

Dioxine (PCDD/F) und Polychlorierte Biphenyle (PCB) in vom Tier stammenden Lebensmitteln

K.-H. SCHWIND

Zusammenfassung

In den Jahren von 2004 bis 2008 wurden am Max Rubner-Institut (MRI) Kulmbach im Rahmen des Forschungsprojektes „Statuserhebung zu Dioxinen und PCB in Futter und vom Tier stammenden Lebensmitteln“ etwa 700 Proben aus den Kategorien Futtermittel, Fleisch und Fleischerzeugnisse sowie Eier und Eiprodukte untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass in den untersuchten deutschen Futtermitteln keine Überschreitung des Höchstgehaltes weder für PCDD/Fs noch für dl-PCBs bzw. ndl-PCBs auftrat. Bei Fleisch und Fleischerzeugnissen wurden die höchsten PCB- und Dioxingehalte mit einem WHO-PCDD/F-PCB-TEQ₁₉₉₈ in Rindfleisch gefunden (Medianwert 1,16 ng/kg Fett), die Gehalte von PCBs und PCDD/Fs in Schweine- und Geflügelfleisch hingegen waren deutlich niedriger und lagen meist im Bereich der Bestimmungsgrenzen. Für Eier und Eiprodukte hat sich gezeigt, dass die Gehalte des WHO-PCDD/F-PCB-TEQ₁₉₉₈ in den untersuchten Haltungsformen im Bereich von 0,3 bis 0,4 ng/kg Fett im Median lagen und damit mehr als den Faktor 10 unter dem gültigen Höchstgehalt. Neuere europaweite Untersuchungen der EFSA zeigen, dass für Dioxine (PCDD/F) und dioxinähnliche PCB (dl-PCB) im Zeitraum von 2002 – 2004 und 2008 – 2010 ein allgemeiner Rückgang zu verzeichnen ist, der für die Stoffklasse der 6 nicht dioxinähnlichen PCB (ndl-PCB) etwas kleiner war. Die vorliegenden Datensätze wurden zwischen 1995 und 2010 von 26 EU-Ländern bei der EFSA eingereicht. Hierbei trat zutage, dass die Lebensmittelgruppen Fisch, Fleisch und Milchprodukte im Blick auf die Exposition des Menschen gegenüber diesen Kontaminanten am meisten dazu beitragen. Eine bessere Übereinstimmung von Regelungen im analytischen und legislativen Bereich würde in Zukunft europaweite Risikoabschätzungen vereinfachen.

Schlüsselwörter Dioxine – PCDD/Fs – Polychlorierte Biphenyle – PCBs - tierische Lebensmittel – Belastungssituation

Einleitung

Am Max Rubner-Institut in Kulmbach wurden im Rahmen eines Forschungsprojektes im Auftrag des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz in den Jahren 2004 bis 2008 Futtermittel, Fleisch und Fleischerzeugnisse sowie Eier und Eiprodukte auf Dioxine

(PCDD/F) und PCB-Verbindungen (dl-PCB sowie Indikator-PCB) untersucht. Diese Statuserhebung hatte zum Ziel, eine flächendeckende repräsentative Beurteilung der Dioxin- und PCB-Belastung durch die vom Tier stammenden Lebensmittel Fleisch und Eier – inklusive tierartspezifischer

scher Futtermittel für landwirtschaftliche Nutztiere – zu erhalten. Mit den ausgewählten tierischen Lebensmitteln nimmt der Verbraucher mehr als 90 % an diesen unerwünschten Stoffen auf (EU, 2006).

Insgesamt wurden am MRI-Standort Kulmbach etwa 700 Proben untersucht. 200 Proben waren Futtermittelproben, die von den zuständigen Futtermittelbehörden zur Analyse nach Kulmbach transferiert wurden, 300 Proben waren Fleisch- und Fleischerzeugnisproben, die übrigen 200 Proben bildeten Ei- und Eiproduktproben. Bestimmt wurden in jeder Probe 7 Dibenzop-dioxin- und 10 Dibenzofuran-Kongenere, 4 non-ortho PCB- und 8 mono-ortho-PCB-Verbindungen, für die von der WHO Toxizitätsäquivalentfaktoren (TEF) festgelegt worden waren. Darüber hinaus wurden die Gehalte der gesetzlich geregelten di-ortho-PCB-Kongenere 28, 52, 101, 138, 153 und 180 (Indikator PCB, ICES 6 PCB) ermittelt.

Material und Methoden

Zunächst wurde am MRI in Kulmbach ein Analysenverfahren etabliert, welches die quantitative Bestimmung der PCB- und Dioxingehalte aus ein und derselben Probe unter Verwendung einer gemeinsamen Probenaufarbeitung ermöglicht. Dieses Verfahren beruht auf der sehr effizienten Extraktion mit ASE-Technik (Accelerated Solvent Extraktion), einer anschließenden Aufreinigung über Gelpermeationschromatographie (GPC) und Florisil und schließlich der Auftrennung – mittels einer Aktivkohlesäule – in di-ortho-PCB-, mono-ortho-PCB und non-ortho-PCB-Kongenere und PCDD/F. Folgendes Analysenverfahren wurde eingesetzt:

Extraktion und Aufreinigung (Clean up).

Etwa 10 – 15 g einer gefriergetrockneten, homogenisierten Futtermittel-, Fleisch(erzeugnis)- oder Eigelb-Probe wurden in eine 33 ml Extraktionszelle, in der 5 g Seesand und anschließend 3 g poly(acrylic acid), partial sodium salt-*graft*-poly(ethylene oxide) vorgelegt wurden, gefüllt. Der Probe wurden $^{13}\text{C}_{12}$ -markierte interne Stan-

dardverbindungen (4 non-ortho PCB [77, 81, 126, 169], 8 mono-ortho PCB [104, 114, 118, 123, 156, 157, 167, 189], 6 di-ortho PCB [28, 52, 101, 138, 153, 180] und die 17 WHO-PCDD/F) zugesetzt. Die Extraktion wurde mit einem ASE 200-System (Dionex, USA) unter Verwendung von n-Hexan bei 100 °C und 100 bar (2 x 10 min) durchgeführt (Abb. 1) Das Lösungsmittel des Extraktes wurde vorsichtig im Stickstoffstrom (Wasserbad bei 40 °C) abgeblasen. Der Extrakt wurde über eine GPC-Chromatographiesäule (Innendurchmesser 25 mm; 65 g Bio-Beads S-X3) durch Elution mit Cyclohexan/Essigsäureethylester (50 : 50, v/v; 5 ml/min) (Abb. 2) und eine Florisil-Säule (Innendurchmesser 12 mm; 3 g Florisil (deaktiviert mit 4 % bidest. Wasser)) durch Elution mit 60 ml Toluol aufgereinigt. Auf einer Carboxypack B-Säule (Innendurchmesser 13 mm; 250 mg) (Abb. 3), wurden PCB und Dioxine in 3 Fraktionen aufgetrennt: Erstens di- und mono-ortho PCB (Elution mit n-Hexan/Toluol (99 : 1, v/v), zweitens non-ortho PCB (Elution mit n-Hexan/Toluol (75 : 25, v/v) und drittens Dioxine (Elution mit Toluol im Rückspül-Modus)). Nach Zugabe der Wiederfindungs-Standardverbindungen (Fraktion 1: $^{13}\text{C}_{12}$ -PCB 141; Fraktion 2: $^2\text{H}_6$ -PCB 77; Fraktion 3: $^{13}\text{C}_{12}$ -1,3,6,8-TCDF, $^{37}\text{Cl}_4$ -2,3,7,8-TCDD und $^{13}\text{C}_6$ -1,2,3,4,6,7,8-HpCDF) wurden die Fraktionen auf 15 µl (non-ortho PCB und Dioxine) bzw. 100 µl (di- und mono-ortho PCB) eingeeengt (Abb. 1, Abb. 2 und Abb. 3).



Abb. 1: Das zur Probenextraktion eingesetzte System mit ASE-Technik (Fa. Dionex, Typ ASE 200)



Abb. 2: Das zur Abtrennung von Fett und Biopolymeren eingesetzte Gelpermeations-Chromatographie-Analysensystem (Fa. Abimed(Gilson))



Abb. 3: Das zur Reinigung und Anreicherung der PCDD/F und PCB eingesetzt modifizierte Chromatographie-Analysensystem mit SPE-Einheit und Aktivkohlesäule (Fa. Gilson, Typ ASPEC modifiziert)

GC/HRMS-Analyse

Die analytische Bestimmung der PCB und Dioxine wurde an einem GC/HRMS-System durchgeführt (Abb. 4 und Abb. 5).



Abb. 4: Das zum selektiven Nachweis von PCDD/F und PCB in Futtermitteln verwendete GC/HRMS-System (Fa. VG, Typ Autospec)

GC:

HP 5890 Series II; Trägergas: Helium; Injektor: 280 °C; Säule: ZB5-MS (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm); Temperaturprogramm (PCB): 70 °C (2 min) – 180 °C (30 °C/min) – 290 °C (5 °C/min) – 320 °C (20 °C/min, 10 min); Temperaturprogramm (Dioxine): 80 °C (1 min) – 210 °C (25 °C/min, 5 min) – 240 °C (5 °C/min,

5 min) – 320 °C (5 °C/min, 10 min); Injektionsvolumen: 1 µl split/splitless;

HRMS:

VG Autospec; Interfacetemp.: 250 °C; Ionenquellentemp.: 250 °C; Ionisierungsmodus: EI pos., 35eV; Auflösung 10000; Detektionsmodus : SIR (Single Ion Registration);



Abb. 5: Das zum selektiven Nachweis von PCDD/F und PCB in Fleisch(erzeugnissen) und Eiern verwendete GC/HRMS-System (Fa. Thermo Fisher Scientific, Typ DFS)

GC:

Trace GC Ultra; Trägergas: Helium (Flussrate: 1ml/min const. Flow); Injektor: 280 °C; Säule: ZB5-MS (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm); Temperaturprogramm (PCB): 70°C (2 min) – 180 °C (30 °C/min) – 290 °C (5 °C/min) – 320 °C (20 °C/min, 10 min); Temperaturprogramm (Dioxine): 80 °C (1 min) – 210 °C (25 °C/min, 5 min) – 240 °C (5 °C/min, 5 min) – 320 °C (5 °C/min, 10 min); Injektionsvolumen: 1 µl split/splitless;

HRMS:

DFS High Resolution GC/MS; Interfacetemp.: 260 °C; Ionenquellentemp.: 260 °C; Ionisierungsmodus: EI pos., 45 eV; Auflösung 10000; Detektionsmodus : MID (Multiple Ion Detection).

Das TEQ-Konzept

Ziel des Toxizitätsäquivalentkonzentrationskonzeptes (TEQ-Konzept) ist es eine vergleichende Quantifizierung des toxischen Potentials von PCDD/Fs und dl-PCBs in einer Probe auf der Basis eines einzigen Zahlenwertes vorzunehmen.

Die in jeder Probe zu bestimmenden Konzentrationen der 29 Einzelverbindungen (Kongenere) werden mit ihrem jeweiligen Toxizitätsäquivalentfaktor (TEF) multipliziert und die Gesamtoxizität durch Addition aller Produkte bestimmt.

$$\text{TEQ} = \sum (\text{TEF})_i \cdot c_i$$

TEQ = Toxizitätsäquivalentkonzentration (z.B. in ng/kg)
 TEF = Toxizitätsäquivalentfaktor des Kongeners i
 C_i = Konzentration des Kongeners i

Abb. 6: Formel zur Berechnung des TEQ

Die Toxizität der Kongenere wird mit der am stärksten wirkenden toxischen Verbindung dem 2,3,7,8-TCDD („Seveso-Dioxin“) verglichen.

Die TEF wurden von einem WHO-Expertengremium im Jahr 1998 (van den BERG *et al.*, 1998) festgelegt und im Jahr 2005 (van den BERG *et al.*, 2005) reevaluiert. Vor diesem Hintergrund sind WHO-TEQ-Gehalte als WHO-TEQ₁₉₉₈ oder WHO-TEQ₂₀₀₅ zu klassifizieren. Die Angabe WHO-PCDD/F-PCB-TEQ₁₉₉₈ bedeutet, dass dieser TEQ-Wert mit den gültigen Toxizitätsäquivalentfaktoren aus dem Jahr 1998 errechnet wurde. Unter Einbeziehung der TEF aus dem Jahr 2005 würde der entsprechende Zahlenwert als WHO-PCDD/F-PCB-TEQ₂₀₀₅ bezeichnet werden müssen.

Ergebnisse

In allen 200 untersuchten Futtermittelproben lagen die Gehalte der WHO-PCDD/F-PCB-TEQ₁₉₉₈ mit einem Mediangehalt von etwa 0,05 ng/kg (88 % TM) um den Faktor 25 unter dem Höchstgehalt von 1,25 ng/kg. Deutlich erkennbar ist eine Belastungsabstufung zwischen Rau- und Saftfuttermitteln und Mischfuttermitteln, wobei die letztgenannte Gruppe – bezogen auf Medianbasis – geringere Gehalte aufweist. Für die Indikator PCB (ndl-PCB/ICES-6) liegt der Höchstgehalt nach Verordnung (EU) Nr. 277/2012 bei einem Summenwert von 10 µg/kg (88 % TM). Die Gehalte der ICES-6 lagen im Median etwa den Faktor 200 unter dem Höchstwert. Insgesamt be-

trachtet sind die Gehalte an Dioxinen, dl-PCB und ndl-PCB in den untersuchten Mischfuttermitteln, Rau- und Saftfuttern als erfreulich niedrig anzusehen.

Die 300 untersuchten Fleisch- und Fleisch-erzeugnisproben teilten sich auf in Rindfleisch (Teilstück Hochrippe), Schweinefleisch (Teilstück Kamm bzw. Nacken) und Geflügelfleisch (Teilstück Keule mit Haut). Bei den Fleischerzeugnissen wurden Brühwurst (Fleischwurst fein zerkleinert), Rohwaren (Schinkenspeck), Kochwurst (Leberwurst) und Rohwurst (Salami) beprobt. Die Gehalte an dioxinähnlichen PCB in Fleisch lagen für Rindfleisch im Median etwa bei 0,9 ng/kg Fett und damit im Bereich des Auslösewertes von 1,0 ng/kg Fett. Gemäß der Empfehlung der Kommission 2013/711/EU beträgt der Auslösewert nunmehr im Fleisch von Rindern und Schafen 1,75 ng/kg Fett. Bei Geflügel blieben die WHO-PCB-TEQ-Gehalte mehr als eine Größenordnung unter dem PCB-TEQ-Auslösewert von 1,5 ng/kg Fett. Auch dieser Auslösewert wurde mit Empfehlung der Kommission 2013/711/EU auf 0,75 ng/kg herabgesetzt. In Fleischerzeugnissen schwankte der WHO-PCB-TEQ im Median über den Bereich von 0,06 ng/kg Fett für Rohwaren bis hin zu 0,13 ng/kg Fett für Rohwurst. Die Dioxingehalte in Fleisch bewegten sich mit einem WHO-PCDD/F-TEQ von im Median 0,2 ng/kg Fett für Rindfleisch und 0,09 ng/kg Fett für Schweine- und Geflügelfleisch deutlich unter den jeweiligen Höchstgehalten. In allen vier untersuchten Arten von Fleisch-erzeugnissen lag der Median für den WHO-PCDD/F-TEQ₁₉₉₈ unter 0,1 ng/kg

Fett. Die Summe der 6 ndl-PCB-Kongenere lag bei Schweinefleisch- und Geflügelfleischproben im Median zwischen 1 und 2 µg/kg Fett und für Rindfleisch etwa bei 5 µg/kg Fett. Damit sind die festgestellten Gehalte etwa den Faktor 8 bis 20 unter dem von der Europäischen Kommission vorgeschlagenen Höchstgehalt von 40 µg/kg (bezogen auf Fett).

Weiterhin wurden 200 Eier aus den Haltungformen Käfighaltung (aktuell ist derzeit nur noch Kleingruppenhaltung oder Haltung im ausgestalteten Käfig zulässig), Biohaltung, Freilandhaltung und Bodenhaltung

sowie Eiprodukte untersucht. Die Gehalte an dioxinähnlichen PCB in Eiern lagen für alle vier untersuchten Haltungformen im Median bei etwa 0,1 bis 0,2 ng/kg Fett WHO-PCB-TEQ und damit mehr als um den Faktor 10 unter dem Auslösewert von 2,0 ng/kg Fett.

Dieser Auslösewert wurde mit Empfehlung der Kommission 2013/711/EU herabgesetzt auf 1,75 ng/kg. Die Dioxingehalte in Eiern bewegten sich mit einem Median des WHO-PCDD/F-TEQ₁₉₉₈ im Bereich von 0,1 bis 0,2 ng/kg Fett deutlich unter dem Höchstgehalt von 3 ng/kg Fett.

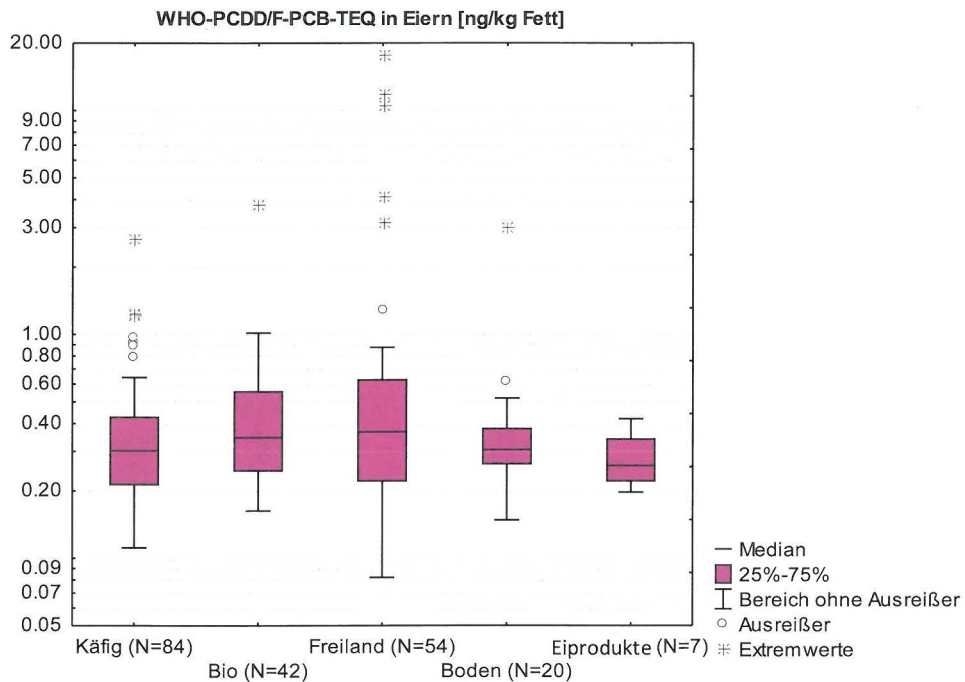


Abb. 7: WHO-PCDD/F-PCB-TEQ [ng/kg Fett] in Eiern (N = 207)

Dieser Höchstgehalt beträgt heute nach Verordnung EU Nr. 1259/2011 2,5 ng/kg Fett. Die Summe der ndl-PCB blieb mit einem Median von 2 bis 3 µg/kg Fett deutlich unter dem Vorschlag für eine Höchstgehaltsregelung von 75 µg/kg Fett für den Summengehalt der ICES-6 PCB. Dieser Höchstgehalt liegt auf Grundlage von Verordnung EU Nr. 1259/2011 derzeit bei 40 µg/kg.

Auch Untersuchungen der European Food Safety Authority EFSA (EFSA, 2012) belegen, dass für Dioxine, dl-PCB in den Jahren 2002 – 2004 und 2008 – 2010 ein allgemeiner Rückgang stattgefunden hat. Im Blick auf die Stoffklasse der ndl-PCB bzw. ICES-6 PCB war der Rückgang etwas geringer. Den größten Beitrag an der Gesamtexposition für Kinder und Kleinkinder lieferte die Lebensmittelkategorie

Milch und Milchprodukte, während für die Gruppe der Erwachsenen Fisch und Fleisch-erzeugnisse den Hauptbeitrag an der Gesamtexposition bildeten. Auch Fleisch und Fleischerzeugnisse trugen signifikant zur Gesamtexposition bei. Eine generelle Abnahme in der Aufnahme über die Nahrung im Blick auf PCDD/F und dl-PCB wurde zwischen 2002 – 2004 und 2008 – 2010 beobachtet, die für unterschiedliche Bevölkerungsgruppen zwischen 16,6 % und 79,3 % abgeschätzt wurde. Die durchschnittliche Exposition im Blick auf die sechs unterschiedlichen ndl-PCB wurde zwischen 4,3 und 25,7 ng/kg Körpergewicht (KG) pro Tag und im 95-Perzentil zwischen 7,8 und 53,7 ng/kg KG pro Tag in Abhängigkeit von der jeweiligen Bevölkerungsgruppe eingeschätzt. Das Fleisch von Rindern war erheblich höher mit PCDD/Fs, dl-PCBs und den 6 ndl-PCBs belastet als Fleisch von Schafen. Im Blick auf Schaleneier konnte EFSA belegen, dass Eier, die aus Käfighaltung stammen, erheblich weniger mit PCDD/Fs und dl-PCBs belastet sind als solche, die aus Freilandhaltungen, BIO-Haltungen und von Hühnern, die im Freiland aufgezogen werden, stammen. Eier, aus Freilandhaltungen waren wesentlich weniger kontaminiert, als die der anderen beiden Haltungsbedingungen. Für die Summe der 6 ndl-PCBs wurde aufgrund der beschränkten Anzahl der vorliegenden Daten kein Vergleich zwischen Eiern, die aus Käfighaltung und anderen Haltungsbedingungen kamen, gezogen. Eier, die von im Freien aufgewachsenen Hühnern kamen, schienen im Blick auf die Upperbound-Abschätzung höher kontaminiert zu sein als Eier aus der BIO-Produktion und der Freilandhaltung.

Die EFSA weist darauf hin, dass die Untersuchungsergebnisse vorsichtig interpretiert werden sollten, da einige der eingesandten Daten aus gezielten Monitoringprogrammen stammen, die zu einer Überschätzung der aktuellen Lebensmittelkontamination und somit zu einer Überschätzung der Exposition der Bevölkerung geführt haben könnten. Auf der anderen Seite könnte der Ausschluss einiger Lebensmittel aus der Expositionsabschätzung zu einer Unterschätzung der Gesamt-

exposition für einige Bevölkerungsgruppen geführt haben. Weil die Expositionsdaten von allen Ländern ohne irgendwelchen Ausgleich ihrer Repräsentativität miteinander verflochten wurden, könnte die Kontaminations-, Expositions- und die Zeittrendabschätzung nicht die aktuelle Situation für die unterschiedlichen Bevölkerungsgruppen widerspiegeln.

Um die Abschätzungsgenauigkeit der Lebensmittelkontaminationsgehalte und die Exposition gegenüber Dioxinen und PCBs in Europa durchgehend zu verbessern, ist es wichtig die angewandte Probenahme-strategie klar festzulegen, sowohl im Blick auf das Probenniveau als auch für die allgemeine Ausrichtung von Monitoringprogrammen. Ergebnisse sollten mit einem klaren Hinweis auf die Einheit der Ergebnisse berichtet werden (z. B. bezogen auf Fett, auf Gesamtgewichts- oder Feuchtigkeitsbasis), da dies sehr die Abschätzung der Kontaminationsgehalte von Lebens- und Futtermitteln im Blick auf Dioxine und PCBs beeinflusst. Von der EFSA wird vorgeschlagen, Dioxine und PCBs in Futtermittel- und Lebensmittelproben in Anlehnung an festgelegte analytische Mindestleistungskriterien zu bestimmen und auf diejenigen Lebensmittel abzu-zielen, die als Hauptverursacher für die Gesamtexposition der Bevölkerung identifiziert wurden und für welche die statistischen Abschätzungen der Kontaminationslevels noch nicht robust genug waren.

Ausblick

Carry over-Vorgänge mit PCDD/F, dl- und ndl-PCB sind sehr komplex. Zur Vermeidung von Lebensmittelkontaminationen ist daher eine möglichst umfassende Kenntnis der Carry over-Vorgänge dieser Substanzklassen unumgänglich. Bei den Dioxinen und PCBs lässt sich – wie bei den meisten anderen ubiquitär durch Luftströmungen verteilten Stoffen – in Lebensmitteln keine schlagartige Abnahme, sondern nur eine allmähliche erreichen. Um diese Abnahme zu erreichen, sind Maßnahmen zur Vermeidung oder Minimierung der Emissionen aus den Eintragsquellen nötig.

Denn nur ein Rückgang der Emissionen führt zu einer Verringerung des Eintrags in die Futtermittel, was dann zu einem Kontaminationsrückgang in Nutztieren und den von ihnen stammenden Lebensmitteln führt.

Literatur

EU (2006): Richtlinie 2006/13/EG der Kommission vom 3. Februar 2006 zur Änderung der Anhänge I und II der Richtlinie 2002/32/EG des Europäischen Parlaments und des Rates über unerwünschte Stoffe in Futtermitteln in Bezug auf Dioxine und dioxin-ähnliche PCB. Amtsblatt der Europäischen Union L 32: 32-52

EFSA (2012): Update of the monitoring of levels of dioxins and PCBs in food and feed. *EFSA Journal* 2012; 10 (7): 2832 [82pp]

Van den Berg, M., Birnbaum, L., Bosveld, A. T., Brunström, B., Cook, P., Feeley, M., Giesy, J. P., Hanberg, A., Hasegawa, R., Kennedy, S. W., Kubiak, T., Larsen, J. C., van Leeuwen, F. X., Liem, A. K., Nolt, C., Peterson, R. E., Poellinger, L., Safe, S., Schrenk, D., Tillitt, D., Tysklind, M., Younes, M., Waern, F., Zacharewski, T., WHO (1998): Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and Wildlife. *Environmental Health Perspectives* 106 (12), 775-791

Van den Berg, M., Birnbaum, L., Denison, M., De Vito, M., Farland, W., Feeley, M., Fiedler, H., Hakansson, H., Hanberg, A., Haws, L., Rose, M., Safe, S., Schrenk, D., Tohyama, Ch., Tritscher, A., Tuomisto, J., Tysklind, M., Walker, N., Peterson, R. E., WHO (2005): The 2005 World Health Organization Reevaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-Like Compounds. *Toxicological Sciences*, 93, 223-241