

Herr Dr. Martin Forter  
Untere Rheingasse 15  
4058 Basel

## Empa-Prüfbericht 458'623

**Prüfauftrag:**

Prüfobjekte:

**Bestimmung von HCH Isomeren in einem Fisch**

1 Fisch (Karpfen)

Kundenreferenz:

Dr. Martin Forter

Ihr Auftrag vom:

12. August 2011

Eingang der Prüfobjekte:

15. August 2011

Ausführung der Prüfung:

15. August bis 16. September 2011

Anzahl Seiten:

- 3 -

Beilagen:

Die Resultate wurden vorab per e-mail in Form eines Excel-Files  
übermittelt.

Wir forschen und prüfen für Sie

---

Dübendorf, 16. September 2011

Projektleiter:

M. Zennegg

Abteilungsleiter Analytische Chemie:

Dr. H. Vonmont

## 1 Prüfobjekte

Die Hälfte eines grösseren Karpfen wurde der Empa am 15. August, in tiefgefrorenem Zustand, per Post zugestellt.

## 2 Prüfung

### 2.1 Prüfverfahren für HCH in Fisch

Der Fisch wurde aufgetaut und die Innereien entfernt. Der essbare Anteil wurde von den Gräten befreit und mit einem Stabmixer zu einem Mousse homogenisiert. Ca. 100 g des Homogenates wurden mit 300 mL ultra reinem Wasser versetzt und mit dem Stabmixer gut durchmischt. Nach quantitativem Transfer in einen 2 L-Scheidetrichter wurde nacheinander mit 6 mL di-Kaliumoxalatlösung (ca. 35 % w/v), 300 mL Ethanol, 150 mL Diethylether und 210 mL n-Pentan versetzt, während jeweils 1 min kräftig geschüttelt und die wässrige Phase in einen 2 L-Scheidetrichter abgelassen. Nach der Phasentrennung wurde die wässrige Phase nochmals mit 150 mL n-Pentan ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen wurden zweimal mit je 300 mL wässriger Natriumsulfatlösung (2 % w/v) ausgeschüttelt und anschliessend über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Die Hauptmenge des Lösemittels wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert (50 °C, Normaldruck) und das verbliebene Lösemittel bei Raumtemperatur unter Vakuum bis zur Gewichtskonstanz verdampft. Die Lipidausbeute wurde gravimetrisch bestimmt.

Ca. 1 g Fett wurde mit dem internen Standard  $^{13}\text{C}_6$ -gamma-HCH versetzt und mit n-Hexan auf ca. 2 mL verdünnt. Anschliessend wurden die Fette durch Zugabe von konzentrierter Schwefelsäure hydrolysiert und die Analyten durch dreimaliges extrahieren mit 2 mL n-Hexan aus der Suspension extrahiert. Zur besseren Phasentrennung wurde die Suspension bei 5000 rpm für einige Minuten zentrifugiert. Die vereinigten n-Hexanphasen wurden am Rotationsverdampfer bei 50°C und 300 mbar bis auf ca. 0.5 mL eingengt. Der vorgereinigte n-Hexanextrakt wurde chromatographisch an einer gemischten Kieselgelsäule gereinigt (0.5 g Kieselgel sauer 44%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und 0.5 g Kieselgel aktiviert 130°C). Die Elution erfolgte mit 20 mL n-Hexan.

Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer bei 50°C und 300 mbar bis auf ca. 0.5 mL eingengt. Nach quantitativem Transfer in 0.5 mL Mini-Vials wurde unter Stickstoffbegasung bei Raumtemperatur das Volumen bis auf ca. 30 µl reduziert.

Die quantitative Analyse der HCH-Isomere wurde mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie durchgeführt (HRGC/HRMS). Die Quantifizierung erfolgte durch Vergleich mit dem isotopenmarkierten Standard (Isotopenverdünnungsanalyse).

### 2.3 Referenzmaterialien

Kalibrationsstandard: Native alpha-, beta-, gamma-, delta- und epsilon-HCH von Dr. Ehrenstorfer und Celamerk

Interner Standard:  $^{13}\text{C}_{16}$ -isotopenmarkiertes gamma-HCH (CLM 1282-S, Cambridge Isotope Laboratories)

### 2.4 Prüfmittel

Gaschromatograph: Varian 3400 mit Autosampler CTC A200S

Kapillarsäule: 60m × 0.25 mm, J&W DB-Dioxin, Filmdicke 0.15 µm

Massenspektrometer: doppelfokussierendes Massenspektrometer Finnigan MAT 95, ausgerüstet mit Systemsteuerungs- und Applikationssoftware Xcalibur 1.4.

## 2.5 Prüfbedingungen

Trärgas:	Helium, 200 kPa
Injektion:	3 µL splitlos
Temperaturprogramm:	100 °C (1 min), 10 °C min <sup>-1</sup> bis 260 °C (10 min isotherm)
Quellentemperatur:	220 °C
Ionisierung:	Elektronenstoss (EI), Detektion der positiven Ionen
Elektronenenergie:	70 eV
Massenauflösung:	m/Δm = 7'500 (10 % Tal)
Einzelionendetektion:	Es wurden jeweils die m/z-Werte der beiden häufigsten Isotopenkombinationen des Fragmentions [M-HCl <sub>2</sub> ] <sup>+</sup> der nativen und des <sup>13</sup> C <sub>12</sub> -markierten HCH registriert.

## 3 Resultate

Die Resultate wurden auf zwei signifikante Stellen gerundet. Die Summenwerte wurden mit ungerundeten Werten berechnet und danach auf zwei signifikante Stellen gerundet. Die Resultate sind auf Frischgewicht (FG) und Fett (Lipid) bezogen aufgelistet.

Tabelle 1: Resultate zu den HCH-Gehalten in Filet (Fettgehalt 2.8%) und Bauchfett (Fettgehalt 6.6%)

	Filet ng/g FG µg/kg FG	Bauchfett ng/g FG µg/kg FG	Filet ng/g Lipid µg/kg Lipid	Bauchfett ng/g Lipid µg/kg Lipid
alpha-HCH	0.89	1.9	32	29
beta-HCH	8.0	7.2	290	110
gamma-HCH	0.13	0.32	4.5	4.9
Σ delta- und epsilon-HCH	0.71	0.46	25	6.9
Summenwert HCH:	<b>9.8</b>	<b>9.9</b>	<b>350</b>	<b>150</b>

## 4 Qualitätssicherung und Messunsicherheit

Alle Untersuchungen wurden nach den Grundsätzen der Qualitätssicherung (ISO/IEC 17025 ) durchgeführt. Nach unseren Erfahrungen beträgt die Messunsicherheit für die Bestimmung der HCH-Isomere ca. 20 % (Probenahme nicht einbezogen).