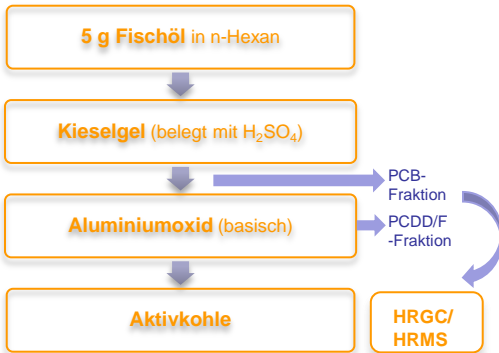


Methodenentwicklung und -validierung zum Nachweis von PCDD/F und PCB in Fischölen mittels HRGC/HRMS unter Anwendung der Good Manufacturing Practice

1 Hintergrund und Ziel

- Entwicklung und Validierung einer Methode zur Bestimmung von PCDD/F und PCB
- Matrix: Fischöl
- Basismethode** (in Anlehnung an [1] & [2])



2 Anforderungen

- Validierung nach den **Richtlinien der ICH** im Zusammenhang mit der Good Manufacturing Practice [3][4]
- Erfassbarkeit der Höchstmengen gemäß **GOED Voluntary Monograph Version 4** (s. Tabelle) [5]
- Ausreichend niedrige Bestimmungsgrenzen, um Höchstmengen erfassen zu können
- Empfindlichkeit der Basismethode (s.o.) nicht ausreichend

Tabelle: Höchstgehalte an PCDD/F und PCB, die für die Methodenentwicklung herangezogen wurden

Analyt	Höchstgehalt
Σ PCDD und PCDF	2 pg WHO-PCDD/F-TEQ/g [5]
Σ dioxin-like-PCB (PCB Nr. 77, 81, 105, 114, 118, 123, 126, 156, 157, 167, 169, 189)	3 pg WHO-TEQ/g [5]
Σ Indikator-PCB (PCB Nr. 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180)	0,5 mg/kg [6]
Σ PCDD/F und dl-PCB	max. 3 pg WHO-TEQ/g [5]

3 Materialien und Methoden

3.1 Verwendeten Öle

- Fischöl; Olivenöl (nur für Validierung)

3.2 Quantifizierung

- Isotopenverdünnungsmethode

3.3 HRGC/HRMS-Analyse

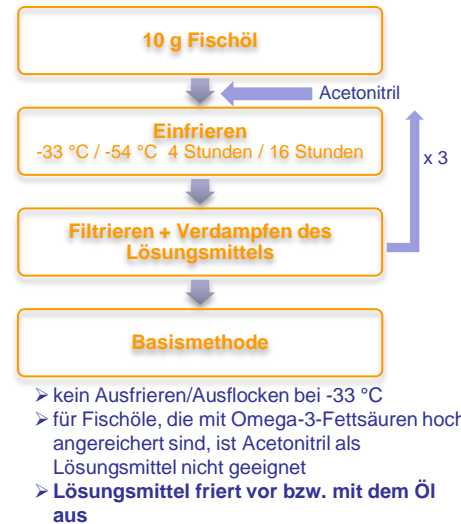
- Säule PCDD/F: Restek, Rtx®-Dioxin 2-Säule, 60 m, ID 0,25 mm, Schichtdicke 0,25 µm
- Säule PCB: SGE HT8-PCB-Säule, 60 m, ID 0,25 mm, Schichtdicke 0,25 µm
- HRMS-Bedingungen: Multiple Ion Detection (MID), Ionisierungsmodus EI⁺

4 Methodenentwicklung und Ergebnisse

- Strategie:** Erhöhung der Empfindlichkeit durch Verdoppelung der Einwaage
- Problem:** Maximale Kapazität der Basismethode sind 5 g Fischöl
- Vergleich von 4 Methodenansätzen zur Abtrennung der Fett/Ölfraction

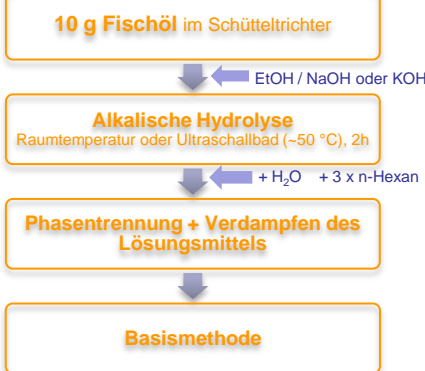
4.1 Freezing Lipid Filtration [7][8]:

- Ausnutzung der unterschiedlichen Gefrierpunkte des Fischöles und des Lösungsmittels



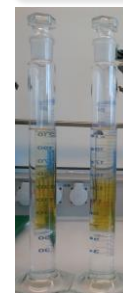
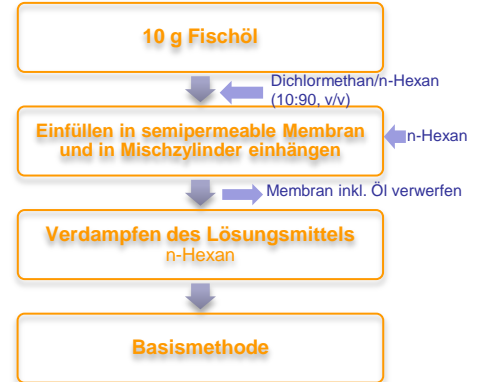
- kein Ausfrieren/Ausflocken bei -33 °C
- für Fischöle, die mit Omega-3-Fettsäuren hoch angereichert sind, ist Acetonitril als Lösungsmittel nicht geeignet
- Lösungsmittel friert vor bzw. mit dem Öl aus**

4.2 Alkalische Hydrolyse [9][10]:



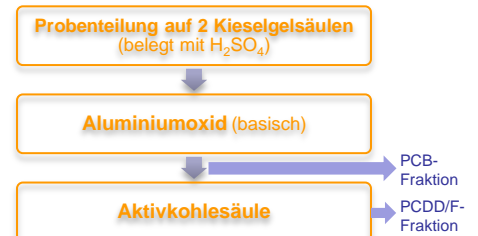
- Abtrennung eines Großteils des Fischöles möglich (ca. 60 %)
- Analyse mittels HRGC/HRMS zeigte eine Tendenz zur **Degradation der Analyten**

4.3 Semipermeable Membran [11][12]:



- Gute Wiederfindungsraten
- Ölabtrennung bis zu 99,99%
- lange Dialysedauer (bis zu 72 Stunden)
- großes Optimierungspotenzial
- geeignet für unterschiedliche Matrices

4.4 Doppelte Kieselgelsäule



- analysierte Reagenzienblindwerte sind ausreichend gering für die Fragestellung ✓
- Validierung der Methode mit Olivenöl ✓
- Alle Akzeptanzkriterien der Validierung erfüllt ✓

5 Fazit und Ausblick

- Methode **Doppelte Kieselgelsäule** wurde für die Aufgabenstellung entwickelt, optimiert und erfolgreich validiert
- Freezing lipid filtration** und **semipermeable Membranverfahren** zeigen großes Potenzial hinsichtlich einer zukünftigen Anwendung in der **PCDD/F und PCB Routineanalyse**

Literatur:

- [1] U.S. Environmental Protection Agency (1994), Method 1613, Revision B [2] U.S. Environmental Protection Agency (2010), Method 1668 Revision C [3] ICH (2000), ICH Harmonised Tripartite Guideline, Good Manufacturing Practice for Active Pharmaceutical Ingredients Q7 [4] ICH (2005), ICH Harmonised Tripartite Guideline, Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology [5] GOED (2012), GOED Voluntary Monograph, Version 4 [6] The United States Pharmacopoeial Convention (2012), USP 35, Official Monographs / Omega-3-Acid Ethyl Esters [7] Anal. Chim. Acta , 576:31-36. [8] Arch.Pharmcal Res, 26(9):697-705 [9] J. Food Hyg. Soc. Jpn, 46(4):169-175 [10] Chemosphere, 53:137-142 [11] Chemosphere , 38(5):933-943 [12] Analyst , 126:829-834