Afd. Contaminanten 1981-07-30

VERSLAG 81.62 Pr.nr. 404.0400

Onderwerp: Het gehalte aan gechloreerde bifenylen (PCB) in paling.

Voorgaande verslag: 81.13 dd. 1981-02-22
Pr.nr. 3.369

Bijlage: Intern Analysevoorschrift F 49

Verzendlijst: direkteur, sektorhoofden (3x), afd. Contaminanten (7x), Projektbeheer, Normalisatie, Werkgroep LAC Visverontreiniging, Mol (Dir. VKA), Kloet (Dir. VKA), v.d. Meijs (Dir. VKA).

8162

Afdeling Contaminanten 1981-07-30

VERSLAG 81.62 Pr.nr. 404.0400

Project: Onderzoek naar het voorkomen, gehalte en stapeling van diverse organische contaminanten in landbouw en visserijprodukten

Onderwerp: Het gehalte aan gechloreerde bifenylen (PCB) in paling.

Voorgaand verslag: 81.13 dd. 1981-02-22 Pr.nr. 3.369.

Bijlage: Intern Analysevoorschrift F 49

Doel:

Overzicht te geven van het gehalte aan gechloreerde bifenylen in palingen bepaald m.b.v. de monitoringkomponenten 2,4-4' trichloorbifenyl, 2,5-2'5' tetrachloorbifenyl, 2,4,5-2'5' pentachloorbifenyl, 2,3,4-2'4'5' hexachloorbifenyl, 2,4,5-2'4'5' hexachloorbifenyl en 2,3,4,5-2'4'5' heptachloorbifenyl.

Bepaling van het aandeel van deze zes monitoringkomponenten in het totaal PCB-gehalte en toetsing aan de afgeleide norm (voor de zes monitoringkomponenten) van 2,0 mg/kg.

Samenvatting/Conclusie:

Onderzocht werden 33 monsters nederlandse paling en 6 monsters buitenlandse paling op gechloreerde bifenylen. De nederlandse monsters waren vnl. afkomstig uit het gebied waarin op advies van het Ministerie van Landbouw en Visserij geen paling gevangen en verhandeld mocht worden.

Het totaal gehalte van de zes monitoringkomponenten werd getoetst aan de afgeleide norm van 2,0 mg/kg op produkt gebaseerd op een aandeel van 40% van deze komponenten in het totaal PCB-gehalte. In dit geval voldoen 8 monsters niet aan de afgeleide norm van 2,0 mg/kg. Daar het werkelijke aandeel van deze komponenten in het totaal PCB-gehalte wel in de buurt van de 40% ligt (gemiddeld 38%) maar een grote spreiding vertoont (VC = 12%), waardoor ten onrechte monsters niet afgekeurd worden, is per monster de afgeleide norm voor de zes komponenten bepaald. Met deze per monster afgeleide norm zouden 11 monsters afgekeurd moeten worden. Dit aantal wordt ook bereikt wanneer getoetst wordt aan de norm van 5,0 mg/kg voor het totaal PCB-gehalte in het monster.

In dit verslag wordt een voorstel gedaan om te komen tot een verfijning van de in verslag 81.13 voorgestelde normen voor paling d.m.v. het vaststellen van individuele normen voor de zes monitoringkomponenten gebaseerd op het maximum percentage van deze chloorbifenyl in een technisch mengsel. Deze afgeleide individuele normen bedragen resp. voor 2,4-4' trichloorbifenyl 0,5 mg/kg, voor 2,5-2'5' tetrachloorbifenyl 0,2 mg/kg, voor 2,4,5-2'5' pentachloorbifenyl 0,4 mg/kg, voor 2,3,4-2'4'5' hexachloorbifenyl 0,5 mg/kg, voor 2,4,5-2'4'5' hexachloorbifenyl en voor 2,3,4,5-2'4'5' heptachloorbifenyl 0,75 mg/kg op produkt voor paling. Als twee of meer van deze afgeleide individuele normen worden overschreden zou tot afkeuring moeten worden overgegaan. Op deze manier worden alle monsters die de afgeleide norm voor de som van de zes monitoringkomponenten van 2,0 mg/kg overschrijden ook afgekeurd. Hetzelfde geldt in vergelijking tot de norm van 5,0 mg/kg voor het totaal PCB-gehalte.
De afwijking in het aandeel van de zes monitoringkomponenten t.o.v. het gemiddelde wordt veroorzaakt door een plaatselijk in dat gebied (Ketelmeer, Zwartemeer, Biesbosch, Merwede, Hollands Diep) aanwezige hoge besmetting met lagere chloorbifenylen.
Tussen Sambeek en Poederoyen wordt in de Maas een toename van de PCB-contaminatie gemeten.
De buitenlandse palingen voldoen in alle opzichten aan de voorgestelde criteria voor PCB's.

Verantwoordelijk: ir L.G.M.Th. Tuinstra
Medewerkers/Samenstellers: A.J. v. Munsteren, A.H. Roos

1. Inleiding:

Uit onderzoek van het Rijksinstituut voor Visserijonderzoek (RIVO) IJmuiden was gebleken dat het voorgestelde maximum toelaatbare gehalte aan gechloreerde bifenylen in paling van 5,0 mg/kg op produktbasis in de Rijn, Maas, Waal, IJssel, Maas-Waalkanaal, Merwede, Lek, Bergsche Maas, Hollands Diep, Haringvliet, Biesbosch, Nieuwe Waterweg en Ketelmeer ruimschoots wordt overschreden (1).
Vooruitlopend op de publikatie van deze norm in de Warenwet was, in het belang van de volksgezondheid en ter voorkoming van ongerustheid bij de consument t.a.v. de consumptie van paling, een persbericht van het Ministerie van Landbouw en Visserij uitgegaan met het advies in deze gebieden geen paling meer te vangen en te verhandelen.
Ter ondersteuning van deze maatregel was het gewenst recente gegevens ter beschikking te hebben. Het RIKILT werd dan ook verzocht analysecapaciteit voor de monitoring van palingen beschikbaar te stellen.
Begin 1981 was door het RIKILT een discussienota gepubliceerd (2) waarin voorstellen werden gedaan hoe op betrekkelijk eenvoudige, maar wel eenduidige wijze individuele chloorbifenylen bepaald kunnen worden en hoe deze individuele waarden zijn te gebruiken voor trend- en monitoringdoeleinden. De som van de zes voor monitoring toegepaste chloorbifenylen (te weten 2,4-4' trichloorbifenyl, 2,5-2'5' tetrachloorbifenyl, 2,4,5-2'5' pentachloorbifenyl, 2,3,4-2'4'5' hexachloorbifenyl, 2,4,5-2'4'5' hexachloorbifenyl en 2,3,4,5-2'4'5' heptachloorbifenyl) maakte in paling ca. 40% van het totaal aan PCB's uit en deze som mocht dan ook een van de tolerantie voor totaal PCB's afgeleide norm niet overschrijden. Deze afgeleide norm bedroeg voor paling 40/100 x 5,0 mg/kg = 2,0 mg/kg op produkt.

2. Monstermateriaal

2.1 Monstername:

De palingmonsters zijn door de Haring Controle Dienst genomen. Naast 33 nederlandse zijn voor vergelijking ook 6 monsters buitenlandse paling genomen. De monsters bestonden uit verschillende aantallen paling.

In tabel 1 is het aantal palingen per monster aangegeven, de range bedroeg 2-31 stuks (gemiddeld 8) voor de nederlandse en 1-4 stuks (gemiddeld 3) voor de buitenlandse monsters. In figuur 1 zijn globaal de vangplaatsen aangegeven van de nederlandse monsters.

2.2 Monstervoorbewerking:

Na verwijdering van de ingewanden en het vel van de paling werd uit elk monster palingen een mengmonster samengesteld door van elke paling 20 gram van het eetbare gedeelte te nemen en deze tezamen fijn te malen en te homogeniseren.

3. Analysemethode:

Het vet werd uit vijf gram gehomogeniseerde paling geisoleerd volgens de methode van Bligh en Dyer (3,4). (Extractie met methanol, water en chloroform). Het vet werd opgelost in een mengsel van tolueen/ethylacetaat (1:1 v/v). Met behulp van een injectieautomaat werd een aliquot op de gelpermeatiekolom gebracht waardoor chloorbifenylen van het vet werden gescheiden. De chloorbifenylfraktie werd apart uitgevangen. In deze fraktie werden de chloorbifenylen na een clean-up over aluminiumoxide gaschromatografisch $(GC)^2$ bepaald. Details van de analysemethode zijn te vinden in Intern Analysevoorschrift nr. F 49 dat als bijlage aan dit verslag is toegevoegd.

4. Apparatuur:

4.1 GPC-omstandigheden

De omstandigheden en instelling van de GPC apparatuur waren zoals aangegeven in Intern Analysevoorschrift F 49 (zie bijlage).

4.2 GC omstandigheden

Tracor 550 gaschromatograaf, glazen capillair WCOT, lengte 25 m, inwendige diameter 0,2 mm, fase CP-Sil 7, laagdikte 0,25 µm.
Dragergas: Helium.
Make up gas: 20 ml/min Ar/CH_4 5%.
Purge gas : 30 ml/min Ar/CH_4 5%.
Temperaturen: Injector: 220°C
E.C.-detector: 310°C.

Oven: 4 minuten 100°C, temp. programma 30°C/min tot 220°C.
Injectievolume 5 µl splitloos.

5. Identifikatie en kwantifikatie

In de monsters werden van alle pieken de relatieve retentietijden t.o.v. de interne standaard Mirex berekend en vergeleken met die van een standaardmengsel chloorbifenylen (figuur 2). In tabel 2 is de samenstelling van het standaardmengsel gegeven. Voor de kodering is gebruik gemaakt van de nummering volgens de IUPAC-regels (5).
Kwantifikatie van de geidentificeerde komponenten vond plaats door vergelijking van de piekhoogte met de piekhoogte van de overeenkomstige standaard.

6. Betrouwbaarheid van de analyse

6.1 Blanko's chemikaliën

In de chromatogrammen van twee blanko's chemikaliën werden geen pieken aangetroffen welke met meer dan 0,002 mg/kg individuele chloorbifenyl overkomen.

6.2 Recoveryproeven

Vijf recoveryproeven waarbij standaardoplossing chloorbifenylen aan een palingmonster was toegevoegd op het 0,4 mg/kg niveau per individuele komponent gaven voor de zes monitoringkomponenten 28, 52, 101, 138, 153 en 180 resp. een gemiddelde recovery van 97 (13%); 91 (3,2%); 89 (4,7%); 103 (8,0%); 94 (8,9%) en 97 (10%) met tussen haakjes de variatiecoefficient.

7. Resultaten

Zoals in de inleiding reeds aangegeven was het in eerste instantie de bedoeling de gehalten aan de zes individuele chloorbifenylen te bepalen en te sommeren conform discussienota 81.13.
De zes bedoelde komponenten zijn;

nr. 28	2,4-4'	trichloorbifenyl,
nr. 52	2,5-2'5'	tetrachloorbifenyl,
nr. 101	2,4,5-2'5'	pentachloorbifenyl,
nr. 138	2,3,4-2'4'5'	hexachloorbifenyl,
nr. 153	2,4,5-2'4'5'	hexachloorbifenyl,
nr. 180	2,3,4,5-2'4'5'	heptachloorbifenyl.

In tabel 1 worden naast vangplaats, aantal palingen per monster en het gemiddelde vetgehalte van dat monster de analyseresultaten voor bovengenoemde zes komponenten afzonderlijk en de som van deze gehalten gegeven.
Om de voorstellen uit nota 81.13 nog eens te kunnen toetsen en daardoor meer inzicht te krijgen in het aantal monsters dat ten onrechte afgekeurd cq. goedgekeurd zou worden was het noodzakelijk om ook het totaal PCB-gehalte te bepalen.
Dit geschiedde als volgt: in de monsters werden alle bekende chloorbifenylen (tabel 2) gekwantificeerd. Daarnaast zijn er een aantal nog niet geidentificeerde chloorbifenylen. Met behulp van GC-MS onderzoek is van deze onbekenden het aantal Cl-atomen per molekuul bepaald (6,7). Met behulp van de gemiddelde response van geidentificeerde chloorbifenylen met hetzelfde aantal Cl-atomen werd voor de niet geidentificeerde chloorbifenylen met een gelijk aantal Cl-atomen een gehalte geschat. De som van totaal geidentificeerd en totaal geschat benadert het totaal PCB-gehalte.
In tabel 3A wordt voor de nederlandse paling per monster de som van de gehalten van de zes monitoring komponenten (ontleend aan tabel 1, laatste kolom), het totaal PCB-gehalte en het percentage van de zes monitoringkomponenten ten opzichte van het totaal PCB-gehalte gegeven.
Onderaan tabel 3A is voor de percentages het gemiddelde, de standaardafwijking en de variatiecoefficient gegeven.

8. Discussie

Door de Landbouw Advies Commissie is een norm voor het totaal PCB-gehalte in paling voorgesteld van 5,0 mg/kg op produkt.
De in de afgelopen vier jaar op het RIKILT uitgevoerde werkzaamheden hebben duidelijk gemaakt dat de enige universele analysemethode gebaseerd moet zijn op de bepaling van de individuele chloorbifenylen d.m.v. capillaire gaschromatografie (8).
In discussienota 81.13 wordt aangegeven dat in vele gevallen kan worden volstaan met de bepaling van slechts zes gedefinieerde chloorbifenylen. Aangezien deze zes komponenten tezamen in paling ongeveer 40% van het totaal uitmaken werd een afgeleide tolerantie voor de som van deze zes voorgesteld te weten 40/100 x 5,0 = 2,0 mg/kg op produkt.

Uit tabel 3A (tweede kolom) blijkt dat van de nederlandse palingmonsters acht monsters niet voldoen aan deze afgeleide tolerantie van 2,0 mg/kg.
In tabel 3 A (derde kolom) is het totaal PCB-gehalte (som van de geidentificeerde en geschatte onbekende chloorbifenylen) gegeven. Toetsing aan de norm van 5,0 mg/kg levert elf overschrijdingen op. Deze discrepantie kan als volgt verklaard worden.
Uit de vierde kolom van tabel 3A blijkt dat het aandeel van de zes komponenten gemiddeld wel in de buurt van de 40% ligt (38%) maar een grote spreiding vertoond (V.C. 12%). Er blijken nogal wat monsters voor te komen waarin het percentage van de zes aanzienlijk afwijkt (lager) van 40%. Voor deze monsters is de afgeleide tolerantie niet gelijk aan 2,0 mg/kg.
Daarom is in tabel 3B per monster de afgeleide tolerantie gegeven (= percentage wat de zes uitmaken van het totaal/100 x 5,0 mg/kg). Toetsing levert nu ook elf overschrijdingen op; dus nu wel een goede overeenstemming met de resultaten van het totaal PCB-gehalte.

Dat het aandeel van de zes in het totaal nogal spreidt is verklaarbaar door het feit dat recentelijk is ontdekt (1) en ook uit dit onderzoek naar voren komt (zie onder) dat verschillende wateren in Nederland extra verontreinigd zijn met lager gechloreerde PCB's. Ofschoon daardoor het aandeel van vooral komponent 28 en in mindere mate komponent 52 in de zes monitoring komponenten stijgt gaat echter het totaal PCB-gehalte (som geidentificeerde en geschatte) veel sterker omhoog waardoor het aandeel van de zes in het totaal omlaag gaat.
Dit resulteert bij toetsing aan de afgeleide norm van 2,0 mg/kg in een aantal ten onrechte goedgekeurde monsters. Dit betekent voor paling dat de in nota 81.13 voorgestelde procedure verfijning behoeft.
Voor vissen geldt dat, vergeleken met warmbloedige organismen, betrekkelijk weinig metabolisering van de oorspronkelijke technische PCB-mengsels plaatsvindt (9).
Vooral in vissen is de gelijkenis tussen het PCB-patroon met dat van mengsels van technische Aroclor-mengsels het grootst.

Van dit fenomeen kan gebruik worden gemaakt door voor vissen voor elk van de zes monitoring komponenten tevens een individuele tolerantie vast te stellen. De gedachtengang is als volgt.
De oorspronkelijke totaal PCB tolerantie van 5,0 mg/kg is gebaseerd (Food and Drug Administration) op kwantifikatie met technische PCB mengsels. Met andere woorden het is toegestaan dat bijv. alleen 5 mg/kg Aroclor 1260 of alleen 5 mg/kg Aroclor 1221 of 2,5 mg/kg van beide mengsels aanwezig is. De huidige USA controle werkt nog steeds zo (op gepakte kolommen) (10). Wanneer nu voor de diverse technische Aroclor mengsels bekend is wat het maximale aandeel is van elk van de zes komponenten, kan voor elk van die zes een individuele tolerantie worden vastgesteld. Bijv. uit rapport 81.13 blijkt dat voor 2,4,5-2'4'5' hexachloorbifenyl (nr. 153) het maximale gehalte in één van de technische Aroclor mengsels 10% bedraagt. De individuele tolerantie bedraagt dan 10/100 x 5 = 0,5 mg/kg.
Voor komponent 28 geldt eveneens een maximum gehalte van 10% in Aroclor 1242, dit levert een tolerantie op van 0,5 mg/kg.
In tabel 4 worden voor de zes komponenten de maximum gehalten in één der Aroclor mengsels en de hieruit afgeleide toleranties gegeven.
Voor de praktijk betekent dit dat voor paling naast een afgeleide tolerantie van 2,0 mg/kg voor de som van de zes komponenten ook nog eens getoetst moet worden aan de afgeleide individuele toleranties in tabel 4. Wanneer een van deze individuele afgeleide toleranties wordt overschreden zou men kunnen stellen dat het PCB-gehalte in het monster te hoog is en dat derhalve afkeuring gerechtvaardigd is. In tabel 3C worden per komponent nog eens alleen die waarden aangegeven die één van de individuele toleranties overschrijden. In totaal zijn er vijftien monsters die één of meer van de afgeleide individuele toleranties overschrijden.

Vier monsters worden op slechts één overschrijding afgekeurd. Vergelijken we nu de resultaten voor deze vier monsters met de resultaten in tabel 3A en 3B dan zou het in die gevallen beter zijn een PCB-totaal bepaling uit te voeren en te kijken of de 5,0 mg/kg norm wordt overschreden.

Voor de vier monsters is dat slechts eenmaal het geval (nr. 18145). Praktischer lijkt het te stellen dat tenminste twee individuele toleranties overschreden moeten worden alvorens tot afkeuring over te gaan.

Uit de resultaten van dit onderzoek naar gechloreerde bifenylen in palingen blijkt dat in de rivier de Maas stroomafwaarts een toename van het PCB-gehalte is waar te nemen.
Tussen vangplaatsen is d.m.v. meting van individuele componenten een verschil in besmettingspatroon waar te nemen.
In fig. 3 wordt het chromatogram gegeven van een paling met een normale PCB-besmetting en in fig. 4 van een paling waarin veel lager gechloreerde bifenylen voorkomen.

9. Conclusie:

1. In Nederland is plaatselijk een hogere verontreiniging met lagere PCB's aanwezig waardoor een grote variatie in het PCB-patroon in paling optreedt.
2. Bij het toetsen van de som van de gehalten van de zes individuele chloorbifenylen aan de afgeleide tolerantie van 2,0 mg/kg zoals voorgesteld in RIKILT-discussienota 81.13 (2) worden een aantal monsters ten onrechte niet afgekeurd.
3. Door een verfijning aan te brengen nl. tevens het vaststellen van individuele afgeleide toleranties voor elk van de zes monitoringkomponenten, kan voorkomen worden dat palingen met te hoge PCB-gehalten worden goedgekeurd.
   Voor paling zijn deze normen resp. 0,5 mg/kg voor 2,4-4' trichloorbifenyl, 0,2 mg/kg voor 2,5-2'5' tetrachloorbifenyl, 0,4 mg/kg voor 2,4,5-2'5' pentachloorbifenyl, 0,5 mg/kg voor 2,4,5-2'4'5' hexachloorbifenyl, 0,5 mg/kg voor 2,3,4-2'4'5' hexachloorbifenyl en 0,75 mg/kg op produkt voor 2,3,4,5-2'4'5' heptachloorbifenyl.
4. Een zestal onderzochte buitenlandse palingmonsters voldoen in alle opzichten aan de voorgestelde criteria voor PCB's.

10. Voorstellen voor normen voor PCB in paling

1. De som van de zes monitoringkomponenten

nr. 28	2,4-4'	trichloorbifenyl
nr. 52	2,5-2'5'	tetrachloorbifenyl
nr. 101	2,4,5-2'5'	pentachloorbifenyl
nr. 138	2,3,4-2'4'5'	hexachloorbifenyl
nr. 153	2,4,5-2'4'5'	hexachloorbifenyl
nr. 180	2,3,4,5-2'4'5'	heptachloorbifenyl

mag de afgeleide norm van 2 mg/kg op produktbasis niet overschrijden (2).

2. Twee of meer van de onderstaande afgeleide normen mogen niet tegelijk overschreden worden

0,5	mg/kg	2,4-4'	trichloorbifenyl,
0,2	mg/kg	2,5-2'5'	tetrachloorbifenyl,
0,4	mg/kg	2,4,5-2'5'	pentachloorbifenyl,
0,5	mg/kg	2,3,4-2'4'5'	hexachloorbifenyl,
0,5	mg/kg	2,4,5-2'4'5'	hexachloorbifenyl,
0,75	mg/kg	2,3,4,5-2'4'5'	heptachloorbifenyl.

11. Literatuur:

1. M. Kerkhoff, J. de Boer, A. de Vries
RIVO-rapport CA 81-01.

2. RIKILT-discussienota 81.13 pr.nr. 3.369 dd. 1981-02-02.

3. E.G. Bligh, W.J. Dyer
Can. J. Biochem. Physiol. (1959) 37 911-917.

4. RIKILT-intern analysevoorschrift F 54.

5. K. Ballschmiter, M. Zell
Fres. Z. Anal. Chem. (1980) 302, 20-31.

6. RIKILT-verslag 80,39 pr.nr. 7.263 dd. 1980-08-29.

7. RIKILT-verslag 81.14 pr.nr. 7.263 dd. 1981-01-16.

8. RIKILT-rapport pr.nr. 3.436 dd. 1980-04-09.

9. M. Zell, K. Ballschmiter
Fres. Z. Anal. Chem. (1980) 304 337-349.

10. L.D. Sawyer
J. AOAC (1978) 61 272-281.

Tabel 1: Het gehalte aan zes individuele gechloreerde bifenylen in mg/kg op produkt in paling.

Nr.	RIKILT nummer	Herkomst	Aantal palingen	% Vet	2,4-4' nr. 28	2,5-2'5' nr. 52	2,4,5-2'5' nr. 101	2,3,4-2'4'5' nr. 138	2,4,5-2'4'5' nr. 153	2,3,4,5-2'4'5' nr. 180	totaal
1	18028	Polder bij Groot Ammers	5	12,9	0,012	0,042	0,023	0,065	0,091	0,021	0,25
2	18029	Reeuwijkse Plassen	4	18,1	<0,005	0,010	0,005	0,009	0,013	0,007	0,05
3	18030	Ravenbergse Plas	4	21,0	0,009	0,014	0,013	0,019	0,024	0,014	0,09
4	18031	Vlissingen	13	9,6	0,018	0,080	0,086	0,18	0,23	0,10	0,69
5	18032	Stroomkanaal Nieuwerkerk aan de IJssel	6	12,5	0,059	0,16	0,27	0,44	0,51	0,21	1,6
6	18043	Nieuwkoopse Plas	2	7,0	0,012	0,023	0,017	0,037	0,048	0,015	0,15
7	18144	Maasvlakte	4	10,1	0,062	0,079	0,083	0,21	0,24	0,12	0,79
8	18145	Stellendam	4	13,9	0,14	0,29	0,27	0,29	0,34	0,16	1,5
9	18146	Polder bij Heerewaarden	4	14,2	0,067	0,21	0,21	0,25	0,35	0,12	1,2
10	18650	Zwarte meer	12	23,1	0,087	0,24	0,25	0,46	0,51	0,24	1,8
11	18651	Ketelmeer	13	23,4	0,14	0,36	0,40	0,62	0,71	0,29	2,5
12	18681	Uitgeestermeer	4	21,1	0,008	0,038	0,031	0,064	0,091	0,024	0,26
13	18682	IJssel bij Kampen	6	10,9	0,053	0,16	0,18	0,32	0,37	0,17	1,3
14	19071	Maas bij Lith	10	24,6	0,054	0,21	0,31	0,53	0,59	0,43	2,1
15	19456	Merwede bij Woudrichem	8	17,6	0,097	0,38	0,52	0,66	0,63	0,26	2,5
16	19458	Maas bij Poederoyen	16	18,7	0,064	0,11	0,28	0,96	1,2	1,1	3,7
17	19459	Maas bij Veen	8	6,4	<0,005	0,010	0,009	0,027	0,038	0,016	0,10
18	19460	Maas bij Sambeek	10	14,7	0,036	0,22	0,23	0,45	0,46	0,29	1,7
19	19907	Dordsche Biesbosch	18	19,9	0,11	0,43	0,82	1,2	1,2	0,72	4,5
20	19908	Hollands Diep	8	10,5	0,034	0,11	0,19	0,40	0,42	0,25	1,4
21	19909	Kanaal bij Vlissingen	6	6,2	0,007	0,014	0,007	0,036	0,038	0,017	0,12
22	19910	Hollands Diep	31	10,9	0,065	0,17	0,29	0,51	0,53	0,32	1,9
23	19911	Zuiderdiep	11	17,3	0,045	0,097	0,16	0,33	0,34	0,20	1,2
24	19912	De Mark bij Zevenbergen	6	12,9	0,014	0,012	0,037	0,064	0,065	0,040	0,23
25	19913	Grevelingen	9	11,3	0,007	0,019	0,034	0,10	0,098	0,045	0,30
26	19914	Binnenmaas	7	10,8	<0,005	0,011	0,015	0,037	0,039	0,021	0,13
27	19915	Rijsoord bij Hendrik Ido Ambacht	7	13,7	0,007	0,020	0,030	0,092	0,093	0,050	0,29
18	19953	Noorderwel van Hollands Diep	8	20,3	0,15	0,40	0,50	0,73	0,69	0,50	3,0
29	19954	Landen van Essche,Esscheplaat	2	21,4	0,023	0,051	0,086	0,17	0,16	0,098	0,59
30	19956	Amer tussen Drimmelen en Lage Zwaluwe	5	7,3	0,022	0,10	0,17	0,54	0,51	0,47	1,8

Tabel 1: Vervolg

Nr.	RIKILT nummer	Herkomst	Aantal palingen	% Vet	2,4-4' nr. 28	2,5-2'5' nr. 52	2,4,5-2'5' nr. 101	2,3,4-2'4'5' nr. 138	2,4,5-2'4'5' nr. 153	2,3,4,5-2'4'5' nr. 180	totaal
31	19957	Kerk en Zaane bij Alphen aan de Rijn	7	14,4	0,049	0,19	0,29	0,58	0,56	0,39	2,1
32	19958	Hollands Diep bij Moerdijk	7	19,2	0,067	0,24	0,48	0,87	0,85	0,65	3,2
33	20717	Aarkanaal bij Ter Aar	3	21,7	0,013	0,042	0,063	0,081	0,11	0,053	0,36
34	18143	Arles, Frankrijk	4	13,6	0,009	0,010	0,012	0,061	0,099	0,035	0,23
35	18147	Kustlijn Valencia Taragona, Spanje	4	14,1	<0,005	0,016	<0,005	0,026	0,043	0,017	0,11
36	18148	Meer van Gör, Hongarije	4	16,8	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	<0,03
37	18149	Chesapeakebay, USA	4	5,2	0,013	0,024	0,008	0,030	0,046	0,026	0,16
38	19457	Philadelphia, USA	3	5,8	0,011	0,019	0,014	0,020	0,033	0,014	0,11
39	19955	Philadelphia, USA	1	24,2	0,028	0,082	0,14	0,30	0,32	0,22	1,1

Tabel 2: Samenstelling van het standaardmengsel individuele chloorbifenylen (in volgorde van elutie in figuur 2).

Nummer	Struktuur
28	2,4-4'
52	2,5-2'5'
49	2,4-2'5'
44	2,3-2'5'
72	2,5-3'5'
70	2,5-3'4'
95	2,3,6-2'5'
101	2,4,5-2'5'
97	2,4,5-2'3'
87	2,3,4-2'5'
151	2,3,5,6-2'5'
149	2,3,6-2'4'5'
118	2,4,5-3'4'
153	2,4,5-2'4'5'
141	2,3,4,5-2'5'
138	2,3,4-2'4'5'
187	2,3,5,6-2'4'5'
128	2,3,4-2'3'4'
185	2,3,4,5,6-2'5'
180	2,3,4,5-2'4'5'
170	2,3,4,5-2'3'4'
201	2,3,4,5-2'3'5'6'
194	2,3,4,5-2'3'4'5'

Behalve 2,4,5-3'4' welke kwalitatief is toegevoegd bedraagt de concentratie 5 ng/ml.

Tabel 3: Samenvatting analyseresultaten van monitoring komponenten, totaal PCB-gehalte, aandeel monitoring componenten in totaal PCB gehalte en uit deze resultaten afgeleide normen en overschrijdingen.

3A				3B	3C					
RIKILT nummer	Totaal zes monitoring komponenten mg/kg	Totaal PCB gehalte mg/kg	% van de zes in het totaal	afgeleide tolerantie mg/kg	overschrijdingen van de afgeleide individuele normen nr. 28	nr. 52	nr. 101	nr. 138	nr. 153	nr. 180
18028	0,25	0,57	44	2,2						
18029	0,05	n.t.b.	—	-						
18030	0,09	n.t.b.	—	-						
18031	0,69	1,6	42	2,1						
18032	1,6	4,7	34	1,7					0,51	
18043	0,15	0,35	43	2,2						
18144	0,79	2,0	39	2,0						
18145	1,5	5,6	27	1,3		0,29				
18146	1,2	3,1	38	1,9		0,21				
18650	1,8	5,2	35	1,7		0,24			0,51	
18651	2,5	7,4	34	1,7		0,36		0,62	0,71	
18681	0,26	0,56	47	2,3						
18682	1,3	4,1	31	1,6						
19071	2,1	6,1	34	1,7		0,21		0,53	0,59	
19456	2,5	7,4	33	1,7		0,38	0,52	0,66	0,63	
19458	3,7	8,3	44	2,2				0,96	1,2	1,1
19459	0,10	0,25	40	2,0						
19460	1,7	4,2	40	2,0		0,22				
19907	4,5	12	38	1,9		0,43	0,82	1,2	1,2	
19908	1,4	3,3	42	2,1						
19909	0,12	0,27	45	2,3						
19910	1,9	5,1	37	1,9				0,51	0,53	
19911	1,2	3,1	38	1,9						
19912	0,23	0,67	34	1,7						
19913	0,30	0,72	41	2,1						
19914	0,13	0,33	39	2,0						
19915	0,29	0,77	38	1,9						
19953	3,0	8,8	34	1,7		0,40	0,50	0,73	0,69	
19954	0,59	1,6	36	1,8						
19956	1,8	4,5	40	2,0				0,54	0,51	
19957	2,1	5,8	36	1,8				0,58	0,56	
19958	3,2	9,3	34	1,7		0,24	0,48	0,87	0,85	
20717	0,36	1,1	33	1,7						
n			31							
x			38							
s.d.			4,7							
V.C.			12%							
aantal afkeuringen	8	11		11				11		

n.t.b. = niet te bepalen.

Tabel 5: Het maximum percentage van de individuele monitoringkomponenten in technische Aroclor mengsels en de daaruit afgeleide individuele tolerantie.

komponent	maximum percentage	afgeleide tolerantie
nr. 28	9,6	0,5 mg/kg
nr. 52	3,5	0,2 mg/kg
nr. 101	7,7	0,4 mg/kg
nr. 138	8,8	0,5 mg/kg
nr. 153	9,8	0,5 mg/kg
nr. 180	14,8	0,75 mg/kg



fig. 1 Vangplaatsen

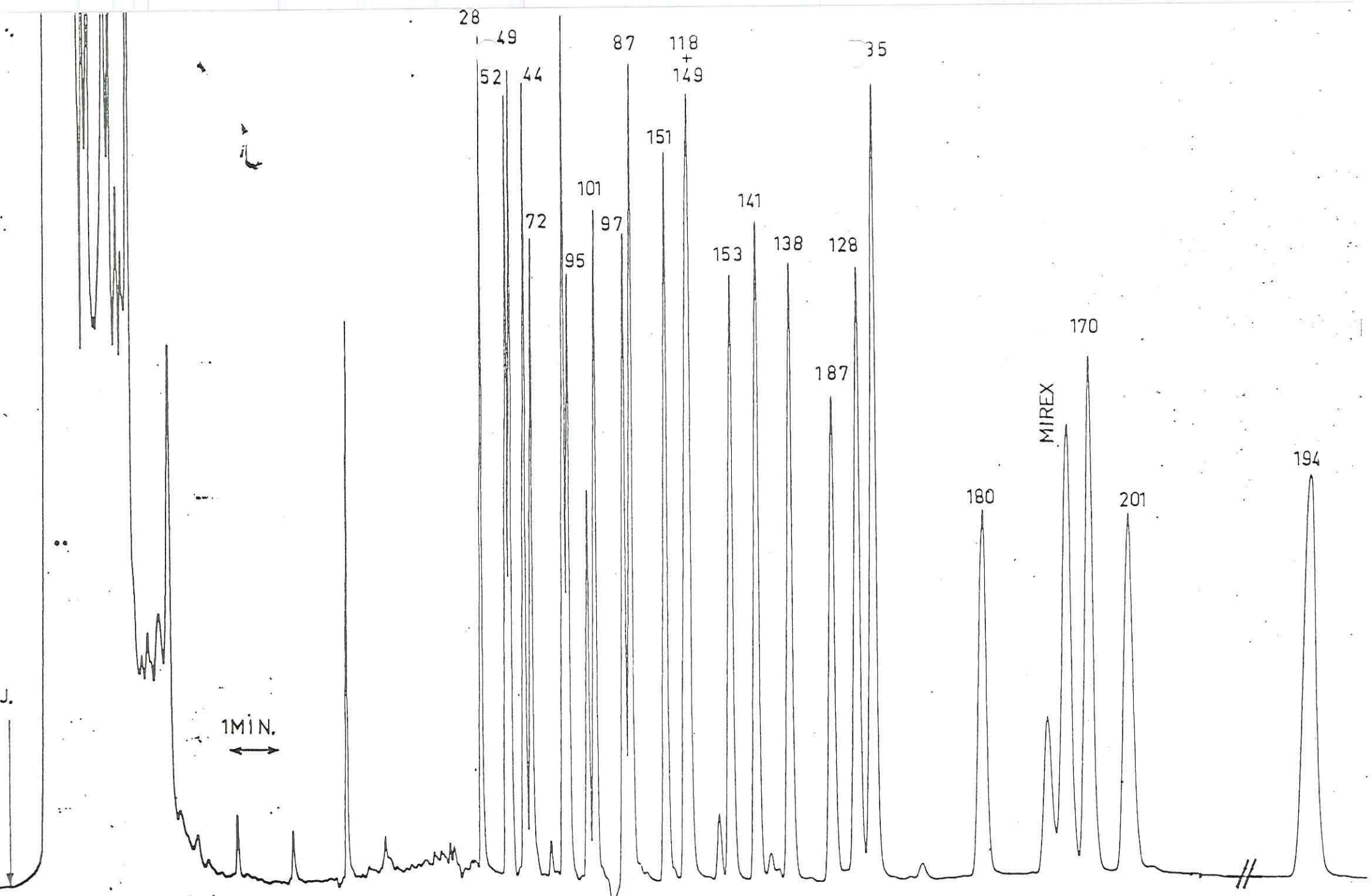


fig. 2 - Chromatogram standaardmengsel individuele chloorbifenylen.

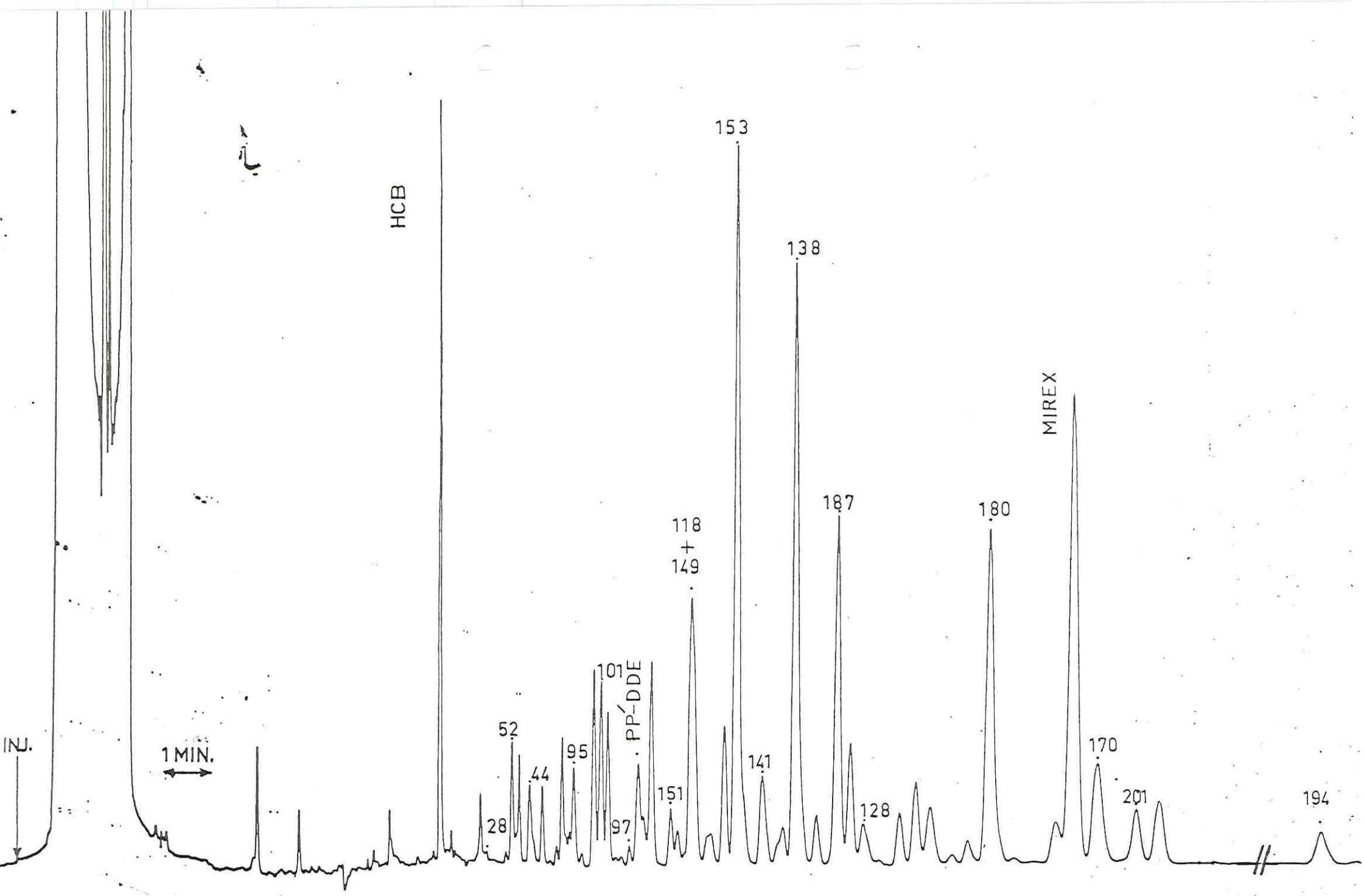


fig. 3 - Chromatogram van paling met meest voorkomende PCB patroon afkomstig uit de Maas (RIKILT nr. 18651)

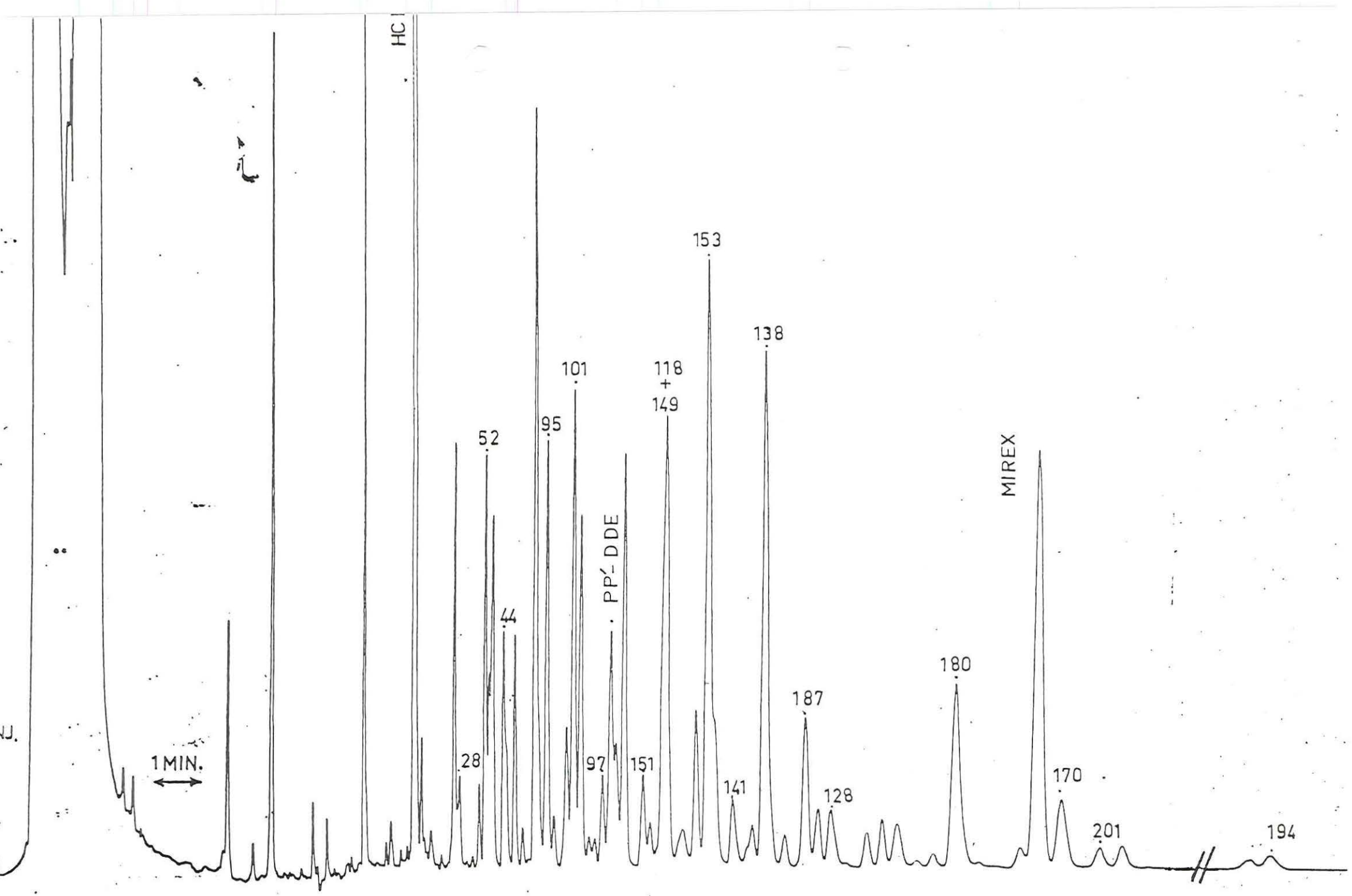


fig. 4 - Chromatogram van paling met veel lagere chloorbifenylen afkomstig uit Ketelmeer (RIKILT nr. 18651)

AFDELING CONTAMINANTEN

INTERN ANALYSEVOORSCHRIFT NR. F 49

(2e oplage dd. 1981-04-03)

De bepaling van organochloorbestrijdingsmiddelen en polychloorbifenylen in boters, dierlijke vetten en vis m.b.v. gelpermeatie- en gaschromatografie (GC^2).

Verzendlijst: afd. Normalisatie,
bibliotheek (15x),
Buizer,
afd. Contaminanten (4x).

AFDELING CONTAMINANTEN

INTERN ANALYSEVOORSCHRIFT NR. F 49
(2e oplage dd. 1981-04-03)

De bepaling van organochloorbestrijdingsmiddelen en polychloorbifenylen in boters, dierlijke vetten en vis m.b.v. gelpermeatie- en gaschromatografie (GC^2).

---

1 Principe

Het vet wordt uit het monster geisoleerd. Een bepaalde hoeveelheid vet wordt opgelost in een mengsel van tolueen-ethylacetaat (1:1 v/v). Met behulp van een injectieautomaat wordt een aliquot op de gelpermeatiekolom gebracht waardoor pesticiden en/of polychloorbifenylen van het vet gescheiden worden. Door gebruik van een automatisch geschakelde driewegkraan en een fractieverzamelaar wordt de pesticiden, respectievelijk PCB-fractie uitgevangen. In deze fracties kunnen pesticiden direct en polychloorbifenylen na een additionele clean-up gaschromatografisch, (GC^2), bepaald worden. Het recoverypercentage voor de organochloorbestrijdingsmiddelen bedraagt gemiddeld 95 procent, range 92-100 en voor de polychloorbifenylen gemiddeld 96 procent, range 88-106 procent. De detectiegrens voor de organochloorbestrijdingsmiddelen varieert van ca. 0,01 mg/kg voor HCB tot 0,1 mg/kg voor pp'-DDT en is voor afzonderlijk polychloorbifenylen ca. 0,025 mg/kg. Deze detectiegrenzen zijn uitgedrukt op vetbasis.

2 Reagentia

2.1 Pentaan, gedestilleerd

2.2 Tolueen p.a.

2.3 Ethylacetaat, zur Rückstandsanalyse, gedestilleerd.

2.4 Aluminiumoxide, basisch, Woelm activiteit 1.
Desactiveer de aluminiumoxide met 5% gedemineraliseerd water.

2.5 Iso-octaan, gedestilleerd.

2.6 Moederoplossing pesticiden (zie opm. 6.1).

2.7 Moederoplossing polychloorbifenylen (zie opm. 6.2).

2.8 Interne standaardoplossing PCA in iso-octaan.
Concentratie: 0,02 µg/ml.

2.9 Standaardoplossing pesticiden.
Verdun 1 ml moederoplossing (zie 2.6) en 5 ml interne standaard-oplossing (zie 2.8) naar 40 ml met tolueen-ethylacetaat (1:1 v/v).

2.10 Standaardoplossing polychloorbifenylen.
Verdun 4 ml moederoplossing (zie 2.7), 8 ml interne standaard-oplossing en 8 ml tolueen-ethylacetaat (1:1 v/v) met iso-octaan naar 40 ml.

3 Apparatuur + glaswerk

3.1 WISP-injectieautomaat met programmeerbaar injectievolume. Bij-behorende monsterflesjes 4 ml met schroefdop en teflon inlage.

3.2 Gelpermeatiekolom. Quickfitkolom met watermantel (kolom 1 = 45 cm, i.d. 1,5 cm).
Kolomvulling: Bio-Beads SX-3.
Eluens : tolueen-ethylacetaat (1:1 v/v).

3.3 HPLC-pomp, Waters M-45.

3.4 Op tijdbasis schakelbare, pneumatisch bediende driewegkraan.

3.5 Refractieindexmeter. Instelling: bereik "8"; tijdconstante "2,5"; polariteit "-".

3.6 Thermostaatbad (40°C) bijv. Haake D2.

3.7 LKB-fractieverzamelaar Ultrarac II.

3.8 Recorder 20 mV; 10 mm/min.

3.9 Droogstoof 60°C.

3.10 Millipor filterset FHLP filters, 0,5 µm.

3.11 Tracor 550 gaschromatograaf uitgerust met een capillaire kolom, EC-detector, injectieautomaat en aangesloten op het SP-data-systeem.

3.12 Chromatografiekolommen voorzien van vloeistofreservoir, lengte 30 cm i.d. 0,7 cm.

3.13 Gecalibreerde opvangbuizen geschikt voor de fractieverzamelaar.

3.14 Soxhletapparatuur.

3.15 Verwarmd zandbad.

4 Werkwijze

4.1 Monstervoorbewerking

4.1.1 Vetten en boters

Verwarm het monster of een representatief gedeelte daarvan bij circa 60°C in een droogstoof. Meng het vloeibare gedeelte en weeg 1 gram af in een maatcilinder van 5 ml.
Vul aan tot 5,0 ml met tolueen-ethylacetaat (1:1 v/v) en meng (zie opm. 6.3). Verwarm indien het vet niet volledig oplost de maatcilinder op een verwarmd zandbad.
Filtreer indien noodzakelijk (zie opm. 6.4) het extract m.b.v. de Millipor filterset, in een monsterflesje bestemd voor de injectieautomaat.

4.1.2 Vissen (opm. 6.5)

Weeg een dusdanige hoeveelheid van het gehomogeniseerde monster af dat het vetresidue 600 mg bedraagt, maar maximaal 10 gram monster. Extraheer het vet volgens de Bligh en Dyer methode (intern voorschrift F 54). Bepaal het gewicht van het vetresidue. Is dit kleiner of gelijk aan 600 mg los het dan op in 3 ml tolueen-ethylacetaat (1:1 v/v). Bij een hoger vetresidue wordt het opgelost in een dusdanige hoeveelheid tolueen-ethylacetaat (1:1 v/v) dat de vetconcentratie ca. 200 mg per ml bedraagt (zie opm. 6.6). Filtreer, indien noodzakelijk (zie opm. 6.4) over een Millipor filter in een monsterflesje voor de injectieautomaat (zie opm. 6.3).

4.2 Gelpermeatiechromatografie

4.2.1 Algemeen

Schakel de HPLC-pomp (0 ml/min), de WISP-injectieautomaat, het thermostaatbad, de RI-detector, de fractieverzamelaar en de recorder in.

4.2.2 Instelling HPLC-pomp

Laat het systeem ca. 30 minuten stabiliseren bij een flow van 0,5 ml/min. Verhoog daarna de flow tot 1 ml/min.

4.2.3 Instelling WISP-injectieautomaat

Toets, na aanzetten van het apparaat, de volgende instructies in:

1) "SYS"
   MES : " 71 " : "enter"
2) "01" : "enter"

3) "SYS"
   MES : " 79" : "enter"
4) "10" : "enter"

5) "SYS"
   MES : " 89 " : " enter"
6) "01" : "enter"

De combinatie van de eerste twee instructies maakt een injectievolume tot 2000 µl mogelijk. De overige vier zorgen ervoor dat na elke automatische injectie de naald en de monsterloop gedurende 1 minuut worden doorgespoeld met eluens.
Open de onderste deur van de WISP, wacht even tot de automaat de monstercaroussel laat "vallen". Neem deze uit de automaat. Plaats twee monsterflesjes met recoverystandaarden (zie opm. 6.7) in de caroussel. Plaats deze terug in de automaat dusdanig dat het eerste flesje zich vóór het injectiepunt bevindt. Sluit de deur en wacht enige ogenblikken. Het rode lampje voor "auto" moet branden en zo niet, druk dan op de toets "auto/single" zodat het gaat branden. Nu worden in de aangegeven volgorde de injectieparameters ingetoetst.

1) " sample "
   no : " 0 " : "enter"

2) " inj. "
   vol : "500" : "enter"

3) " run "
   time : " 25" : "enter"

4) " no of "
   inj. : " 1 " : "enter"
5) " enter"

Van alle monsters wordt nu éénmaal 500 µl geinjecteerd en de analysetijd bedraagt 25 minuten.

4.2.4 Instelling tijdklok d.m.v. proefinjecties

Vul de referentiecel van de RI-detector (zie opm. 6.8) met tolueen-ethylacetaat (1:1 v/v). Zet de tijdklok op "off" en de recorderpen op halve schaaluitslag (20 mV; 10 mm/min).
Druk de toets "run" van de injectieautomaat (deze staat nog op "auto") in. Er zullen dan twee standaardinjecties volgen. De injectie wordt op de recorder weergegeven door een streep.
Circa 15 minuten na injectie verschijnt er op de recorder een piek. Wacht tot na de tweede injectie.
Zet de injectieautomaat stop door nogmaals op de toets "run" te drukken. Meet op het recorderpapier de afstand tussen de twee injecties en van het eerste injectiepunt tot het begin en tot het eind van de piek. Stel op tijdklok I de tijd in die verstrijkt tussen injectie en het begin van de piek (ca. 16 minuten) en op tijdklok II het verschil tussen begin en eindpunt van de piek (ca. 7 minuten). Zet de schakelaar van de tijdklok op "on".

4.2.5 Instelling fractieverzamelaar

Waarden moeten worden ingesteld voor de analysetijd en het aantal uit te vangen monsters. Druk de toets "preset-check" in. Met de knoppen "mode-units" wordt de analysetijd op tiende minuten ingegeven. Deze tijd, circa 36 minuten, is afgelezen bij 4.2.4. Met de knoppen "rack-units" wordt het aantal uit te vangen monsters ingesteld. Eén rack-unit komt overeen met tien monsters. Stel altijd één unit meer in dan dat er monsters zijn (veiligheid). Zet de schakelaar links onder op "stop". Vul de rekken met de benodigde buizen. Plaats deze in de fractieverzamelaar zodat de eerste buis juist onder de druppelteller staat. Breng de stofkappen aan (ca. $1\frac{1}{2}$ cm boven de buizen). Situeer de druppelteller zeer nauwkeurig boven de eerste buis.

4.2.6 Starten van de analyses

Vul de caroussel met de monsterflesjes. Neem bij elke serie een blanco en een recovery experiment in bewerking (zie opm. 6.7). Plaats de caroussel in de automaat, sluit de deur. Wacht even en druk op de toets "run". Op het moment van injectie, te zien aan een recorderstreep, wordt de fractieverzamelaar van "stop" op "run" gezet.

4.3 Gaschromatografische verwerking

4.3.1 Pesticiden extracten

Voeg 1,0 ml interne standaardoplossing toe, vul aan naar 8 ml en injecteer 5 µl op een gaschromatograaf.

4.3.2 PCB-extracten (zie opm. 6.9)

Damp het uitgevangen extract in tot 1 ml op een verwarmd zandbad onder een zachte stikstofstroom. Breng een propje glaswol onder in een chromatografiekolom, weeg 2 g aluminiumoxide 5% H_2O af en breng dit in de kolom. Elueer met 5 ml iso-octaan. Verwerp deze fractie. Plaats een maatcilinder van 10 ml onder de kolom, breng het ingedampte extract op de kolom en elueer met resp. 2 en 5 ml iso-octaan. Breng deze hoeveelheden iso-octaan pas op de kolom als het vloeistofniveau gelijk is aan dat van de aluminiumoxide. Damp op een zandbad in naar 4 ml, voeg 1 ml interne standaardoplossing toe, vul aan naar 5 ml en meng. Injecteer van dit extract 5 µl op een gaschromatograaf.

4.4 Gaschromatografische condities

Afhankelijk van de gaschromatograaf en de daarin aanwezige kolom. De parameters zijn te vinden in de bijbehorende testrapporten.

5. Identificatie en berekening

Identificatie vindt plaats aan de hand van de relatieve retentietijd t.o.v. PCA. Berekening vindt plaats aan de hand van de piekhoogte dan wel het piekoppervlak van een component in het monster t.o.v. de piekhoogte dan wel het piekoppervlak van de zuivere standaard.

6. Opmerkingen

6.1 Moederoplossing pesticiden bevat de componenten: α-HCH; HCB; β-HCH; γ-HCH; β-Hepo; pp'-DDE; dieldrin; pp'-TDE; op'-DDT en pp'-DDT in concentraties van resp. 0,04; 0,04; 0,20; 0,04; 0,10; 0,20; 0,20; 0,20; 0,20 en 0,40 µg/ml.

6.2 Moederoplossing polychloorbifenylen bevat in ieder geval de monitoring componenten:
2,4-4' trichloor-, 2,5-2'5' tetrachloor-, 2,4,5-2'5' pentachloor-, 2,3,4-2'4'5' en 2,4,5-2'4'5' hexachloor- en 2,3,4,5-2'4'5' heptachloorbifenyl allen in een concentratie van 0,04 µg per ml.

6.3 Eénmaal opgeloste monsters dienen zo snel mogelijk afgewerkt te worden.

6.4 Dit is alleen noodzakelijk indien de monsterextracten troebel zijn of vaste deeltjes bevatten. Nog kleinere verontreinigingen zijn niet van belang daar het hele injectiesysteem elke keer wordt doorgespoeld.

6.5 Het vet kan ook geëxtraheerd worden met behulp van Soxhletapparatuur. Na verwrijven van het monster met natriumsulfaat wordt drie uur geextraheerd met pentaan. Het aldus verkregen vetresidue is bruikbaar voor de PCB-analyse. Damp de pentaan af.

6.6 Op de GPC-kolom mag in één keer niet meer dan 100 mg vet geinjecteerd worden.

6.7 Blanco chemicaliën

Vul een monsterflesje met 3 ml tolueen-ethylacetaat (1:1 v/v). De bewerking is identiek aan die van de monsters.

Recovery-experiment GPC:

Verdun 2 ml moederloplossing pesticiden naar 5 ml met tolueen-ethylacetaat of in geval van PCB analyses 2 ml moederoplossing polychloorbifenylen naar 4 ml met tolueen-ethylacetaat. Bij bewerking identiek aan die van de monsters is de recovery gelijk aan de standaardhoogte voor pesticiden en halve standaardhoogte voor polychloorbifenylen.

Recovery extractie + GPC

Voeg aan het monster 2 ml moederoplossing pesticiden of PCB's toe. Extraheer het vet volgens 4.1.1 of 4.1.2. Verdun het vetextract naar 4 ml met tolueen-ethylacetaat (1:1 v/v). Behandel dit recoveryexperiment verder identiek als de monsters.

6.8 De referentiecel van de RI-detector dient regelmatig bijgevuld te worden wegens verdamping.

6.9 Indien het extracten van zeer verse monsters betreft kan er volstaan worden met indampen naar 4 ml, toevoegen van 1 ml interne standaardoplossing en injectie van 5 µl op de gaschromatograaf.

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

Samensteller/medewerker: H.J. Keukens, W.A. Traag, A.J. v. Munsteren.