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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 62 (1971)

Heft: 1

Artikel: Rasche Bestimmungs- und Bestätigungsmethode für Hexachlorcyclohexan

Autor: Zimmerli, B. / Sulser, H. / Marek, B.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-983570

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 09.07.2025

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

10. *Währen M.:* Zur Entwicklung des Gebäcks und der Ofenhäuser im Kanton Bern. Schweizer Volkskunde, 54. Jahrgang. Heft 5/6 (1964).
11. *Wirths W.:* Brot in ernährungsphysiologischer Betrachtung unter Berücksichtigung des Nahrungsbedarfs. Brot und Gebäck, Heft 4 (1970).
12. *Zeller E. A.:* Ueber den Nährwert des Brotes als Funktion des Ausmahlungsgrades Bulletin des Eidg. Gesundheitsamtes, Nr. 8, (1947).

Rasche Bestimmungs- und Bestätigungsmethode für Hexachlorcyclohexan

B. Zimmerli, H. Sulser und *B. Marek*
Eidg. Gesundheitsamt
Sektion Pestizidrückstände und Kontaminationen

1. Einleitung

Die Rückstandsanalytik zur Bestimmung von chlorierten Pestiziden in fetthaltigen Nahrungsmitteln ist nach den üblichen Methoden (1, 2) recht aufwendig. In neuerer Zeit wurden einige Verfahren publiziert, die zur Abtrennung gewisser chlorierter Pestizide vom Fett eine alkalische Verseifung verwenden (3—7). Andere Autoren benützten die Alkalibehandlung von Extrakten als zusätzliche Bestätigungsmethode (8, 9). In den meisten Fällen wird dabei nur das Verschwinden oder die Verschiebung von gaschromatographischen Peaks als zusätzliche Identifikationsmethode verwendet; auf die quantitative Erfassung der Spaltprodukte wird oft verzichtet.

Am Beispiel von Lindan und seinen Isomeren, die unter den üblichen gaschromatographischen Bedingungen (2) zum Teil mit anderen Pestiziden interferieren, untersuchten wir daher die Leistungsfähigkeit der Verseifungsmethode etwas näher. Lindan sowie seine Isomeren ergeben bei einer Alkalibehandlung als Hauptprodukt 1,2,4-Trichlorbenzol (11, 12). Auf dieser Reaktion basiert auch eine spektrophotometrische (13, 14) und eine gaschromatographische (7) Analysenmethode. In der beschriebenen gaschromatographischen Methode (7) wird die Eichung auf technisches HCH bezogen; zudem wird nach der Verseifung eine Säulenchromatographie durchgeführt. In diesem Zusammenhang interessierte uns vor allem die Verbesserung der Nachweisgrenze, die Verteilung der isomeren Trichlorbenzole als Funktion der Hexachlorcyclohexanisomeren sowie die dünnschichtchromatographische Analyse der Trichlorbenzole, über die bis jetzt unseres Wissens keine Angaben verfügbar waren. Zur Verbesserung der Nachweisgrenze widmeten wir der Optimalisierung des EC-Detektors besondere Aufmerksamkeit. Die Auslassung einer säulenchromatographischen Reinigungsoperation ergäbe zudem eine zusätzliche Zeitersparnis.

Der Vorteil der beschriebenen Methode liegt in ihrer großen Spezifität sowie in ihrer Zeitersparnis. Da die Toleranzen für sämtliche HCH-Isomeren gleich groß sind*, erscheint es auch für gewisse Zwecke sinnvoll, direkt deren Summe zu messen.

2. Experimentelles

2.1 *Substanzen*

Die Reinheit von γ-HCH (Lindan) betrug 99,9 %. Die übrigen verwendeten Isomeren α, β und δ-HCH besaßen eine Reinheit $\geqslant$ 97 %. Die Trichlorbenzolisomeren waren Handelsprodukte (Fluka), die durch Umkristallisation und Säulenchromatographie weiter gereinigt wurden. Sämtliche Reagenzien und Lösungsmittel zeigten in Blindversuchen die gewünschte gaschromatographische Reinheit (EC-Detektor).

2.2 *Alkalibehandlung*

2 g Fett werden mit 20 ml alkoholischer KOH (35 g KOH in 20 ml dest. H_2O, mit Aethylalkohol auf 1 Liter aufgefüllt) während 15 Minuten bei 80 °C rückflussiert. Die Reaktionsmischung wird in einen Scheidetrichter gegeben und der Reaktionskolben 3mal mit je 10 ml Hexan nachgewaschen. Nach dem Erkalten werden 20 ml dest. H_2O zugesetzt, geschüttelt und die Hexanschicht abgetrennt. Nach zweimaliger Extraktion der wässerigen Phase mit je 15 ml Hexan wird diese verworfen. Die drei kombinierten Hexanextrakte werden mit ca. 10 g Natriumsulfat getrocknet und auf das gewünschte Volumen von 10 ml eingedampft. 1 µl dieser Lösung entspricht dann 0,2 mg Fett. Das destillierte Wasser wird mit Hexan mindestens 3mal ausgeschüttelt (Blindversuche!)

2.3 *Gaschromatographie*

Der verwendete kommerzielle Gaschromatograph (Pye-Unicam Serie 104) war mit einem Elektroneneinfangdetektor versehen. Als Strahlungsquelle verfügte der in der Pin-cup-Bauweise konzipierte Detektor über ca. 7 mci ^{63}Ni. Der Detektor arbeitete im Pulsbetrieb mit einem Pulsabstand von ca. 500 µs und einer Pulslänge von ca. 0,75 µs (Pulshöhe $\simeq$ 50 Volt). Zur Messung der Detektortemperatur wurde ein Chromel-Alumel-Thermoelement verwendet, das an der Außenseite des Detektors in der Nähe der Ni-Folie angebracht war. Als Trägergas kam ohne weitere Reinigung Reinststickstoff (99,999 Vol.%) zur Anwendung. Die zur Hauptsache verwendete Kolonne besaß eine Länge von 1,5 m (Innendurchmesser 4 mm) und war mit 5 % DC 11 (Applied Science) auf 100/120 mesh Gaschrom Q gefüllt. Bei einem N_2-Flux von 55 ml/min (bei 25 °C) wurde in der Regel bei einer Kolonnentemperatur von 80 °C gearbeitet. Eingespritzt wurde direkt auf die Kolonne. Der zeitweilig verwendete Integrator (Mod. 2211) war ein Produkt der Firma W + W.

* Die akute Toxizität von β-HCH ist z. B. rund 50mal kleiner als die von γ-HCH; die chronische Toxizität ist jedoch wesentlich höher (10).

2.4 *Dünnschichtchromatographie*

Reinsubstanzen, Extrakte von verseiften α- und γ-HCH bzw. vorgereinigte Extrakte des Unverseifbaren der Fette wurden in der Regel auf Aluminiumoxid-Fertigplatten Merck, Typ E (vorher mit 50 % Aceton und Aether/Petroläther 1 : 1 vorgewaschen) aufgetragen und entweder 1-dimensional mit n-Pentan oder vorzugsweise 2-dimensional mit n-Pentan (Fließmittel 1) und n-Heptan mit 5 % Aceton (Fließmittel 2) entwickelt. Nach der Entwicklung wurden die Platten zuerst 30 Minuten unter einer UV-Lampe* in einer Distanz von 9 cm vorbestrahlt, mit Silbernitratreagenz** besprüht und nochmals während einer Minute unter die UV-Lampe gelegt. Für die Vorreinigung der Extrakte, die unverseifbare Anteile enthielten, wurde folgendermaßen vorgegangen: Das in Hexan oder Petroläther gelöste Unverseifbare wurde mit Hilfe des Autoliners Desaga strichförmig auf eine Kieselgel-Alufolie aufgetragen und mit 70 % Aceton bis zum oberen Rand der Folie entwickelt. Durch Vorversuche wurde festgestellt, daß die Pestizide quantitativ von den Verunreinigungen abgetrennt werden können. Eine 4—5 cm breite Zone am oberen Rand der Folie wurde abgetrennt, in kleine Streifen zerschnitten und diese in einem Erlenmeyer mit 3×40 ml Aether-Petroläther 1 : 1 eluiert. Die Eluate wurden mittels einer kurzen Na_2SO_4-Säule getrocknet, auf ein kleines Volumen eingeengt, auf eine Aluminiumoxyd-Fertigplatte punktförmig aufgetragen und nach der oben beschriebenen Weise 2-dimensional entwickelt und angefärbt.

3. Resultate

3.1 *Gaschromatographie*

Zur Trennung der drei isomeren Trichlorbenzole (TCB) kann irgend eine relativ unpolare stationäre Phase verwendet werden. Die bei vier verschiedenen Kolonnentemperaturen bestimmten relativen Nettoretentionszeiten sind in Tabelle 1 für zwei gebräuchliche flüssige Phasen zusammengestellt.

Um eine maximale Empfindlichkeit des EC-Detektors zu erreichen, untersuchten wir die Anzeigeempfindlichkeit für Trichlorbenzol als Funktion des Pulsabstandes sowie als Funktion der Detektortemperatur. In Abbildung 1 ist der Einfluß des Pulsabstandes auf die Peakhöhe von 1,3,5-TCB graphisch dargestellt. Die nur leichte Abnahme des Grundstroms bei zunehmendem Pulsabstand zeigt, daß das verwendete Detektorsystem genügend sauber war. Die Resultate zeigen deutlich, daß für die maximale Empfindlichkeit mit einem Pulsabstand von mindestens 500 µs gearbeitet werden muß. Wie aus Abbildung 2 hervorgeht, ist der lineare Bereich jedoch bei diesem Pulsabstand wesentlich kleiner als z. B. bei 50 µs.

* Hg-Hochdruckbrenner 500 W, Hanau Typ Q 500 ohne Filter, Wellenlänge 330 nm.

** Frische Mischung aus 20 ml Lsg. I und 1 ml Lsg. II

Lsg. I: 250 mg $AgNO_3$ p. a. in 5 ml dest. H_2O, mit dest. 96 % C_2H_5OH auf 250 ml.

Lsg. II: 25 mg $AgNO_3$ p. a. in 0,25 ml dest. H_2O, 25 ml 2-Phenoxyäthanol mit dest. Aceton auf 50 ml, 1 Tropfen Perhydrol zusetzen.

*Tabelle 1. Relative Nettoretentionszeiten der isomeren Trichlorbenzole bei verschiedenen Kolonnentemperaturen**

Substanz	Sdp (°C)	QF-1				DC-11			
		60 °C	80 °C	100 °C	120 °C	60 °C	80 °C	100 °C	120 °C
1,3,5-TCB	208,5	0,625	0,667	0,708	0,733	0,725	0,758	0,778	0,800
1,2,4-TCB	213,5	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
1,2,3-TCB	220,9	1,370	1,360	1,330	1,300	1,260	1,240	1,210	1,200

* 1,2,4-TCB = 1
5 % QF-1 auf Gaschrom. Q 100/120, N_2 Flux 55 ml/min
5 % DC-11 auf Gaschrom. Q 100/120, N_2 Flux 55 ml/min

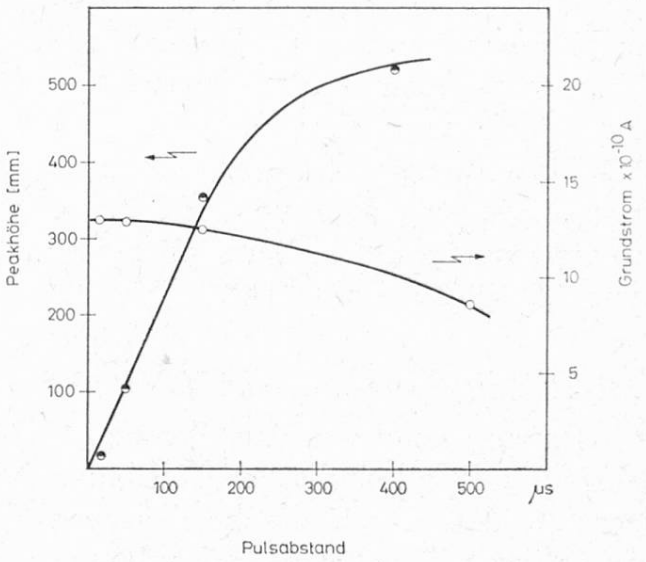


Abbildung 1. Einfluß des Pulsabstandes auf die Detektorempfindlichkeit für 1,3,5-Trichlorbenzol
◓ Peakhöhe für 300 pg 1,3,5-TCB (100 mm = 8×10^{-11} A)
○ Grundstrom
GC-Bedingungen: 5 % DC-11 auf Gaschrom Q 100/120
Kolonnentemp. 80 °C, N_2-Flux 55 ml/min., Detektortemperatur 280 °C

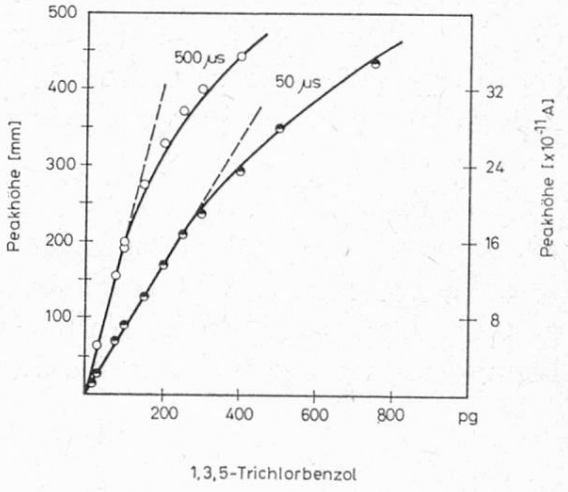


Abbildung 2. Detektorlinearität für 1,3,5-Trichlorbenzol bei verschiedenen Pulsabständen
○ 500 µs; ◓ 50 µs
GC-Bedingungen: 5 % DC auf Gaschrom Q 100/120
Kolonnentemp. 80 °C, N_2-Flux 55 ml/min., Detektortemperatur 330 °C

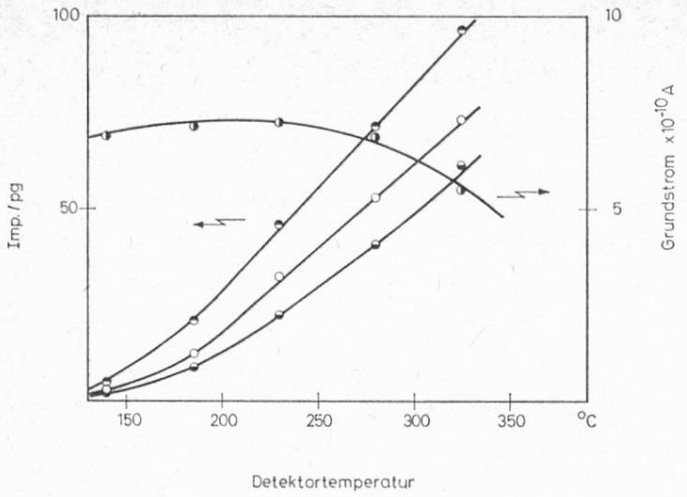


Abbildung 3. Einfluß der Detektortemperatur auf die Detektorempfindlichkeit
◒ 1,2,4-TCB, ○ 1,3,5-TCB, ◓ 1,2,3-TCB
100 Integratorimpulse entsprechen 10^{-10} A s
◑ Grundstrom
GC-Bedingungen: 5 % DC auf Gaschrom Q 100/120
Kolonnentemp. 80 °C, N_2-Flux 55 ml/min, Pulsabstand 500 µs

Da der Elektroneneinfangkoeffizient vieler Substanzklassen temperaturabhängig ist (15), untersuchten wir zudem den Einfluß der Temperatur auf die Detektorempfindlichkeit. Die in Abbildung 3 dargestellten Meßresultate zeigen, daß die Empfindlichkeit des Detektors für die Trichlorbenzolisomeren mit steigender Temperatur sehr stark ansteigt. Die Abnahme des Grundstroms wird dadurch mehr als kompensiert. Eine Erhöhung der Detektortemperatur von 200 °C auf 350 °C reduziert den Grundstrom um 30 %. Das Detektorsignal für 1,2,4-TCB vergrößert sich aber um ca. 500 %. Mit den bei Abbildung 3 erwähnten gaschromatographischen Bedingungen ergab sich für 1,2,4-TCB eine Nachweisgrenze von 1,2 pg (3× Rauschen).

3.2 *Alkalibehandlung von HCH-Isomeren und HCH-haltigen Fettproben*

Entsprechend den Ausführungen in Abschnitt 2.3 wurden reine HCH-Isomere einzeln mit alkoholischer Kalilauge behandelt. In separaten Versuchen wurde gezeigt, daß durch die beschriebene Extraktionsmethode mindestens 96 % von zugesetztem Trichlorbenzol wieder gefunden wird. Die gaschromatographische Analyse sowie eine Massenbilanz ergeben, daß bei der Alkalibehandlung der reinen HCH-Isomeren (α, β, γ und δ) außer den 3 isomeren Trichlorbenzolen (vgl. Abbildung 4) keine weiteren Produkte gebildet werden. Die Massenbilanz ergab eine gute Uebereinstimmung mit Literaturdaten (12), welche durch Bestimmung der gebildeten Menge Chlorwasserstoff erhalten wurden.

Die Verteilung der isomeren Trichlorbenzole hängt in geringem Umfang davon ab, von welchen HCH-Isomeren ausgegangen wird. Unsere Resultate, die mit je ca. 2 µg reinen HCH-Isomeren erhalten wurden, sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Die aufgeführten Zahlen sind Mittelwerte von mindestens drei Alkalibehandlungen. Die Werte in Klammern stammen aus der Literatur (11).

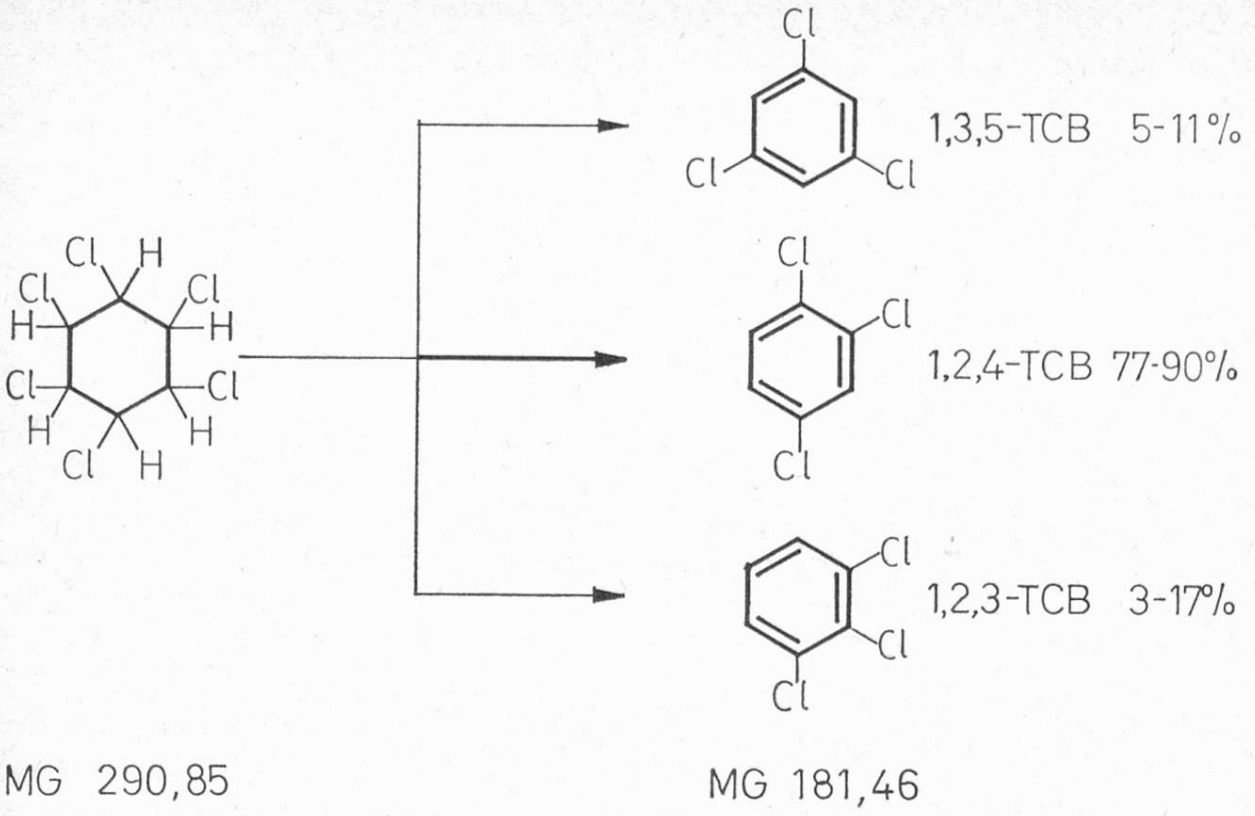


Abbildung 4. Reaktionsprodukte aus Hexachlorcyclohexanisomeren bei Alkalibehandlung (alkoholische KOH, 15 Min. 80 °C)

Tabelle 2. Prozentuale Verteilung der isomeren Trichlorbenzole

HCH-Isomeren	% Trichlorbenzol		
	1,3,5-TCB	1,2,4-TCB	1,2,3-TCB
α	5,4 (6,9)	77,0 (75,9)	17,6 (17,2)
β	6,5 (8,3)	88,6 (86,4)	4,9 (5,3)
γ	10,5 (12,9)	85,4 (82,4)	4,1 (4,7)
δ	6,7	89,9	3,4

Alkoholische KOH 80 ° C 15 Min. vergl. Abschnitt 2.3

Für den Fall von γ-HCH wurde in verstärkten, fetthaltigen Lebensmitteln (10 Analysen, 0,1—10 ppm γ-HCH) folgende Verteilung der isomeren TCB's gefunden:

1,3,5-TCB	11,1 ± 1,2 %
1,2,4-TCB	84,0 ± 1,5 %
1,2,3-TCB	4,9 ± 0,7 %

Die aufgeführte Standardabweichung (N = 10) dürfte auch für die übrigen HCH-Isomeren gelten. Die Uebereinstimmung mit den Resultaten in Tabelle 2 zeigt auch, daß die Gegenwart von Fetten die Isomerenverteilung der TCB's nicht verändert.

Wenn die Summe der gebildeten TCB's bekannt ist, dient die *Formel I* zur Berechnung der ursprünglich vorhandenen Menge Hexachlorcyclohexan:

$$\text{ppb HCH/Fett} = \frac{a \times 1{,}603}{b} \qquad \begin{array}{l} a = \text{ng TCB} \\ b = \text{Fetteinwaage} \end{array} \qquad \text{(I)}$$

Wird nur das Hauptprodukt 1,2,4-TCB gemessen, so muß der Faktor 1,603 durch 1,90 ersetzt werden. Auch diese Art der Messung erlaubt eine sehr gute Schätzung des totalen HCH-Gehaltes. Wie die folgende Rechnung für einige Extremfälle zeigt, betragen die Abweichungen höchstens 10 %:

a) Probe enthalte nur α-HCH — Resultat ist um 9,5 % zu tief
b) Probe enthalte nur δ-HCH — Resultat ist um 6,3 % zu hoch
c) Probe enthalte nur β-HCH — Resultat ist um 4,7 % zu hoch

Versuche mit an γ-HCH verstärkten Fettproben (Käsefett, Butterfett und Rinderfett) ergaben Rückgewinnungen von 90—98 %. Die relative Standardabweichung der ganzen Methodik liegt für Gehalte von 0,1—10 ppm bei 10 %. In Tabelle 3 sind die Resultate von unverstärkten Proben, die nach zwei verschiedenen Analysenmethoden untersucht wurden, zusammengestellt. Zur Isolation der Fette wurde stets nach der AOAC-Methode (2) verfahren. Alle aufgeführten Zahlen sind Mittelwerte aus 3 verschiedenen Analysengängen.

Tabelle 3. Vergleich der AOAC-Methodik mit der Alkalibehandlung

Produkt	Werte in ppb-HCH/Fett					
	Methode AOAC (2)*				Verseifungsmethode	
	α-HCH	β-HCH	γ-HCH	Total	aus Σ TCB berechnet	aus 1,2,4-TCB berechnet
Käsefett	45,0	11,0	23,2	79,2	87,5	87,0
Butterfett	69,5	40,8	25,7	136,0	125,0	116,0
Milchfett	44,5	19,9	18,2	82,6	67,7	68,5
Rinderfett	34,5	7,3	14,7	56,5	55,2	43,0
Rindergewebe**	—	—	—	—	60,8	54,9

* GC-Messung auf Kolonne QF-1
** ppb pro Fleisch (Gewebe + Fett) direkte Alkalibehandlung

Die Daten der Verseifungsmethode wurden direkt, d. h. ohne jede weitere Reinigung durch Gaschromatographie erhalten. Abbildung 5 zeigt als Beispiel das dabei erhaltene Gaschromatogramm für den Fall von Rinderfett (Retentionszeit von 1,2,4-TCB: 10 Minuten). Die im Extrakt noch enthaltenen Fremdstoffe (Unverseifbares), welche für Butterfett (2 g) in der Größenordnung von einigen mg liegen, beeinflussen die Lebensdauer der GC-Kolonne praktisch nicht, stören jedoch den dünnschichtchromatographischen Nachweis der Trichlorbenzole.

3.3 *Dünnschichtchromatographie*

Im Laufe der Untersuchungen hat sich herausgestellt, daß die Sichtbarmachung der Trichlorbenzole von verschiedenen Bedingungen abhängt, die genau eingehalten werden müssen, wenn der Nachweis gelingen soll. Der Wassergehalt des Acetons im Fließmittel 2 (vgl. Abschnitt 2.4) spielt eine große Rolle.

Wie Abbildung 6 zeigt, gelingt der Nachweis von 1,2,4-TCB bei Anwesenheit von Spuren Wasser im Fließmittel kaum. Es empfiehlt sich daher, das Fließmittel 2 mit frisch entwässertem Na_2SO_4 vorzutrocknen. Hohe Wasserdampfflüchtigkeit der TCB's kann eine der Ursachen dafür sein. Weiter hat es sich gezeigt, daß unnötiges Herumliegen der Platte an der Luft, sei es nach dem Auftragen der Probe oder nach dem Entwickeln, zu beträchtlichen Verlusten an TCB führen kann.

Abbildung 7 führt beispielsweise vor, wie die Intensität der Flecken von 1,2,4-TCB abnimmt, wenn die Platte einige Minuten *vor* der Vorbestrahlung liegen gelassen wird.

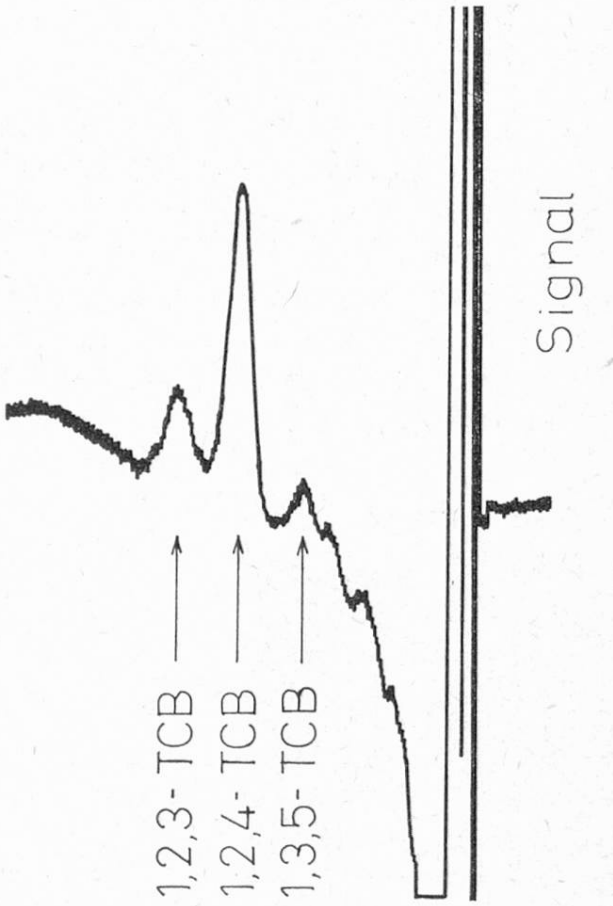
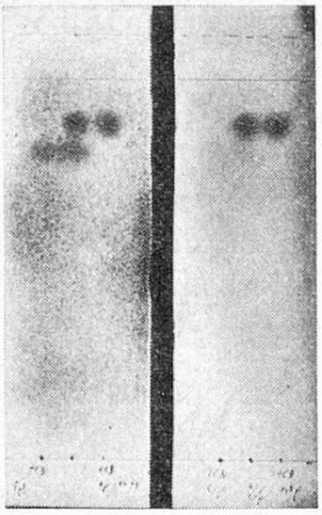


Abbildung 5. Chromatogramm von 2 g verseiftem Rinderfett. 3 μl dosiert entsprechen 0,6 mg Fett,
Gehalt an total HCH: 55 ppb, Nettoretentionszeit von 1,2,4-TCB: 10 Min.
GC-Bedingungen: 10 % DC 200 auf Gaschrom Q 100/120
Kolonnentemp. 110 °C, N_2-Flux 60 ml/min., Detektortemperatur 330 °C
Pulsabstand 500 μs, Verstärkung 2×10^{-10}A FSD.

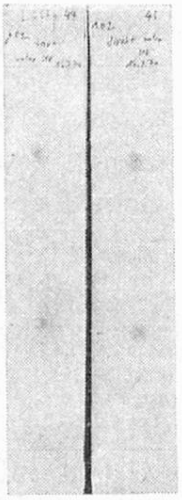


a b

Abbildung 6. Einfluß der Feuchtigkeit im Fließmittel auf die Erfaßbarkeit von 1,2,4-TCB neben Hexachlorbenzol (125 ng 1,2,4-TCB, 40 ng HCB)

a) trockenes Aceton im Entwicklungsmittel

b) feuchtes Aceton im Entwicklungsmittel



a b

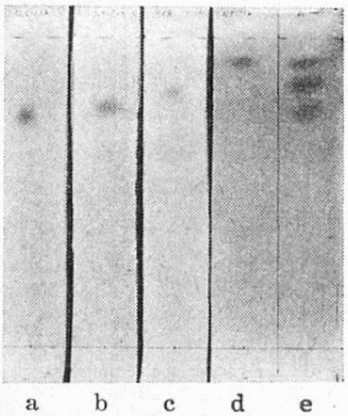
Abbildung 7. Abnahme der Fleckenintensität von 1,2,4-TCB (50 ng) durch Verflüchtigung an der Luft.

a) Platte nach dem Auftragen 5—7 Min. dem Luftzug ausgesetzt, dann UV-bestrahlt und besprüht

b) Probesofort nach dem Auftragen UV-bestrahlt und besprüht

Schließlich ist es wichtig, daß die Platte während der Vorbestrahlung gekühlt wird (z. B. Aluminiumblock [16 × 8 × 10 cm] in Schale mit Eiswasser).

Bei Beachtung dieser Vorschriftsmaßnahmen gelingt der Nachweis einwandfrei. Beim Auftragen von 50—100 ng verseiftem HCH-Aequivalent wird nur das 1,2,4-TCB sichtbar. Die beiden anderen TCB-Isomeren, die bei der Alkalibehandlung nur in geringen Mengen (4—12 ng) gebildet werden, entziehen sich dem Nachweis.



a b c d e

Abbildung 8. Trennung der isomeren Trichlorbenzole von Hexachlorbenzol 1-dimensional mit n-Pentan, in Klammern Rf-Werte:
(a) 1,2,3-TCB (0,76), (b) 1,2,4-TCB (0,84), (c) HCB (0,86), (d) 1,3,5-TCB (092), (e) Mischung (a—d).

In der Abbildung 8 sind die Laufdistanzen der TCB-Isomeren und Hexachlorbenzol* in n-Pentan zu sehen. Es ist ersichtlich, daß mit diesem Fließmittel 1-dimensional alle drei Isomeren getrennt werden können. Die Trennung von 1,2,4-TCB und Hexachlorbenzol (HCB) ist nicht möglich. Diese gelingt jedoch 1-dimensional mit n-Heptan/5 % Aceton. Bei 2-dimensionaler Arbeitsweise mit den beiden erwähnten Fließmitteln ist eine gute Trennung aller gängigen Pestizide möglich. Einzig die PCB's (chlorierte Biphenyle) stören, da sie im Bereich von Aldrin, Heptachlor, DDE und z. T. auch TCB eine Reihe intensiver Flecken bilden.

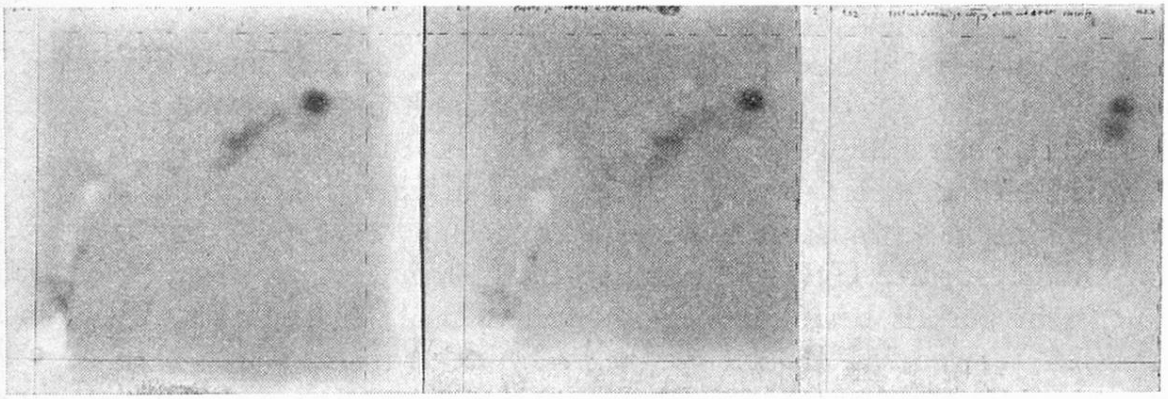


Abbildung 9. Nachweis von HCH in Butterfett nach der Alkalibehandlung als 1,2,4-TCB
(a) 2 g Butter unverstärkt; (b) 2 g Butter verstärkt mit je 50 ppb α- und γ-HCH; (c) entsprechendes Referenzchromatogramm ohne Fett mit je 50 ppb α- und γ-HCH und 30 ppb HCB.

In der Abbildung 9 ist der Nachweis von HCH in Butter nach der Verseifung (als 1,2,4-TCB) veranschaulicht. Chromatogramm a entspricht einer Probe von 2 g Butter ohne Verstärkung. Chromatogramm b zeigt das Bild einer Probe von 2 g Butter verstärkt mit je 50 ppb α- und γ-HCH (je 100 ng). Im Chromatogramm c sind schließlich die Referenzflecken von 1,2,4-TCB (aus je 100 ng α- und γ-BHC) und von Hexachlorbenzol (60 ng) nach der Verseifung, jedoch *ohne* Vorreinigung mit wässerigem Aceton, auf einer Kieselgel-Platte zu sehen. Es ist deutlich erkennbar, daß die geprüfte Butter einen hohen Gehalt an Hexachlorbenzol aufweist. Links von Hexachlorbenzol, in diagonaler Richtung, ist eine Reihe von Flecken sichtbar, die im Rahmen dieser Arbeit nicht weiter identifiziert wurden. Unterhalb Hexachlorbenzol ist im Chromatogramm a nur ein schwach wahrnehmbarer Fleck von 1,2,4-TCB vorhanden. Bei der verstärkten Probe (Chromatogramm b) ist der TCB-Fleck deutlicher, entspricht jedoch in seiner Größe und Intensität keineswegs dem Referenzflecken im Chromatogramm c (gleiche Menge an HCH wie bei der verstärkten Probe in Chromatogramm b). Offenbar geht ein Teil des gebildeten 1,2,4-TCB, infolge der großen Flüchtigkeit, durch die Operationen der Vorreinigung und der Elution verloren.

Für einen qualitativen Nachweis und als Bestätigungsmethode ist jedoch die Dünnschichtchromatographie gut zu gebrauchen. Insbesondere ist die Bestätigung von HCH in der 6 % Aether-Petroläther-Fraktion der Florisilreinigung gemäß

* Hexachlorbenzol ist in den meisten Milchprodukten und in tierischen Fetten zu finden.

der AOAC-Methode (2) durch nachfolgende Verseifung und DC auf einfache Weise möglich.

4. Schlußfolgerungen

Unsere Ergebnisse bestätigen die Bedeutung, die der Optimalisation der verwendeten Analysengeräte zukommt. Trotz der normalerweise viel geringeren Anzeigeempfindlichkeit des EC-Detektors für 1,2,4-Trichlorbenzol als für Lindan, lassen sich durch geeignete Wahl der Betriebsbedingungen dennoch mit Leichtigkeit 10 pg 1,2,4-TCB bestimmen. Bei einer Ausgangsmenge von 2 g Fett, einer Endlösung von 5 ml und einer Dosierung von 3 µl entspricht dies einem HCH-Gehalt von ca. 15 ppb pro Fett, was für die meisten praktischen Fälle genügen dürfte.

Wie die Vergleichsresultate in Tabelle 3 zeigen, ist die beschriebene gaschromatographische Methode sehr gut zur raschen und sicheren Bestimmung des Gesamt-HCH-Gehaltes in fetthaltigen Lebensmitteln geeignet.

Die von uns überprüfte Umwandlung der HCH-Isomeren in Trichlorbenzole läßt sich auch sehr gut als Bestätigungsmethode für HCH in anderweitig gewonnenen Extrakten verwenden. Beispielsweise in Extrakten, die durch eine MgO-Säule weiter gereinigt wurden. Im gleichen Sinn hat sich auch die Dünnschichtchromatographie bewährt. Obwohl hier eine quantitative Auswertung infolge der erwähnten Verluste kaum möglich ist, kann zum Beispiel sehr gut Hexachlorbenzol (HCB) neben 1,2,4-TCB nachgewiesen werden.

Herrn *R. Gysin* und Herrn *T. Zuber* danken wir für die gewissenhafte Durchführung der Versuche.

Als diese Arbeit zum Druck freigegeben wurde, erfuhren wir, daß *E. Gwizdek / Roczniki Panst.* Zakl. Hyg. XXI, Nr. 6, S. 646—652 (1970) über den dünnschichtchromatographischen Nachweis von 1,2,4-TCB als Verseifungsprodukt von HCH in Milch berichtet hat.

Zusammenfassung

Es wird eine rasche Bestimmungs- und Bestätigungsmethode für Hexachlorcyclohexan (Total der HCH-Isomeren) in fetthaltigen Lebensmitteln beschrieben. Das isolierte Fett wird alkalisch verseift, die dabei aus HCH gebildeten Trichlorbenzolisomeren (1,2,4-, 1,2,3- und 1,3,5-TCB) werden extrahiert, gaschromatographisch bestimmt und das 1,2,4-TCB durch Dünnschichtchromatographie bestätigt. Die sorgfältige Optimalisation des EC-Detektors, speziell dessen Temperatur, erlaubt die Bestimmung von pg-Mengen TCB.

Résumé

La méthode décrite ici sert à déceler et à confirmer la présence d'isomères d'hexachlorocyclohexane (HCH) dans les denrées alimentaires contenant des matières grasses.

La matière grasse est éliminée par saponification alcaline. Les trichlorobenzènes (1,2,4-, 1,2,3- et 1,3,5-TCB) ainsi formés à partir du HCH sont extraits et mesurés par chromatographie en phase gazeuse; la présence du 1,2,4-TCB est également confirmée par chromatographie en couche mince. L'utilisation du détecteur à capture électronique dans les conditions optimales, en particulier une température adéquate, permettent de déceler des quantités de TCB de l'ordre de grandeur de quelques pg.

Summary

A rapid GLC-method for determination as well as for confirmation of hexachlorocyclohexane (total isomers of HCH) in pg range in fatty foods is based on an alkaline saponification of the isolated fat and quantitation of the isomers of trichlorobenzene (1,2,4-, 1,2,3- and 1,3,5-TCB), formed from HCH by this treatment.

The importance of a carefull optimalisation of several parameters concerning the performance of the EC-detector, especially of the detector temperature, is emphasized. The 1,2,4-isomer of trichlorobenzene can also be confirmed by TLC under special conditions.

Literatur

1. *B. Zimmerli, A. Miserez:* Mitt. **60**, 388 (1969).
2. US Department of Health, Education and Welfare, FDA, Pesticide Analytical Manual Vol. I and II (1968).
3. *L. A. Richardson, J. R. Lane, J. T. Peeler, J. F. Campbell:* J. Dairy Sci. **50**, 1073 (1967).
4. *M. L. Schafer, K. A. Busch, J. F. Campbell:* J. Dairy Sci. **46**, 1025 (1963).
5. *D. G. Crosby, T. E. Archer:* Bull. Env. Contam. Toxicol. **1**, 16 (1966).
6. *R. Mestres, F. Barthes, M. Priu:* Bull. Env. Contam. Toxicol. **2**, 25 (1967).
7. *R. Mestres, F. Barthes, M. Dudieuzere-Priu, E. Portal:* Ann. Fals. Exp. Chim. **60**, 11 (1967).
8. *C. E. Mendoza, P. J. Wales, H. A. Mc. Leod, W. P. McKinley:* J. of AOAC **51**, 1095 (1968).
9. *H. B. Pionke, G. Chesters, D. E. Armstrong:* Analyst **94**, 900 (1969).
10. Zit. nach *H. Maier-Bode:* «Pflanzenschutzmittelrückstände», E. Ulmer, Stuttgart, S. 311 (1965).
11. *T. van der Linden:* Ber. **45**, 231 (1912).
12. *F. A. Gunther, R. C. Blinn:* J. Amer. Chem. Soc. **69**, 2115 (1947).
13. *B. Davidow, G. Woodard:* J. of AOAC **32**, 751 (1949).
14. *J. P. Frawley, B. Davidow:* J. of AOAC **32**, 758 (1949).
15. *A. Zlatkis, B. C. Pettitt:* Chromatographia **2**, 484 (1969).