebben. Voor veel gechlloreerde bifenylen is in de diverse kolommen niets ingevuld, dit betekent perse niet dat de component niet aanwezig zou zijn in onderzochte monsters. Het betekent alleen dat wij de component (nog) niet geïdentificeerd hebben, dikwijls omdat de zuivere stof niet in ons bezit is. Men moet bovendien bedenken, dat vele componenten alleen theoretisch kunnen bestaan en niet bij de produktie gevormd worden.

Indicatoren

De hiervoor summier geschetste situatie is gecompliceerd. Het is wenselijk, dat PCB-bepalingen niet alleen uitgevoerd kunnen worden door gespecialiseerde laboratoria. Monitoring programma's moeten makkelijk uitgevoerd kunnen worden. Verder is het zeer belangrijk dat een zodanige methode wordt gebruikt opdat de onderlinge relaties in de voedselketen daarin niet verloren gaan, maar juist zeer toegankelijk blijven. Het moet ook mogelijk zijn, afwijkingen van de normale patronen, b.v. ten gevolge van plaatselijke besmettingen van het milieu, te herkennen.

Dit kan gerealiseerd worden door een aantal gechlloreerde bifenylen te gebruiken als indicatoren. Uit bijlage 1 valt af te leiden, welke (op dit moment) uit oogpunt van scheiding (kolom 7) daarvoor in aanmerking komen.

In onderstaande tabel 1 zijn ze nog eens samengevat.

Tabel 1 Individuele gechloreerde bifenylen voor indicatordoeleinden

Piek nummer	Structuur	Piek nummer	Structuur	Piek nummer	Structuur
1	2-	70	2,5-3'4'	170	2,3,4,5-2'3'4' *)
2	3-	72	2,5-3'5'	180	2,3,4,5-2'4'5' *)
3	4-	97	2,4,5-2'3'	185	2,3,4,5,6-2'5'
28	2,4-4'	101	2,4,4-2'5'	187	2,3,5,6-2'4'5' *)
33	3,4-2'	128	2,3,4-2'3'4'	194	2,3,4,5-2'3'4'5'
44	2,3-2'5'	138	2,3,4-2'4'5'	201	2,3,4,5-2'3'5'6'*)
49	2,4-2'5'	141	2,3,4,5-2'5'	206	2,3,4,5,6-2'3'4'5'
52	2,5-2'5'	153	2,4,5-2'4'5'		

*) deze componenten zijn op dit moment niet commercieel leverbaar.

In kolom 3 van bijlage 1 kan nagegaan worden uit welk technische Aroclor mengsels deze indicatoren afkomstig zijn, wanneer ze in monsters aangetroffen worden. Uit kolom 6 van bijlage 1 valt af te leiden, dat meerdere (vooral lager gechloreerde bifenylen) van de genoemde indicatoren niet of nauwelijks aangetoond worden in een aantal produkten. Worden zij toch aangetoond of in hogere gehalte aangetoond dan normaal (geldend voor die matrix), dan kan niet uitgesloten worden, dat een "recente" besmetting met lagere gechloreerde technische mengsels heeft plaatsgevonden. (Denk b.v. aan PCB's in verpakkingsmateriaal). In de praktijk blijkt dat in vette vis (aal) het hoogste aantal aan indicatoren aangetroffen wordt nl. 19 en bovendien in de hoogste concentraties. Zoals recentelijk aangetoond (26,38) is het met deze 19 indicator componenten zeer wel mogelijk duidelijk onderscheid in besmettingspatroon in Nederlandse paling zichtbaar te maken.

Toleranties

Hiervoor komen vooral die componenten in aanmerking, die toxicologisch belangrijk zijn. De laatste jaren zijn er nl. studies verschenen die aangeven dat er nogal verschil in toxiciteit is tussen de verschillende gechloreerde bifenylen. Met name de alleen op de 3,4 plaats gesubstitueerde en 4 of meer chlooratomen bevattende gechloreerde bifenylen zouden veel toxischer zijn dan de andere verbindingen (34-35).

Echter op dit moment is niet voldoende onderzoek verricht om een meer kwantitatieve uitspraak te doen.

Andere criteria die gebruikt zijn om tot selectie te komen zijn de graad van stapeling én van voorkomen. Om dan niet tot een evengrote lijst te komen zoals in tabel 1 weergegeven, wordt in het geval een aantal componenten in een cluster bij elkaar liggen, slechts één van de componenten gebruikt voor tolerantie-eisen.

De keuze valt dan op die component die binnen de cluster het makkelijkst te bepalen is. Om het hele scala van landbouw- en visserijprodukten te kunnen omvatten zijn naast hoger gechlloreerde bifenylen ook enkele lager gechlloreerde bifenylen opgenomen. In onderstaande tabel 2 is aangegeven om welke componenten het gaat.

Tabel 2 Individuele gechlloreerde bifenylen voor tolerantiedoelinden

Piek		Piek	
nummer	Structuur	nummer	Structuur
28	2,4-4'	138	2,3,4-2'4'5'
52	2,5-2'5'	153	2,4,5-2'4'5'
101	2,4,5-2'5'	180	2,3,4,5-2'4'5'

Op dit moment verwachten we slechts in twee soorten produkten alle in tabel 2 vermelde componenten aan te treffen nl. in (vette) vis en slib (Dit laatste moet overigens nog uitvoeriger getoetst worden).

Voor melk en zuivelprodukten worden slechts 5 componenten verwacht. Bij deze uitspraken moet bedacht worden dat de detektieline voor een bepaalde component bepalend is voor zijn al of niet aantoonbaar zijn.

Toleranties kunnen gebaseerd worden op individuele componenten. Om een aansluiting te krijgen met de huidige norm gebaseerd op totaal PCB-gehalten t.o.v. industrieële mengsels lijkt onderstaande mogelijkheid de meest voor de hand liggende. Per matrix kan bepaald worden welk aandeel de in tabel 2 genoemde componenten hebben t.o.v. totale PCB-gehalte.

Het totale PCB-gehalte is samengesteld uit de som van de geïdentificeerde gechloreerde bifenylen en de nog niet geïdentificeerde (geschatte) bifenylen. Deze laatste kunnen nadat met GC-MS het aantal Cl-atomen bepaald is berekend worden m.b.v. de gemiddelde gevoeligheid van vergelijkbare gechloreerde bifenylen (26, 36-37).

Het aandeel van de in tabel 2 vermelde componenten in het totaal PCB-gehalte kan nu bepaald worden. Dit wordt vermenigvuldigd met de huidige (ontwerp) norm en levert de nieuwe (ontwerp) tolerantie.

Toleranties voor vis

De in tabel 2 gegeven componenten maken ca. 40% uit van het totaal PCB-gehalte (som van geïdentificeerde en geschatte bifenylen). Met andere woorden bij een ontwerpnorm van 5,0 mg/kg voor aal (aal en paling) wordt de nieuwe norm de som van de in tabel 2 gegeven individuele componenten max. 2,0 mg/kg. Voor haring/makreelachtigen (haring, zeebleek, pelser, sprot, makreel enz.) wordt bij een ontwerpnorm van 3,0 mg/kg de nieuwe norm 1,2 mg/kg. De norm van 1,0 mg/kg voor overige vis wordt dan 0,4 mg/kg op produktbasis. Voor "levers" bij een ontwerpnorm van 25,0 mg/kg wordt de nieuwe norm 10,0 mg/kg op produkt.

Tolerantie voor melk en zuivelprodukten

De in tabel 2 gegeven componenten maken ca. 30% uit van het totaal PCB-gehalte. Met andere woorden bij een ontwerpnorm van 0,5 mg/kg wordt de nieuwe norm 0,15 mg/kg op vetbasis.

Tolerantie voor mengvoeder/ruwvoerders voor rundvee

De tolerantie voor melk 0,15 mg/kg moet via de accumulatiefactor teruggerekend worden. Deze faktor is voor de hoogst stapelende gechloreerde bifenylen 5. Met andere woorden in rundveevoer wordt de nieuwe norm 0,03 mg/kg bij een vochtgehalte van 12%.

Toleranties voor vlees

a) rundvlees

Tolerantie gelijk te stellen met tolerantie voor melk en zuivelprodukten derhalve 0,15 mg/kg op vetbasis.

b) varkensvlees, pluimveevlees

Indien tolerantie gelijk wordt gesteld aan rundvlees (0,15 mg/kg op vetbasis) is door een hogere stapeling vanuit het voer naar vet nl. faktor 10, een lagere tolerantie in voer noodzakelijk nl 0,015 mg/kg bij een vochtgehalte van 12%.

Literatuur

- 1 L.G.M.Th. Tuinstra, A.J. van Munsteren, A.H. Roos, verslag dd. 1980-02-27 Pr.nr. 8265 - Het gehalte aan gechloteerde bifenylen in krachtvoerders en de bijdrage hiervan aan de besmetting van melk.
- 2 L.G.M.Th. Tuinstra, A.J. van Munsteren, A.H. Roos, verslag (in voorbereiding) - Het gehalte aan gechloteerde bifenylen in gras en de bijdrage hiervan aan de besmetting van melk.
- 3 W. Sümmerrmann, H. Rohleder, F. Korte, Z. Lebensm. Unters - Forsch. 166 (1978) 137 - 144.
- 4 J.W. Copius Peereboom, U.A.Th. Brinkman, N.J.A. de Boer, R.B. Geerdink, H₂O 13-1 (1980) 15-21.
- 5 S.J. Eisenreich, G.J. Hollod, Th.C. Johnson, Environm Sci. Technol. 13 (1979) 569-573.
- 6 M. Pastel, B. Bush, J.S. Kim, Pestic. Monit. J. 14 (1980) 11-22.
- 7 W.M.J. Strachan, H. Huneault, W.M. Schertzer, F.C. Elder, Hydrocarbons and halogenated hydrocarbons in the aquatic environment (1980) 387-396 published by Plenum Publishing Corp. New York.
- 8 W.M.J. Strachan, G.E. Glass, J. Great Lakes Res. 4 (3-4), (1978) 389-397.
- 9 W.M.J. Strachan, H. Huneault, J. Great Lakes Res. 5 (1), (1979) 61-67.
- 10 A. de Kok, R.B. Geerdink, R.W. Frei, U.A.Th. Brinkman, Intern. J. Environm. Anal. Chem., in press 1980.
- 11 G. Seidl, K. Ballschmiter, Fresenius Z. Anal. Chem. 296 (1979) 281.
- 12 J.A. Armour, J. AOAC 56 (1973) 987.
- 13 M. Bauer, Vom Wasser 41 (1973) 93.
- 14 J.N. Huckins, J.E. Swanson, D.L. Stalling, J. AOAC 57 (1974) 416.
- 15 H.L. Crist, R.F. Moseman, J. AOAC 60 (1977) 1277.
- 16 A. de Kok, R.B. Geerdink, R.W. Frei, U.A.Th. Brinkman, Intern. J. Environ. Anal. Chem., in press 1981.
- 17 L.G.M.Th. Tuinstra, A.H. Roos, W.A. Traag, S.M. Spaas Neuteboom, verslag dd. 1978-04-10 Pr.nr. 8.265 - Verder onderzoek naar het voorkomen van PCB's in krachtvoeder, ruwvoeder en vissen.
- 18 L.G.M.Th. Tuinstra, A.H. Roos, S.M. Spaas-Neuteboom, verslag dd. 1977-07-29 Pr.nr. 7.263 - Enkele ervaringen met de perchlorering van PCB's tot DCB en zijn consequenties.

- 19 L.G.M.Th. Tuinstra, G.A. Werdmuller, S.M. Spaas-Neuteboom, A.H. Roos, verslag dd. 1977-06-13 Pr.nr. 8.265 - De kwantitatieve bepaling van PCB's als zodanig of als DCB in vetten.
- 20 L.G.M.Th. Tuinstra, W.A. Traag, R.J. van Mazijk, verslag 80.25 dd. 1980-08-14 - Perchlorering van PCB-extrakten van paling. Verificatie van DCB m.b.v. massaspectrometrie.
- 21 L.G.M.Th. Tuinstra, A.H. Roos, W.A. Traag, Rapport CM 1980/E:14 Marine Environmental Quality Committee of International Council for the Exploration of the Sea.
- 22 M. Zell, K. Ballschmiter, Fresenius Z. Anal. Chem. 304 (1980) 337-349.
- 23 M. Zell, H.J. Neu, K. Ballschmiter, Fresenius Z. Anal. Chem. 292 (1978) 97-107.
- 24 L.G.M.Th. Tuinstra, W.A. Traag, H.J. Keukens, Neth. Milk Dairy J.34 (1980) 151.
- 25 W.G. de Ruig, L.G.M.Th. Tuinstra, N.G. van der Veen, verslag 79G19 dd. 1979-12-07 Pr nr. 3.369 - Bepaling van spoorelementen, polychloorbifenylen en organochloorbestrijdingsmiddelen in visserijprodukten.
- 26 L.G.M.Th. Tuinstra, R.J. van Mazijk, A.H. Roos, verslag 80.57 dd. 1980-11-12 Pr.nr. 3.369 - Het PCB-gehalte in palingvetten bepaald m.b.v. verschillende analyse- en berekeningsmethoden.
- 27 L.G.M.Th. Tuinstra, K. Vreman, H.J. Keukens, A.H. Roos, verslag dd. 1979-12-06 Pr.nr. 3.369 - De uitscheiding van gechloreerde bifenylen in het melkvet na orale dosering aan lakterende melkkoeien.
- 28 L.G.M.Th. Tuinstra, A.J. van Munsteren, A.H. Roos, verslag 81.04 dd. 1981-01-16 Pr.nr. 3.392 - De accumulatiefactoren van gechloreerde bifenylen na orale dosering aan slachtkuikens.
- 29 L.G. Hansen, J.J.T.W.A. Strik, J.H. Koeman, C.A. Kan, L.G.M.Th. Tuinstra, Toxicol. te publiceren 1981.
- 30 L.G.M.Th. Tuinstra, A.J. van Munsteren, verslag 80.55 dd. 1980-10-23 Pr.nr. 3.392 - De stapeling van gechloreerde bifenylen in varkens na orale dosering.
- 31 K. Ballschmiter, M. Zell, Fresenius Z. Anal. Chem. 302 (1980) 20.
- 32 L.G.M.Th. Tuinstra, W.A. Traag, verslag 80.39 dd. 1980-08-29 Pr.nr. 7.263 - Massaspectrometrisch onderzoek van Aroclor 1260.

- 33 L.G.M.Th. Tuinstra, W.A. Traag, verslag 81.14 dd. 1981-01-16 Pr.nr. 7.263 - Massaspectrometrisch onderzoek van Aroclor 1221, 1232, 1242, 1248, 1254.
- 34 J.A. Goldstein, P. Hickman, H. Bergman, Chem. Biol. Interact. 17 (1977) 69-87.
- 35 A. Poland, E. Glover, Mol. Pharmacol. 13 (1977) 924-938.
- 36 L.G.M.Th. Tuinstra, A.H. Roos, H.J. Keukens, R.J. van Mazijk, W.A. Traag, verslag 81.03 dd. 1981-01-09 Pr.nr. 8.265 - Quantificatie van PCB-componenten in melk.
- 37 L.G.M.Th. Tuinstra, R.J. van Mazijk, A.J. van Munsteren, verslag in voorbereiding - Quantificatie van PCB-componenten in krachtvoeders.
- 38 M. Kerkhoff, J. de Boer, A. de Vries: 4 jaar PCB onderzoek in aal uit Nederlandse binnenwateren. RIVO rapport CA 81-01.

AR/W

Bijlage 1

1	2	3					4	5			6				7		8		
		gew. % in Aroclor						Commer-	Accumulatiefactor			Mediaan in ug/kg op produktbasis op vetbasis				goed te scheiden			
Nummer	Struktuur	1221	1232	1242	1248	1254	1260	cieel	koe	varken	kuiken	aal	mossel	garnaal	krachtv.	melk	CP Sil 5	CP Sil 7	Opmerkingen
1	2-	22,8	15,8					+	0,4			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	
2	3-							+				n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	
3	4-	10,8	6,7					+	0,3			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	
4	2-2'	7,2	7,0	3,1	4,6			+	0,2			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	-	-	interferentie van 2,6-
5	2,3-							+				n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	-	-	interferentie van 2-4'
6	2-3'							-											
7	2,4-	1,8	1,6	0,2	0,7			+	0,1			n.a.	n.a.	n.a.	0,5*	8,0*	-	-	interferentie van 2,5-
8	2-4'	7,8	4,0	3,6	4,5			+				n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	-	-	zie piek 5
9	2,5-							+				n.a.	n.a.	n.a.					
10	2,6-							+				n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.			zie piek 4
11	3-3'							+											
12	3,4-							+											
13	3-4'							-											
14	3,5-							+											
15	4-4'							+	0,1			n.a.	n.a.	n.a.	2,0*	13,5*	-	-	interferentie van 2,5-2' en 2,4-2'
16	2,3-2'							-											
17	2,4-2'							-				n.a.	n.a.	n.a.					zie piek 15
18	2,5-2'	1,2	4,4	10,5	9,3			+				n.a.	n.a.	n.a.			-	-	zie piek 15
19	2,6-2'							-											
20	2,3-3'							-											
21	2,3,4-							+											
22	2,3-4'							-											
23	2,3,5-							-											
24	2,3,6-							+											
25	2,4-3'							-											
26	2,5-3'							+											
27	2,6-3'							-											
28	2,4-4'	0,8	4,3	9,6	9,0			+									+	-	op CP Sil 7 interferentie van 2,5-4'
29	2,4,5-							+											
30	2,4,6-							+											

* nog te bevestigen met GC/MS

n.a. = niet aantoonbaar

1	2	3 gew. % in / or						4 Commer-	5 Accumulatiefaktor			6 Mediaan in op produktbasis				op vetbasis	7 goed te scheiden			8
Nummer	Struktuur	1221	1232	1242	1248	1254	1260	cieel	koe	varken	kuiken	aal	mossel	garmaal	krachtv.	melk	CP S11 5	CP S11 7	Opmerkingen	
31	2,5-4'							+									+	-	zie plek 28	
32	2,6-4'							-												
33	3,4-2'							+									+	+		
34	3,5-2'							-												
35	3,4-3'							-												
36	3,5-3'							-												
37	3,4-4'							-												
38	3,4,5-							-												
39	3,5-4'							-												
40	2,3-2'3'							+												
41	2,3,4-2'							-												
42	2,3-2'4'							-												
43	2,3,5-2'							-												
44	2,3-2'5'		1,4	2,6	3,1	1,5		+	1,2	2	1,5	34	1	n.a.	n.a.	0,8	+	+		
45	2,3,6-2'							-												
46	2,3-2'6'							-												
47	2,4-2'4'							+											interferentie met penta- chloorthioanisol	
48	2,4,5-2'							-												
49	2,4-2'5'		1,1	2,1	2,5	0,8		+	2	4,2	20	1	1	n.a.	n.a.		+	+		
50	2,4,6-2'							-												
51	2,4-2'6'							-												
52	2,5-2'5'	0,2	1,3	2,1	2,7	3,5	0,5	+	1,8	4	4,9	112	3	2	0,2	2,0	+	+		
53	2,5-2'6'							-												
54	2,6-2'6'							+												
55	2,3,4-3'							-												
56	2,3-3'4'							-												
57	2,3,5-3'							-												
58	2,3-3'5'							-												
59	2,3,6-3'							-												
60	2,3,4-4'							-												
61	2,3,4,5-							+												
62	2,3,4,6-							-												
63	2,3,5-4'							-												
64	2,3,6-4'							-												
65	2,3,5,6-							+												
66	2,4-3'4'							+											interferentie met 2,3,6-2'5'	
67	2,4,5-3'							-												
68	2,4-3'5'							-												

1	2	3						4	5			6				7		8	
		gew. % in :lor						Commer	Accumulatiefaktor			Mediaan in g op produktbasis				op vetbasis	goed te scheiden		
Nummer	Struktuur	1221	1232	1242	1248	1254	1260	cieel	koe	varken	kuiken	aal	mossel	garmal	krachtv.	melk	CP S11 5	CP S11 7	Opmerkingen
69	2,4,6-3'							-											
70	2,5-3'4'	0,1	1,5	2,7	3,4	2,3		+	0,4	4,0		1	2	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	
71	2,6-3'4'							-											
72	2,5-3'5'	0,1	2,9	3,3	3,0	0,5		+		9,2		90	1	n.a.			+	+	
73	2,6-3'5'							-											
74	2,4,5-4'							-											
75	2,4,6-4'							-											
76	3,4,5-2'							-											
77	3,4-3'4'							+											
78	3,4,5-3'							-											
79	3,4-3'5'							-											
80	3,5-3'5'							-											
81	3,4,5-4'							-											
82	2,3,4-2'3'							-											
83	2,3,5-2'3'							-											
84	2,3,6-2'3'							-									-	-	interferentie met olefine pp'-DDE
85	2,3,4-2'4'							-											
86	2,3,4,5-2'							-											
87	2,3,4-2'5'		0,2	0,2	0,5	3,6	0,8	+	1,5	3							-	-	interferentie met pp'-DDE
88	2,3,4,6-2'							-											
89	2,3,4-2'6'							-											
90	2,3,5-2'5'							-											
91	2,3,6-2'4'							-											
92	2,3,5-2'5'							-											
93	2,3,5,6-2'							-											
94	2,3,5-2'6'							-											
95	2,3,6-2'5'	0,2	1,9	3,3	4,3	7,3	3,4	-	0,5	3	8,6	128	6	1	n.a.	1,5	-	-	zie piek 66
96	2,3,6-2'6'							-											
97	2,4,5-2'3'			0,1	0,4	2,2	0,4	+	0,3	6	12,5	15	2	n.a.	n.a.	0,6	+	+	
98	2,4,6-2'3'							-											
99	2,4,5-2'4'							-											
100	2,4,6-2'4'							-											
101	2,4,5-2'5'	0,1	0,5	0,4	1,0	7,7	3,8	+	0,4	3	3,7	85	7	1	0,2	2,7	+	+	
102	2,4,5-2'6'							-											
103	2,4,6-2'5'							+											
104	2,4,6-2'6'							-											
105	2,3,4-3'4'							-											

1	2	3						4	5			6				7		8	
		gew. % in A						Commer	Accumulatiefaktor			Mediaan in u op produktbasis				op vetbasis	goed te scheiden		
Nummer	Struktuur	1221	1232	1242	1248	1254	1260	cieel	koe	varken	kuiken	aal	mossel	garnaal	krachtv.	melk	CP S11 5	CP S11 7	Opmerkingen
106	2,3,4,5-3'							-											
107	2,3,5-3'4'							-											
108	2,3,4-3'5'							-											
109	2,3,4,6-3'							-											
110	2,3,6-3'4'							-											
111	2,3,5-3'5'							-											
112	2,3,5,6-3'							-											
113	2,3,6-3'5'							-											
114	2,3,4,5-4'							-											
115	2,3,4,6-4'							-											
116	2,3,4,5,6-							+											
117	2,3,5,6-4'							-											
118	2,4,5-3'4'							-	10	18		110					-	+	afh. kwaliteit CP-S11 7 kolom interferentie met 2,3,6-2'4'5'
119	2,4,6-3'4'							+											
120	2,4,5-3'5'							-											
121	2,4,6-3'5'							+											
122	3,4,5-2'3'							-									-	-	
123	3,4,5-2'4'							-											
124	3,4,5-2'5'							-											
125	3,4,5-2'6							-											
126	3,4,5-3'4'							-											
127	3,4,5-3'5'							-											
128	2,3,4-2'3'4'					1,6	0,6	+	4,1	18	12	20	1	n.a.	n.a.	1,3	+	+	
129	2,3,4,5-2'3'							-											
130	2,3,4-2'3'5'							-											
131	2,3,4,6-2'3'							-											
132	2,3,4-2'3'6'							-											
133	2,3,5-2'3'5'							-											
134	2,3,5,6-2'3'							-											
135	2,3,5-2'3'6'							-											
136	2,3,6-2'3'6'			0,4	1,1	1,8		+	0,6								-	-	interferentie met pp'-DOE
137	2,3,4,5-2'4'							-											
138	2,3,4-2'4'5'			0,2	7,4	8,8		+	3,5	12	16	200	11	2	0,3	11,2	+	+	
139	2,3,4,6-2'4'							+											
140	2,3,4-2'4'6'							+											
141	2,3,4,5-2'5'					1,7	3,6	+	0,5	3	10	40	1	1	n.a.	0,4	+	+	
142	2,3,4,5,6-2'							-											
143	2,3,4,5-2'6'							-											

1	2	3 gew. % in Aroc.						4 Commer-	5 Accumulatiefaktor			6 Mediaan in ug/kg produktbasis op vetbasis					7 goed te scheiden		8
Nummer	Struktuur	1221	1232	1242	1248	1254	1260	cieel	koe	varken	kuiken	aal	mossel	garnaal	krachtv.	melk	CP Sil 5	CP Sil 7	Opmerkingen
144	2,3,4,6-2'5'							-											
145	2,3,4,6-2'6'							-											
146	2,3,5-2'4'5'							-											
147	2,3,5,6-2'4'							-											
148	2,3,5-2'4'6'							-											
149	2,3,6-2'4'5'			0,1	5,4	10,7		-	0,4	3	8,8	90	8	1	0,3	2,0	-	+	zie piek 118
150	2,3,6-2'4'6'							-											
151	2,3,5,6-2'5'				1,1	3,8		+	0,4	6	10	24	2	1	n.a.	0,5	+	+	
152	2,3,5,6-2'6'							-											
153	2,4,5-2'4'5'			0,2	6,0	9,8		+	4,5	11	15	180	14	3	0,3	13,6	+	+	
154	2,4,5-2'4'6'							+											
155	2,4,6-2'4'6'							+									-	-	
156	2,3,4,5-3'4'							-											
157	2,3,4-3'4'5'							-											
158	2,3,4,6-3'4'							-											
159	2,3,4,5-3'5'							-											
160	2,3,4,5,6-3'							-											
161	2,3,4,6-3'5'							-											
162	2,3,5-3'4'5'							-											
163	2,3,5,6-3'4'							-											
164	2,3,6-3'4'5'							-											
165	2,3,5,6-3'5'							-											
166	2,3,4,5,6-4'							-											
167	2,4,5-3'4'5'							-											
168	2,4,6-3'4'5'							-											
169	3,4,5-3'4'5'							-											
170	2,3,4,5-2'3'4'			0,8	4,2			-	3,6	13	14	30	n.a.	1	n.a.	1,8	+	+	
171	2,3,4,6-2'3'4'							-											
172	2,3,4,5-2'3'5'							-											
173	2,3,4,5,6-2'3'							-											
174	2,3,4,5-2'3'6'							-											
175	2,3,4,6-2'3'5'							-											
176	2,3,4,6-2'3'6'							-											
177	2,3,5,6-2'3'4'							-											
178	2,3,5,6-2'3'5'							-											
179	2,3,5,6-2'3'6'							-											
180	2,3,4,5-2'4'5'					1,8	14,8	-	4,0	17	24	100	2	3	n.a.	6,3	+	+	

1	2	3						4	5			6				7		8	
		gew. % in Aroc						Commer-	Accumulatiefaktor			Mediaan in ug/kg produktbasis op vetbasis				goed te scheiden			
Nummer	Struktuur	1221	1232	1242	1248	1254	1260	cieel	koe	varken	kuiken	aal	mossel	garnaal	krachtv.	melk	CP Sil 5	CP Sil 7	Opmerkingen
181	2,3,4,5,6-2'4'							-											
182	2,3,4,5-2'4'6'							-											
183	2,3,4,6-2'4'5							-											
184	2,3,4,6-2'4'6'							-											
185	2,3,4,5,6-2'5'						0,6	+	2			2	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	
186	2,3,4,5,6-2'6'							-											
187	2,3,5,6-2'4'5'					0,7	6,3	-	1,0	12	16	48	4,0	2,0	n.a.	n.a.	+	+	
188	2,3,5,6-2'4'6							-											
189	2,3,4,5-3'4'5'							-											
190	2,3,4,5,6-3'4'							-											
191	2,3,4,6-3'4'5'							-											
192	2,3,4,5,6-3'5'							-											
193	2,3,5,6-3'4'5'							-											
194	2,3,4,5-2'3'4'5'					0,2	2,8	+	3,7			7	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	
195	2,3,4,5,6-2'3'4'							-											
196	2,3,4,6-2'3'4'5'							-											
197	2,3,4,6-2'3'4'6'							-											
198	2,3,4,5,6-2'3'5'							-											
199	2,3,4,5,6-2'3'6'							-											
200	2,3,4,6-2'3'5'6'							-											
201	2,3,4,5-2'3'5'6'					0,2	4,0	-	1,4			10	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	
202	2,3,5,6-2'3'5'6'							+											
203	2,3,4,5,6-2'4'5'							-											
204	2,3,4,5,6-2'4'6'							-											
205	2,3,4,5,6-3'4'5'							-											
206	2,3,4,5,6-2'3'4'5'						0,7	+	4,0			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	+	+	
207	2,3,4,5,6-2'3'4'6'							-											
208	2,3,4,5,6-2'3'5'6'							-											
209	2,3,4,5,6-2'3'4'5'6'							+											

De gaschromatografische bepaling van afzonderlijke polychloor bifenylen in melk, kaas, vis, eieren, krachtvoerders, ruwvoerders, grond en slib

1 Doel en toepasbaarheid

Het bepalen van afzonderlijke polychloor bifenylen in produkten (of grondstoffen) van de landbouw en visserij. Aannemende dat maximaal 2 gram extract (b.v. vet) uit het produkt verkregen wordt bedraagt voor elke afzonderlijke polychloorbifenyl de onderste grens van aantoonbaarheid voor de meervoudig gechlореerde bifenylen minimaal 0,002 mg/kg op extract basis (zie 8.1).

Deze methode is toepasbaar voor melk, kaas, vis, eieren, krachtvoeder, ruwvoerders, grond en slib. De recovery voor de meeste polychloor bifenylen is beter dan 80%.

2 Principe

Het extract wordt verzeept met alcoholische loog. De reactieprodukten van de verzeeping worden opgenomen in pentaan. Na uitwassen met water, droging over natriumsulfaat en vervolgens indampen van de pentaanfase volgt er een clean-up over aluminiumoxide waarna de gechlореerde bifenylen bepaald kunnen worden m.b.v. een gaschromatograaf uitgerust met een capillaire kolom en een electron-capture detector.

3 Reagentia

3.1 Pentaan gedestilleerd.

3.2 Natriumsulfaat watervrij.

3.3 Kwartsglaswol, minimaal 24 uur uitgestookt bij 135°C in een droogstoof ter verwijdering van E.C.-storende bestanddelen.

3.4 Aluminiumoxide basisch (Woelm) aktiviteit 1.

Desaktiveer de aluminiumoxide met 5% water (w/w) (zie 8.2).

3.5 Ethanol p.a.

3.6 Kaliumhydroxide p.a.

- 3.7 Alcoholische loog.
Los 35 gr. KOH op in 20 ml gedemineraliseerd water en vul met ethanol aan tot 1000 ml.
Maak voor elke serie te verzepen monsters (ongeveer 12) een verse benodigde hoeveelheid oplossing.
- 3.8 Ammoniumchloride oplossing 0,2 m. Los 10,7 g NH_4Cl op in 1 liter water.
- 3.9 Natriumsulfaatoplossing 2%. Los 20 g Na_2SO_4 op in 1 liter water.
- 3.10 Iso-octaan, gedestilleerd.
- 3.11 Hexaan, gedestilleerd.
- 3.12 Aceton p.a.
- 3.13 Acetonitril. p.a.
- 3.14 Interne standaarden mengsel.
P.C.A. en Mirex, concentraties resp. 0,03 en 0,15 $\mu\text{g/ml}$ in iso-octaan.
- 3.15 Standaarden afzonderlijke polychloor bifenylen (zie tabel 1).
- 3.16 Water gedemineraliseerd. In het voorschrift aangeduid met water.
Indien andere kwaliteit water gebruikt moet worden dan staat dit uitdrukkelijk aangegeven.
- 3.17 Biotex oplossing.
Los ca. 5 g op in 1 liter water.

4 Apparatuur

- 4.1 Waterbad.
- 4.2 Droogstoof.
- 4.3 Verwarmd zandbad.
- 4.4 Chromatografiebuizen.
Inwendige diameter 0,65 - 0,70 cm voorzien van een vloeistofreservoir.
- 4.5 Gaschromatograaf, b.v. Tracor 550 of Packard Becker 429.
Voorzien van een capillaire kolom gecoat met CP-Sil 5, CP-Sil 7, SE 30 of SE 52 (zie 8.3), een EC-detector en een automatisch injectiesysteem (b.v. precision sampler 4900). (Zie ook 6.4)
- 4.6 Schudmachine.
- 4.7 Waring Blendor.
- 4.8 Rotavapor.
- 4.9 Centrifuge.

5 Werkwijze

5.1 Algemeen

Al het glaswerk voor gebruik grondig spoelen met achtereenvolgens water, alcohol, ether en pentaan. Dit om een eventuele PCB-contaminatie te voorkomen (zie ook 8.4). Bij filtreren alleen kwartsglaswol gebruiken en geen papieren filters, daar deze PCB's kunnen bevatten.

Voer bij elke serie monsters (max. 12) 3 controlebepalingen uit en wel:

- 1) Blanco chemicaliën (zie 5.3.1).
- 2) Recovery van PCB standaardoplossing toegevoegd aan een monster (5.3.2)
- 3) Recovery van PCB standaardoplossing (zie 5.3.3).

5.2 Extractie

5.2.1 Krachtvoeders

Weeg 80,0 g gemalen produkt af in een maatfles van 500 ml met schroefdop met teflon inlage. Voeg 150 ml pentaan toe. Schud het monster één uur, pipetteer 75 ml (= 40,0 g produkt) van de boven het monster staande pentaan in een wijdmondse platbodemkolf van 100 ml en damp de pentaan in tot ca. 10 ml.

Verzeep volgens 5.4.

5.2.2 Rauwe melk

Centrifugeer 200 ml melk bij 3000 omw./min, breng de roomlaag over in een bekersglas van 250 ml. Voeg zoveel natriumsulfaat toe tot na mengen een droog korrelig geheel ontstaat. Voeg 50 ml pentaan toe. Meng met een roerstaaf en laat bezinken.

Decanteer de pentaan over natriumsulfaat. Herhaal dit enige malen tot er bijna geen geelkleuring van de pentaan meer optreedt. Damp de pentaan af, de laatste resten afdampen met een stikstofstroom. Weeg 2,0 g vet af in een wijdmondse platbodemkolf van 100 ml en verzeep volgens 5.4.

5.2.3 Kaas

Breng 20-25 g monster over in de Waring Blendor. Voeg 50 ml pentaan toe, macereer 30 sec. en decanteer de pentaan over natriumsulfaat.

Damp de pentaan af als bij 5.2.2. Weeg 2,0 g vet af in een wijdmondse platbodemkolf van 100 ml en verzeep volgens 5.4.

5.2.4 Eieren

Scheid van minimaal twee eieren het eiwit van de dooier, meng de dooiers en weeg 5,0 g af (opm. 8.5) in een wijdmondse platbodemkolf van 100 ml en verzeep volgens 5.4.

5.2.5 Vis

Homogeniseer van het monster het eetbare gedeelte in een Waring Blendor, weeg 5,0 g af in een wijdmondse platbodemkolf van 100 ml en verzeep volgens 5.4.

5.2.6 Slib

Weeg 20 g slib af, breng het over in een Waring Blendor, voeg 15 ml 0,2 M NH_4Cl -oplossing toe en macereer 5-10 sec. Voeg 100 ml hexaan-aceton (1:1) toe, macereer 5 minuten en breng het maceraat over in een centrifugebuis. Centrifugeer, schenk de bovenstaande vloeistoflagen af over kwartsglaswol in een scheitrechter van 500 ml. Breng het achterblijvende sediment met 50 ml hexaan-aceton (1:1) over in een Waring Blendor. Voeg 10 ml 0,2 M NH_4Cl -oplossing toe en macereer 5 minuten. Breng het maceraat over in een centrifugebuis, centrifugeer en filtreer over kwartsglaswol in de scheitrechter van 500 ml.

Voeg aan de verzamelde hexaan-acetonfasen 250 ml water toe, zwenk ca. 30 sec. om en verwijder de waterfase. Herhaal dit nog eens met 100 ml water. Droog de hexaan fase over natriumsulfaat. Spoel scheitrechter en natriumsulfaat na met hexaan. Damp in tot ca. 5 ml met een roterende verdamper. Verzeep het monster volgens 5.4.

5.2.7 Grond

Deze wordt op dezelfde wijze behandeld als slib (zie 5.2.6).

5.2.8 Ruwvoeders

Weeg 25 g ruwvoeder af, breng het monster over in de Waring Blendor. Voeg 100 ml acetonitril toe. Macereer 3 minuten, breng het maceraat over in een centrifugebuis. Centrifugeer, filtreer over kwartsglaswol. Breng 75 ml acetonitriloplossing in een scheitrechter van 500 ml. Schud zeer krachtig 2 minuten met 50 ml petroleumether. Voeg 300 ml 2% natriumsulfaatoplossing toe. Schud 1 minuut. Laat de lagen scheiden en verwijder de onderstaande waterlaag.

Was de petroleumether fase voorzichtig twee maal met 50 ml water. Verwerp telkens de waterfase. Droog de petroleumether over natriumsulfaat, damp in tot ca 5 ml op een verwarmd zandbad onder een zachte stikstofstroom.

Verzeep volgens 5.4.

5.3 Blanco + Recovery bepaling

5.3.1 Volg voor een blanco chemicaliën bepaling dit voorschrift (vanaf 5.2).

Interferenties mogen niet optreden (maximaal 10% van de gewenste detectiegrens).

Controleer indien nodig alle gebruikte chemicaliën afzonderlijk.

5.3.2 Recovery van de PCB standaard-oplossing toegevoegd aan een monster.

Voeg aan het extract verkregen bij 5.2, 1,0 ml van het PCB standaard mengsel (bijlage 1) toe en verzeep volgens 5.4 (opm. 8.6). Vul het eindextract aan tot 20 ml.

5.3.3 Recovery van de PCB standaard oplossing.

Pipetteer 1,0 ml van het PCB mengsel (bijlage 1) in een wijdmondse platbodempol van 100 ml en verzeep volgens 5.4. Vul het eindextract aan tot 20 ml.

5.4 Verzeppen

Voeg aan het monster verkregen volgens 5.2 20 ml alcoholische loog toe, verzeep op een waterbad van 70°C onder af en toe omzwenken gedurende minimaal 30 min.

Voeg na het verzeppen enkele druppels water toe en meng. Is de oplossing nu niet helder, dan moet de verzeping nog enige tijd worden voortgezet. Koel het mengsel af, breng het met 30 ml pentaan over in een scheitrechter van 250 ml.

Voeg 20 ml water toe en schud ca. 30 seconden.

Isoleer de waterfase, breng de pentaanfase over in een erlenmeyer, breng de waterfase opnieuw in de scheitrechter, nu met 15 ml pentaan, en schud wederom ca. 30 seconden. Herhaal dit alles nog twee maal met 15 ml pentaan. Breng de verzamelde pentaanfracties over in de lege scheitrechter.

Voeg 10 ml leidingwater toe. Laat de fasen scheiden. Verwerp de waterfase. Voeg 15 ml water toe en schud ca. 30 seconden. Verwerp de waterfase. Herhaal dit minstens driemaal. Controleer de pH van de laatste te verwerpen waterfase door hieraan enige druppels fenolftaleïne toe te voegen. Kleurt de waterfase rose, schud dan de pentaanfase opnieuw uit met 15 ml water en controleer opnieuw de pH van de waterfase. Kleurt de waterfase na toevoeging van fenolftaleïne niet meer rose, filtreer dan de pentaanfase over natriumsulfaat. Damp het verkregen extract in tot 2 ml (opm. 8.7) op een zandband van 40°C m.b.v. een stikstof stroom (opm. 8.8).

5.5 Clean-up

Vul een chromatografiebuis waarin zich een propje kwartsglaswol bevindt met 2,0 g gedesactiveerde aluminiumoxide 5% H_2O , elueer met 5 ml pentaan en verwerp deze fractie. Plaats een maatcylinder van 10 ml onder de kolom, breng het extract (2 ml) op de kolom en spoel kwantitatief over met resp. 2 en 8 ml pentaan en breng deze telkens op de kolom als het vloeistoffront de bovenzijde van de aluminiumoxide juist bereikt heeft.

Damp het eluaat in tot ca. 1 ml op een zandbad van 40°C m.b.v. een zachte stikstofstroom (opm. 8.8).

Voeg aan de monsters 1,0 ml en aan de drie controlebepalingen (5.3.1, 5.3.2, 5.3.3) resp. 1,0, 4,0 en 4,0 ml van het interne standaarden mengsel (3.14) toe en vul aan met iso-octaan tot resp. 5,0; 5,0; 20,0 en 20,0 ml. Vul eventueel hieruit monsterflesjes voor de injectie automaat.

6 Detectie

De gaschromatografische bepaling geschiedt m.b.v. een capillaire kolom gecoat met een apolaire fase waarbij 5,0 μ l splitloos geïnjecteerd wordt op een "koude" kolom, waardoor de te scheiden componenten condenseren in een smalle plug.

Na enige tijd (ca. 3 min) wordt de splitter geopend om eventueel op het septum en aan de binnenzijde van het glazen injectiestuk geadsorbeerde hoogkokende verbindingen (resten "vet" e.d.) af te blazen.

Na b.v. 4 minuten wordt de oventemperatuur snel op zijn optimale waarde gebracht om de te analyseren componenten te chromatografieren.

Deze injectie-techniek kan op twee manieren toegepast worden (zie 6.1 en 6.2). Ook is het mogelijk om te injecteren m.b.v. een vaste stof injector waarbij isotherm gechromatografeerd kan worden (zie 6.3).

6.1. Automatische injectie

Automatische injectie wordt verricht d.m.v. de injectie automaat, waarbij alle handelingen op tijdbasis geschakeld worden zoals het oproepen en starten van de interface van het data systeem, het bedienen van de temperatuur-programmeur en het openen en sluiten van de splitter.

6.2 Handinjectie

Wanneer slechts enkele monsters geïnjecteerd moeten worden is het mogelijk deze met de hand te injecteren, echter alle functie's genoemd onder 6.1 dienen dan manueel te gebeuren.

6.3 Injectie met een vaste stof injector

Alleen de Packard-Becker 429 is uitgerust met dit injectie systeem. Bij deze techniek wordt maximaal 2 ul op de punt van de glazen naald gebracht. Nadat de vloeistof door het langsstromende gas verdampt is, wordt de glazen naald in het verwarmde injectie-blok gebracht waarna isotherm gechromatografeerd wordt.

6.4 Gaschromatografische condities (opm. 8.9)

<u>Kolom:</u>		<u>Temperatuur instellingen:</u>	
lengte	25 m	injector	210°C
inwendige doorsnede	0,25 mm	detector	300°C
fase	CP-Sil 5, CP Sil 7, oven prog.		100-220°C
	SE 30 of SE 52	rate	40°C/min
laagdikte	0,5 um	initial hold	4 min
		final hold	65 min
		cool time	4 min
<u>gas-instelling:</u>		<u>Versterker</u>	
draaggas Helium		<u>E.C. linearizer:</u>	
constante druk	1,2-1,5 bar	attenuation	2
op de kolom		relatieve puls	0,5 us
lineaire gassnelheid	20-35 cm/s		
"Make-up" argon/	20 ml/min	recorder	1 m V
methaan			
"Purge" argon/	30 ml/min		
methaan		<u>Electrometer (puls mode):</u>	
		input attenuation	10 ²
		output attenuation	4
		pulse rate	270 us
		pulse wijdte	3 us
		backing range	med.
		recorder	5 m V

7. Identificatie en berekening

Identificatie van de in een chromatogram van een monster waargenomen pieken vindt plaats aan de hand van de relatieve retentietijden t.o.v. de interne standaarden, voor de snelst chromatograferende componenten wordt de relatieve retentietijd berekend t.o.v. PCA en voor de overige t.o.v. Mirex (zie opm. 8.10). De retentietijd wordt gemeten vanaf het injectiepunt, niet vanaf de oplospiek.

Bij een positieve identificatie wordt de concentratie in het monster berekend door vergelijken van de piekhoogte van het monster met die van de standaard (1,0 ml PCB mengsel (bijlage 1) en 4,0 ml interne standaarden mengsel (3.14) verdund tot 20 ml).

Correctie voor injectiefouten en veranderingen van de gevoeligheid e.d. zie opm. 8.11.

8 Opmerkingen

- 8.1 Dit resulteert in detectiegrenzen voor de hoger gechloreerde bifenylen bij gebruikmaking van deze methode van minimaal:

krachtvoeder	0,2 ppb	op	produktbasis
melk/kaas	2 ppb	op	vetbasis
eieren	1 ppb	op	eigeelbasis
vis	1 ppb	op	produktbasis
slib/grond/ruwvoeder	0,3 ppb	op	produktbasis

- 8.2 Bij de verzeping blijven PCB, HCB, Dieldrin, Endrin en pp'-DDE onveranderd; pp'-DDT wordt omgezet in pp'-DDE; pp'-TDE in zijn olefine, de HCH's en γ -Heptachloorepoxide worden omgezet in verbindingen die de bepaling van PCB niet storen. Clean-up van extracten over aluminiumoxide gedesactiveerd met 5% water met 10 ml pentaan geeft in het eluaat PCB, HCB en pp'-DDE. Dieldrin en endrin blijven achter op de kolom.

(Alvorens een nieuwe batch aluminiumoxide in gebruik genomen wordt, dient deze gecontroleerd te worden op een selectieve elutie.)

Onder de omstandigheden beschreven onder 5.5 mag in het eluaat geen dieldrin aanwezig zijn en moet de elutie van het PCB mengsel volledig zijn.

HCB stoort de PCB bepaling niet, pp'-DDE kan samenvallen met 234-2'5' pentaanchloorbifenyyl (dit geldt zowel voor een CP-Sil 5, CP-Sil 7, SE-30 als een SE-52 kolom met een programmering zoals omschreven bij 6.4).

- 8.3 De capillaire kolom moet getest worden onder optimale isotherme omstandigheden (220°C), ten opzichte van 2,3,4-2'4'5' hexachloorbifenyyl.

Van een oplossing die 0,2 $\mu\text{g/ml}$ bevat wordt 5 μl geïnjecteerd, splitverhouding 1 op 20.

Voor een goede scheiding van de afzonderlijke gechloreerde bifenylen is vereist dat de kolom een schotelgetal heeft van minimaal 60.000.

- 8.4 Glaswerk dat besmet is met PCB's spoelen met een Biotex oplossing.
- 8.5 Het PCB-gehalte van eieren wordt gegeven op heel-ei basis, dus moet van het monster de verhouding eigeel-eiwit bepaald worden (ca. 1:2).
- 8.6 Bij de monster plus standaard bepaling moet bij toevoeging van de hoeveelheid standaard rekening gehouden worden met de te verwachten besmetting in het monster (b.v. vis).
- 8.7 Bij de analyse van eieren wordt ingedampt tot een volume van ca. 4 ml, dit i.v.m. mogelijke stolling van het eigeel extract. (Verwarm het door de N₂ stroom afgekoelde extract eventueel). Elueer ook dan (5.5) met 8 ml.
- 8.8 Het indampen van de oplosmiddelen bij een hoge temperatuur en een te snelle stikstof stroom kunnen verliezen van PCB's veroorzaken.
- 8.9 De in punt 6.4 gegeven instellingen van de parameters zijn onderling afhankelijk, de gebruiker dient steeds te overwegen of en zo ja welke parameters aangepast dienen te worden.
- 8.10 Indien toxafeen in het monster aanwezig is dan ontstaat er een dusdanig complex piekenpatroon dat het in enkele gevallen onmogelijk is de PCB-component juist te berekenen. Toxafeen en PCB's kunnen van elkaar gescheiden worden door elutie over silicagel (5 gr gedroogd bij 150°C). De PCB-componenten komen van de kolom door elutie met 30 ml hexaan. Eventueel kan ook toxafeen bepaald worden na elutie met 30 ml hexaan-ether (4:1).
- 8.11 Correctie van de piekhoogte is mogelijk m.b.v. de interne standaarden doordat er zowel in de monsters als in de standaardoplossing gelijke concentraties aanwezig zijn.

Literatuur:

1. B. Zimmerli; B. Marek: Mitt. Geb. Lebensmittel Untersuchung und Hygiene 63 (1972) 273-289.
2. P.M.J. van den Berg; T.P.H. Cox: Chromatographia 5 (1972) 301-305.
3. K. Grob; G. Grob: Chromatographia 5 (1972) 3-12.
4. Intern verslag pr.nr. 8.265 dd. 1977-12-12.
5. Intern verslag pr.nr. 7.263 dd. 1978-06-26.
6. Intern voorschrift F 24.
7. Intern voorschrift F 25.
8. Intern voorschrift F 39.
9. Intern voorschrift F 42.

HK/W

F26.11

TABEL 1

Samenstelling van het PCB standaardmengsel bestaande uit
22 gechloreerde bifenylen

structuur	concentratie ug/ml	structuur	concentratie ug/ml
2-	2	2,4,5-2'4'5'	0,2
4-	2	2,3,4,5-2'5'	0,2
2,4-4'	0,2	2,3,4-2'4'5'	0,2
3,4-2'	0,2	2,3,5,6-2'4'5'	0,2
2,5-2'5'	0,2	2,3,4-2'3'4'	0,2
2,4-2'5'	0,2	2,3,4,5,6-2'5'	0,2
2,3-2'5'	0,2	2,3,4,5-2'4'5'	0,2
2,5-3'5'	0,2	2,3,4,5-2'3'4'	0,2
2,5-3'4'	0,2	2,3,4,5-2'3'5'6'	0,2
2,4,5-2'5'	0,2	2,3,4,5-2'3'4'5'	0,2
2,4,5-2'3'	0,2	2,3,4,5,6-2'3'4'5'	0,2