

**Ahmed Ismail**

**Kongenerspezifische Bestimmung und Quantifizierung von Toxaphen  
mittels gaschromatographisch massenspektrometrischer Methoden  
in Gewebeproben und Eiern von Legehennen.**

---

---

# TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Institut für Lebensmitteltechnologie und Analytische Chemie  
Lehrstuhl für Chemisch-Technische Analyse und Chemische Lebensmitteltechnologie  
in Freising-Weihenstephan

## **Kongenerspezifische Bestimmung und Quantifizierung von Toxaphen mittels gaschromatographisch massenspektrometrischer Methoden in Gewebeproben und Eiern von Legehennen.**

Ahmed Abd El Hamid Abou Zeid Ismail

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für  
Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung  
des akademischen Grades eines

Doktors der Agrarwissenschaften  
(Dr. agr.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. rer .nat. Dr.rer. nat. habil. J. Polster

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Dr. agr. habil. H. Parlar  
2. Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Dr. h.c.(RO) A. Kettrup

Die Dissertation wurde am 24.03.2003 bei der Technischen Universität München  
eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung,  
Landnutzung und Umwelt am 16.04.2003 angenommen.

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von November 1999 bis April 2003 am Institut für Lebensmitteltechnologie und Analytische Chemie der Technischen Universität München, Lehrstuhl für Chemisch-Technische Analyse und chemische Lebensmitteltechnologie in Freising / Weihenstephan durchgeführt.

Herrn Prof. Dr. H. Parlar gilt mein besonderer Dank für die Überlassung des außerordentlich interessanten Themas, seine stete Diskussionsbereitschaft, seine wohlwollende und umfassende Unterstützung, insbesondere für die großzügige finanzielle Förderung.

Herrn Dr. G. Leupold, Arbeitsgruppenleiter, gilt mein Dank und meine Anerkennung für seine Unterstützung in fachlichen und technischen Angelegenheiten, insbesondere dafür, dass er sich immer erfolgreich um die schnelle Lösung technischer Probleme gekümmert hat.

Bei Herrn K. Scholz bedanke ich mich für die Anfertigung spezieller Glasgeräte für die Säulenchromatographie. Frau B. Zimmermann danke ich für die Durchführung der GC-MS/MS-Messungen. Frau Pierschalik möchte ich für Ihre stete Hilfsbereitschaft bei allen organisatorischen Arbeiten danken

Den Herren M.Sc. Sobhy Hamed, Dipl.-Ing. Pablo Avendaño und Dr.-Ing. Alexander Förg danke ich für ihre Kollegialität, stete Hilfsbereitschaft und das hervorragende Arbeitsklima zu Dank verpflichtet

Nicht zuletzt gilt mein aufrichtiger Dank meiner Frau, meiner Kindern sowie meiner Schwester und meinen Brüdern für das entgegengebrachte Vertrauen und die bereitwillige Unterstützung in den vergangenen Jahren.

Schließlich bedanke ich mich bei der Botschaft und den Mitarbeitern der Studienmission der Ägyptischen Regierung in Berlin für die Unterstützung während meines Aufenthaltes in Deutschland

Für das grenzenlose Vertrauen und  
die liebevolle unterstützung  
während meiner gesamten Ausbildung

***bin ich meinen Eltern unendlich dankbar.***

## Inhaltsverzeichnis

<b>I. Einleitung.....</b>	<b>1</b>
<b>II. Theoretischer Teil .....</b>	<b>5</b>
1. Allgemeine Charakterisierung von Toxaphen.....	5
1.1 Chemische Zusammensetzung .....	5
1.2. Physikalische und chemische Eigenschaften .....	6
1.3. Herstellung und Zusammensetzung .....	8
2. Identifizierte Einzelkomponenten des Toxaphens .....	24
2.1. Isolierung von Toxaphenkongeneren aus dem technischen Gemisch.....	24
2.2. Synthese von Toxaphen .....	26
2.3. Isolierung von Toxaphenkongeneren aus Umweltproben.....	27
3. Toxizität von Toxaphen und seinen Komponenten.....	28
3.1 Einleitung .....	28
3.2 Akute Toxizität.....	29
3.3 Chronische Toxizität .....	35
3.3.1 Einleitung .....	35
3.3.2 Chronische Wirkungen von Toxaphen und seinen Komponenten.....	37
3.3.2.1 Hormonähnliche Wirkungen von Toxaphen und seinen Komponenten .....	40
4. Verhalten von Toxaphen in der Umwelt .....	43
4.1 Verteilungswege von Toxaphen in der Umwelt.....	43
4.1.1 Toxaphen und seine Komponenten in der Atmosphäre .....	43
4.1.2 Toxaphen und seine Komponenten in Niederschlägen und Gewässern .....	45
4.1.3 Toxaphen und seine Komponenten in Böden .....	48
4.2. Veränderungen von Toxaphen unter Umweltbedingungen .....	50
4.2.1. Metabolismus von Toxaphen .....	50
4.2.2 Abiotischer Abbau von Toxaphen.....	57
5. Analytik von Toxaphenrückständen.....	59

5.1 Matrixabtrennung.....	60
5.2 Abtrennung interferierender Substanzen.....	61
5.3 Gaschromatographische Trennung und Detektion von Toxaphen und seinen Einzelkomponenten.....	62
6. Rückstände von Toxaphen und seinen Komponenten in biologischen Proben .....	69
<b>III. Experimenteller Teil.....</b>	<b>73</b>
1. Material und Methoden .....	73
1.1 Standards und Ausgangsverbindungen .....	73
1.2 Chemikalien .....	73
1.3 Geräte und Arbeitsbedingungen.....	74
1.4. Versuchstiere und Applikation.....	77
2 Rückstandsanalytische Methoden .....	79
2.1 Extraktion der Proben mit Soxhlet-Apparatur .....	79
2.2 Aufarbeitung der Proben .....	79
2.2.1. Schwefelsäure-Cleanup.....	79
2.2.2 Cleanup durch Gelpermeationschromatographie.....	80
2.3 Bestimmung der Wiederfindungsraten von Toxaphen in den Legehühner-Proben... 81	
2.4 Quantifizierung der Toxaphenrückstände mit GC-ECD-Analyse .....	81
<b>IV. Ergebnisse und Diskussion.....</b>	<b>82</b>
1. Ergebnisse der HRGC-Analyse.....	82
1.1 Recovery-Werte der Toxaphene.....	82
1.2 Ermittlung der Responsefaktoren (RRF).....	82
1.3 Detektor-Eichgerade.....	84
2. Komponentenspezifische Quantifizierung der Toxaphenrückstände.....	85
2.1 Proben der Fütterung mit 0,5 ppm Toxaphen .....	86
2.2 Proben der Fütterungsversuche mit 1 ppm Toxaphen.....	95
2.3 Proben der Fütterungsversuche mit 5 ppm Toxaphen.....	103

2.4 Konzentrationsverlauf in der Abklingphase der Fütterungsversuche .....	111
3. Halbwertszeiten der Toxaphenkomponenten in Legehennen. ....	120
4. Quantifizierung einzelner Toxaphenkomponenten in Organ-, Gewebe-, Blut- und Eidotter-Proben von Legehühnern durch Vergleich mit dem Toxaphenmuster eines 9 Komponenten-Standards .....	122
5. Qualitative Bestimmung von Toxaphenkongeneren in Legehühnerproben.....	124
5.1 Allgemeine Anmerkungen .....	124
5.2 Charakterisierung bisher mittels HRGC/ECD-Analyse detektierter Toxaphenkongeneren in den verschiedenen Tierkörper- und Eidotter-Proben von Legehühnern und Absicherung durch HRGC/MS-Analyse.....	124
5.2.1 Hexachlortoxaphene.....	124
5.2.2 Heptachlortoxaphene.....	126
5.2.3 Octachlortoxaphene.....	127
5.2.4 Nona- und Decachlortoxaphene .....	128
<b>V. Zusammenfassung .....</b>	<b>130</b>
<b>VI. Summary.....</b>	<b>132</b>
<b>VII. Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>134</b>
<b>VIII. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>136</b>

## I. Einleitung

Toxaphen ist ein Breitband-Insektizid der Chlorkohlenwasserstoffgruppe, das durch unspezifische, photochemische Chlorierung aus ungereinigtem Camphen hergestellt wurde. Obwohl es hauptsächlich in den 50er und 60er Jahren in großen Mengen eingesetzt wurde und seit den frühen 80er Jahren wegen seiner Toxizität, seiner Persistenz und seines hohen Anreicherungs-potentials in den USA, Kanada und Westeuropa verboten wurde [1], wird es immer noch in der Umwelt in teils bedenklichen Konzentrationen nachgewiesen. Vor allem marine, aber auch terrestrische Systeme der Arktis und Subarktis sind hochgradig belastet [2]. Toxaphen gehört zu den wichtigsten Kontaminanten in der Nahrungskette der kanadischen Arktis und zwei der Hauptkomponenten des Gemisches, #26 (**T2**, 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8,8,10,10-Octachlorbornan) und #50 (**T12**, 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8,8,9,10,10-Nonachlorbornan), wurden in der Muttermilch von Inuit-Frauen in Konzentrationen gefunden, die in der gleichen Größenordnung liegen wie diejenigen von polychlorierten Biphenylen [3]. Noch gegen Ende der 90er Jahre war Toxaphen der Anlass für die Herausgabe von Richtlinien für den Fischverzehr in vier Bundesstaaten der USA (Arizona, Georgia, Oklahoma und Texas). Bei Analysen von Fischen aus den nordeuropäischen Küstengewässern (Ostsee, Nordsee, Norwegen, Irland und Kanal) wurde in fast allen Proben Toxaphen nachgewiesen. Unter Berücksichtigung des durchschnittlichen Fischverzehrs in Deutschland ergab sich aus den Rückstandswerten eine tägliche Aufnahme von Toxaphen von ca. 2,8-5,6 ng/kg Körpergewicht [4]. In der Höchstmengenverordnung wurde für Gesamtoxaphen in Fischen und Fischprodukten ein Grenzwert von 0,1 mg/kg festgesetzt; der acceptable daily intake (ADI) beträgt 0,1 mg/kg/Tag.

Erst die Entdeckung der insektiziden Wirkung von DDT durch Paul Müller im Jahr 1939 führte zur Entwicklung weiterer Chlorkohlenwasserstoffinsektizide, die in den fünfziger Jahren die wichtigsten Schädlingsbekämpfungsmittel darstellten. Neben DDT zählen auch Aldrin, Dieldrin, Chlordan, Lindan, Heptachlor und Toxaphen zu dieser Substanzklasse. Trotz der hohen Wirksamkeit und des breiten Wirkungsspektrums besaßen diese Verbindungen eine geringe Warmblütertoxizität, was den Umgang mit ihnen vereinfachte. Außerdem zeichneten sie sich durch die einfache, kostengünstige Herstellung sowie die hervorragende Dauerwirkung aus. Eingesetzt wurden Organochlorpestizide gegen Schädlinge fast aller Kulturpflanzen, aber auch gegen Überträger (z.B. Anophelesmücke, Tsetsefliege) vieler tropischer Krankheiten wie Malaria, Fleckfieber, Gelbfieber und Schlafkrankheit. Aber nicht nur Mücken und Fliegen, sondern auch Wanzen, Flöhe und Läuse - praktisch alle beißenden Insekten - konnten mit Hilfe der Chlorkohlenwasserstoffinsektizide bekämpft werden.

Die Anreicherung von Chlorkohlenwasserstoffinsektiziden in der Nahrungskette und die daraus resultierenden Folgen, wie z.B. die Bedrohung einiger Vogelarten, führte in den sechziger Jahren zu einer massiven Kritik am Einsatz dieser Insektizide. Über Mikroorganismen, vor allem Plankton, wurde das Insektizid von Muscheln, Krebsen, Schnecken und Fischen aufgenommen und reichte sich aufgrund seiner großen Lipidlöslichkeit besonders stark im Fett an. So wurde als besonderer Risikofaktor das außerordentlich hohe Akkumulationspotential im Fettgewebe und lipidhaltigen Organen von höheren Organismen angesehen, wobei Säuger zum Teil millionenfach höhere Konzentrationen als im Wasser lebende Tiere aufwiesen. Zudem hatte die relativ hohe akute Toxizität bereits zu Vergiftungen bei Vögeln, Fischen und Säugern geführt, und der Mensch, als Endglied der Nahrungskette, war demzufolge einem großen Gefahrenpotential ausgesetzt, das nicht länger stillschweigend hingenommen werden konnte [5]. Der langsame chemische Abbau hatte neben der erwünschten, langanhaltenden pestiziden Wirkung auch die Anreicherung in der Nahrungskette bis hin zum Menschen zur Folge. Eine weitere Folge der hohen Persistenz dieser Verbindungsklasse war die globale Verteilung, die dazu führte, dass diese Substanzen auch in Gegenden, in denen sie nie eingesetzt worden waren, nachweisbar waren.

Toxaphen wurde in vielen Gebieten in der Landwirtschaft angewandt und als Staub oder Emulsion in Mengen von 0,5 – 10 kg/ha ausgebracht. Sein Haupteinsatzgebiet lag in der Bekämpfung einer Vielzahl von Baumwoll-, Obst- und Gemüseschädlingen. Weiterhin wurde es in der Landwirtschaft gegen Ektoparasiten als Pestizid eingesetzt. Im Zeitraum von 1950 bis 1993 wurden weltweit 1,33 Million t Toxaphen eingesetzt [6], davon hatte man bis zum Jahr 1974 schätzungsweise 450000 t verbraucht [7]. Allerdings kam es 1982, zehn Jahre nach dem Verbot von DDT, zu einem Produktionsverbot von Toxaphen in den USA, wobei die Verwendung der Restbestände noch bis 1986 erlaubt war. Die meisten Industriestaaten schlossen sich in der zweiten Hälfte der achtziger Jahre diesem Verbot an. Auch in vielen anderen Ländern wie zum Beispiel Kanada, Schweden, Ungarn, Italien und Ägypten wurde Toxaphen verboten, beziehungsweise in der Anwendung eingeschränkt. In der ehemaligen DDR wurde Toxaphen jedoch noch bis Anfang der neunziger Jahre hergestellt. Im Zeitraum von 1983 bis 1990 wurden in der Produktionsstätte bei Fahlberg-List rund 46000 t unter dem Handelsnamen Melipax produziert, von denen etwa ein Drittel in der ehemaligen DDR zur Anwendung kam. Auch heute gibt es in einigen Ländern, wie Bulgarien und den Staaten der GUS, noch Toxaphen-Produktionsstätten. Außerdem wird vermutet, dass auch andere Länder

wie Rumänien, Ungarn, Indien, sowie einige südamerikanische Länder und Entwicklungsländer wie Nicaragua und Tansania Toxaphen produzieren und anwenden [8].

Die Rückstandsanalytik der Verbindungen des technischen Toxaphens gestaltete sich bis Anfang der 90er Jahre sehr problematisch. Zwar wurden analytische Methoden wie die Gaschromatographie mit Elektroneneinfangdetektor (GC/ECD) oder massenspektrometrische Detektion mit negativer chemischer Ionisierung nach gaschromatographischer Trennung (GC/ECNI-MS) zur Erfassung von technischem Toxaphen ständig weiterentwickelt, jedoch zur Quantifizierung dieser Verbindungen stand nur das technische Gemisch als externer Standard zur Verfügung. Bei Proben, deren Toxaphen-Rückstandsmuster stark vom technischen Gemisch abwich, war die exakte Bestimmung der Toxaphen-Gehalte nicht möglich [9]. 1993 gelang es Burhenne [10] im Zuge seiner Dissertation umweltrelevante Einzelkomponenten des Toxaphens auf dem Syntheseweg zu erhalten, strukturell aufzuklären und als Referenzsubstanzen zur Verfügung zu stellen. Somit waren in Zukunft die Identifizierung und quantitative Bestimmung einzelner Verbindungen in Umweltproben möglich. Zuvor wurden nur etwa 10 Einzelverbindungen, die allerdings keine Umweltrelevanz besaßen, aus dem technischen Gemisch isoliert und quantifiziert worden [11,12,13,14]. Der Vorteil von Einzelkomponenten-Standards liegt erstens darin, dass das Problem der voneinander abweichenden Peakmuster zwischen Probe und Standard nicht auftritt. Zweitens können von den jeweiligen Verbindungen Responsefaktoren bestimmt werden, was gerade bei Toxaphen sehr wichtig ist. Denn die Empfindlichkeiten der einzelnen Komponenten unterscheiden sich deutlich voneinander und bei der Erfassung der Rückstände mit komplexen Standardgemischen können daher große Fehler gemacht werden, da die jeweiligen Responsefaktoren nicht bekannt sind und so Verbindungen mit einer niedrigen Response nur scheinbar in geringerer Konzentration vorhanden sind. Außerdem eignen sich Einzelkomponenten-Standards auch zur Quantifizierung verschiedenartiger Probenmatrizes. Mittlerweile sind Standardgemische, die aus 22 Toxapheneinzelkomponenten bestehen, kommerziell erhältlich, so dass eine zuverlässigere Quantifizierung der Toxaphenrückstände möglich ist [15,16,17,18].

In dieser Arbeit sollten zwei voneinander unabhängige Teilprobleme bearbeitet werden. Erstens sollte ein weiterer Beitrag zur Zusammensetzung von Toxaphenrückständen in Legehühnerproben (Leber, Niere, Fleisch, Haut, Fett, Blut und Eidotter) unter Einsatz von Standardgemischen (22 Komponenten-Standard) geliefert werden. Anhand dieser Messungen sollten dann Rückschlüsse auf die Stabilität sowie Akkumulierungstendenzen der einzelnen Toxaphenkomponenten gezogen werden. Zur Probenaufarbeitung sollen kostengünstige

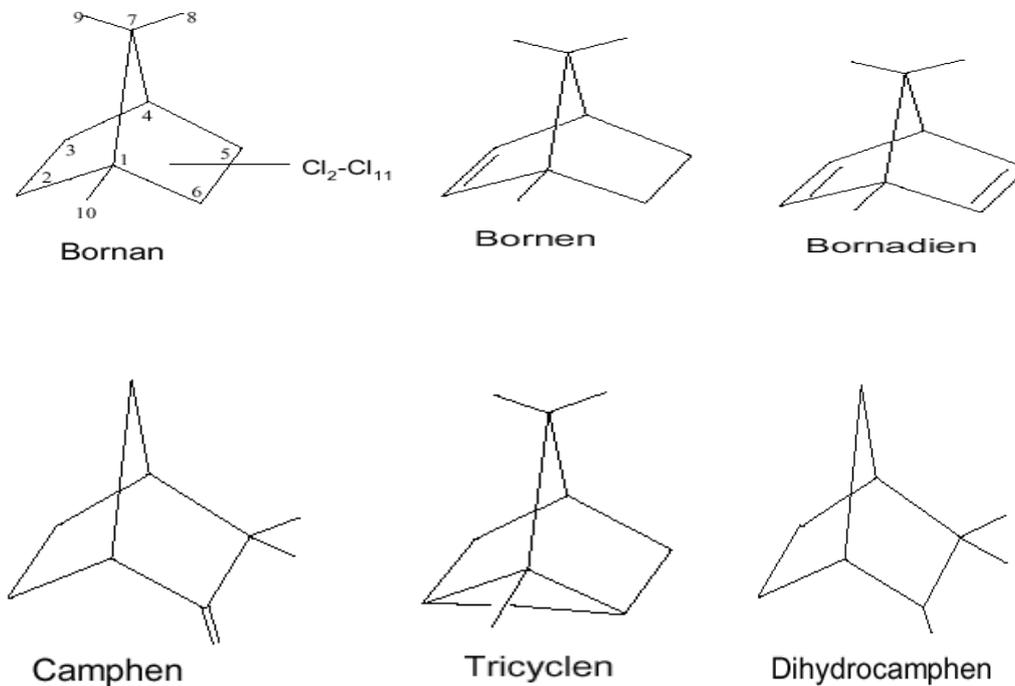
Methoden mit geringem Zeitaufwand eingesetzt werden, die hohe Wiederfindungsraten garantieren und störende Verbindungen möglichst quantitativ entfernen. Im zweiten Teil dieser Arbeit sollte der Metabolismus von technischem Toxaphen in verschiedenen Organen der Legehühner mit HRGC-MS-Analyse aufgeklärt und quantifiziert werden.

## II. Theoretischer Teil

### 1. Allgemeine Charakterisierung von Toxaphen

#### 1.1 Chemische Zusammensetzung

Das Insektizid Toxaphen wurde 1945 von der Firma Hercules Powder Company/USA patentiert und vermarktet [19,20]. Es ist ein Gemisch von polychlorierten  $C_{10}$ -Terpenen, wobei die einzelnen Komponenten durchschnittlich 6 bis 10 Chloratome besitzen, deren Grundgerüste im wesentlichen Bornan (75 %), Boren, Bornadien, Camphan, Camphen und Tricyclen zeigen (**Abb. 1**) [15]. Die genaue Anzahl der im Gemisch enthaltenen Komponenten ist bis heute unbekannt. Literaturangaben differieren sehr stark und vermuten mindestens 177 [21], nicht weniger als 202 [15] oder mehr als 300 [22] bis hin zu 670 Einzelkomponenten [23]. Weitere Angaben dazu können aus **Tab. 1** entnommen werden.



**Abb. 1:** Grundgerüste der Hauptbestandteile des technischen Toxaphens

**Tab. 1:** Kurze Information über Toxaphen [24]

CAS-Name	Toxaphene
CAS-Nummer	8001-35-2
empirische Summenformel	C <sub>10</sub> H <sub>10</sub> Cl <sub>8</sub>
mittleres Molekulargewicht	414 g/mol
Chlorgehalt	67 – 69 %
Synonyme	Camphechlor, Camphochlor, Chlorocamphen, Chlorinated Camphene, Octachlorocamphene, polychlorocamphene, Toxaphen
Handelsnamen	Agricide Maggot Killer, Alltex, Altox, Camphofene, Camphene, Chlor Chem T-590, Coopertox, Coopertox, Crestoxo, Cristoxo-90, Ent 9735, Estonox, Fasco-Terpene, Geniphene, Gy-Phene, Hercules 3956, Huilex, Kamfochlor, M 5055, Melipax, Motox, NA 2761, NCI-C00259, Phenacide, Phenatox, Strobane-T, Toxadust, Toxakil, Toxon 63, Vertac 90 %

## 1.2. Physikalische und chemische Eigenschaften

Toxaphen ist ein bernsteinfarbener, hoch viskoser, wachsartiger Stoff mit schwachem Terpengeruch. Aufgrund der komplexen Zusammensetzung besitzt es keinen definierten Schmelzpunkt. In der Literatur werden verschiedene Schmelzbereiche von 65 – 95 °C angegeben (**Tab. 2**). Toxaphen ist gut löslich in den üblichen organischen Lösungsmitteln, wobei aromatische Lösungsmittel eine größere Lösungsfähigkeit aufweisen als aliphatische. In Wasser wird die Löslichkeit mit 0,4 – 0,3 mg/l angegeben [25], die verglichen mit der Wasserlöslichkeit von anderen chlorierten Insektiziden wie DDT mit 0,2 µg/l [26] oder Chlordan mit 56 µg/l [27] relativ hoch ist. Bei Temperaturen über 155 °C tritt eine Zersetzung einzelner Komponenten unter Abspaltung von Chlorwasserstoff ein, was ebenfalls in Gegenwart starker Alkalien und bei UV-Bestrahlung unterhalb 260 nm zu beobachten ist [24,28]. Toxaphen lässt sich aus Methanol umkristallisieren, wobei eine Trennung in einen kristallinen und einen öligen Anteil erfolgt [29]. In der öligen Fraktion sind vorwiegend niedriger chlorierte und ungesättigte Komponenten angereichert, während in der kristallinen Fraktion höher chlorierte Boronanderivate enthalten sind, die in reiner Form definierte

Schmelzpunkte von bis zum Teil über 200 °C besitzen [30]. In Tab. 2 werden zusammenfassend wichtige physikalisch-chemische Eigenschaften aufgeführt.

**Tab. 2:** Physikalisch-chemische Eigenschaften von Toxaphen

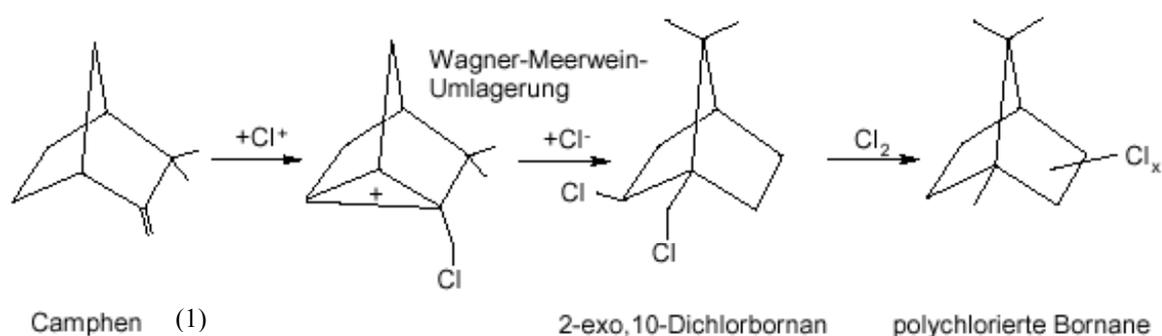
Schmelzbereich	65 – 70 °C	[31]
	65 – 90 °C	[7,24]
	65 – 95 °C	[32,33]
Zersetzungstemperatur	ab 120 °C	[33]
	ab 155 °C	[34,28]
Dichte (25 °C)	1,65 g/cm <sup>3</sup>	[32]
Dampfdruck	0,17 – 0,7 mm Hg [20 °C]	[35]
	6,70 * 10 <sup>-6</sup> mm Hg [20 °C]	[36]
	1,00 * 10 <sup>-6</sup> mm Hg [20 °C]	[7]
	3,0 * 10 <sup>-6</sup> mmHg [20 °C]	[37]
Wasserlöslichkeit	398 µg/l	[38]
	400 µg/l	[27]
	500 µg/l	[39]
	550 µg/l	[35]
	1000 µg/l	[36]
	3000 µg/l	[40]
log K <sub>ow</sub> (n-Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient)	3,30	[40]
	5,50	[38]
	6,44	[42]
Henry-Konstante	0,17 Pa * m <sup>3</sup> /mol	[7,37]
	0,61 Pa * m <sup>3</sup> /mol	[35]

Die zum Teil recht starken Schwankungen, die bei einigen Daten der physikalisch-chemischen Eigenschaften auftreten, resultieren möglicherweise aus der Tatsache, dass die verschiedenen technischen Gemische in ihrer jeweiligen Zusammensetzung geringfügig variierten. In Bezug auf sein Umweltverhalten kann bereits aus der Henry-Konstante und dem log K<sub>ow</sub> geschlossen werden, dass Toxaphen ein nicht zu vernachlässigendes Dispersionsvermögen in der Umwelt sowie ein hohes Akkumulationspotential in Organismen besitzt.

### 1.3. Herstellung und Zusammensetzung

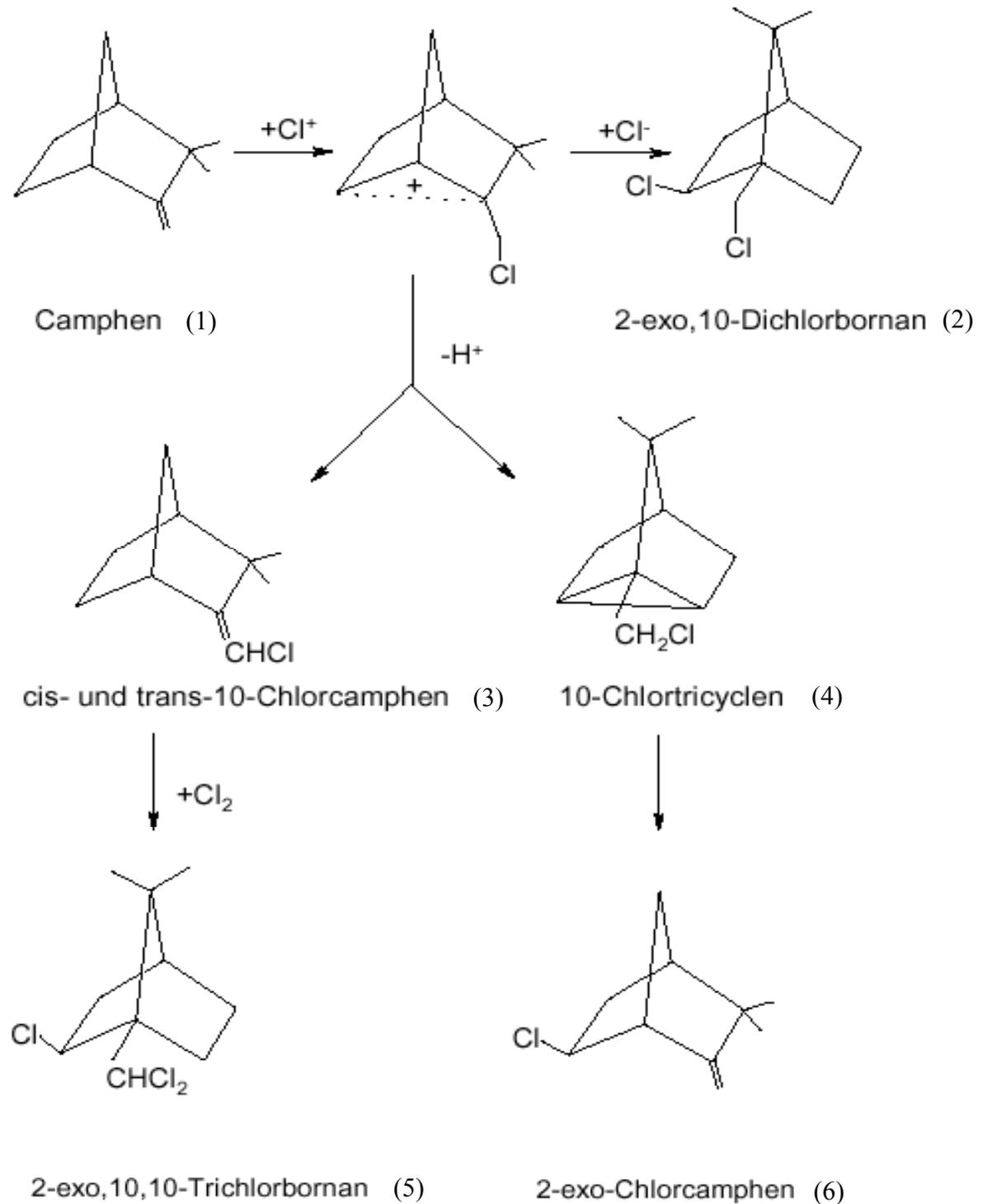
Die technische Herstellung von Toxaphen erfolgte durch achtstündiges Einleiten von elementarem Chlor in eine 20%ige Lösung von Camphen in Tetrachlormethan unter UV-Bestrahlung [19]. Camphen (2,2-Dimethyl-3-methylenbicycloheptan) (1) wird durch katalytische Isomerisierung von  $\alpha$ -Pinen (2,6,6-Trimethylbicyclohept-2-en), dem Hauptbestandteil des Terpentinöls, gewonnen und in technischer Reinheit bei der Herstellung eingesetzt [17]. Das Endprodukt, das ohne jegliche Reinigung in den Handel kommt, weist einen Chloranteil von 67–69 % auf, woraus sich eine empirische Summenformel von  $C_{10}H_{10}Cl_8$  ergibt. Wird bei der Chlorierung direkt vom  $\alpha$ -Pinen ausgegangen, so entsteht ein nahezu identisches Produktgemisch mit einem etwas geringeren Chloranteil von ca. 65 % [43].

Der primäre Reaktionsschritt bei der Herstellung ist die Addition eines Chlorkations an die Doppelbindung des Camphens (1), das daraufhin nach dem Mechanismus einer Wagner-Meerwein-Umlagerung zu einem Bornangerüst isomerisiert und nach Anlagerung eines Chloranions schließlich das 2-exo,10-Dichlorbornan bildet (**Abb. 2**) [44,45].



**Abb. 2:** Wagner – Meerwein-Umlagerung bei der Chlorierung von Camphen

Außer der Chloranlagerung können auch in geringem Maße Deprotonierungen erfolgen, wie in **Abb. 3** gezeigt wird. Dabei werden die Produkte cis- und trans-10-Chlorcamphen (3) sowie 10-Chlortricyclen (4) gebildet, wobei letzteres weiter zum 2-exo-Chlorcamphen (6) isomerisieren kann. In Gegenwart von überschüssigem  $Cl_2$  kann das 10-Chlorcamphen weiterreagieren, wobei nach einer Wagner-Meerwein-Umlagerung das 2-exo,10,10-Trichlorbornan (5) gebildet wird. Dieses Trichlorbornanderivat stellt neben dem 2-exo,10-Dichlorbornan (2) das Hauptprodukt nach der ersten Chlorierungsstufe des Camphens (1) dar.

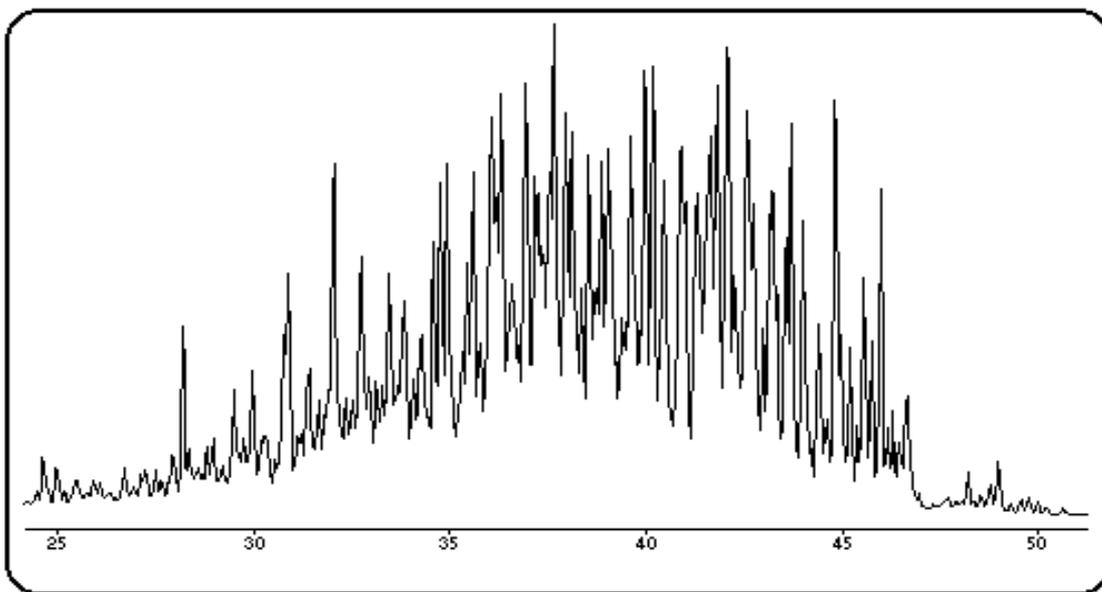


**Abb. 3:** Reaktionen von Camphen mit elementarem Chlor [29]

Bei der weiteren Chlorierung, ausgehend von 2-exo,10-Dichlorbornan und 2-exo,10,10-Trichlorbornan, verläuft die Reaktion in einer radikalischen Substitution von Chlor gegen Wasserstoff sehr unspezifisch, wobei jedoch das Bornangerüst beibehalten wird. Es entsteht im Laufe der Zeit ein äußerst komplexes Gemisch, dessen Zusammensetzung einerseits

abhängig ist von dem eingesetzten Ausgangsprodukt (technisches Camphen oder  $\alpha$ -Pinen) und zum anderen von dem speziell gewählten Herstellungsverfahren. Bedingt durch die frei wählenden Parameter treten in der Regel von Charge zu Charge geringfügige Abweichungen in der Komponentenzusammensetzung auf.

Die bisher durchgeführten qualitativen Untersuchungen zur Charakterisierung der Einzelkomponenten erfolgten ausschließlich mit Hilfe von chromatographischen Verfahren. In **Abb. 4** wird das ECD-Gaschromatogramm von technischem Toxaphen, erhalten mit einer 30 m langen Kapillarsäule, gezeigt.



**Abb. 4:** GC-ECD- Chromatogramm von technischem Toxaphen (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m DB5, J&W Scientific)

Selbst mit Hilfe der hochauflösenden Gaschromatographie (HRGC) ist es nicht möglich, die einzelnen Toxaphenkomponenten vollständig voneinander zu trennen. Dies wird in den Chromatogrammen sichtbar in Form einer "Bauchbildung", die in Abhängigkeit vom Temperaturprogramm mehr oder weniger stark ausgeprägt sein kann. Sie wird verursacht durch eine Vielzahl von Komponenten, die zur gleichen Zeit den Detektor erreichen und damit zu dessen Überlastung führen.

Bereits 1974 konnten Holmstead et. al. [21] nach vorangegangener Fraktionierung an Kieselgel mittels Gaschromatographie und massenspektrometrischer Detektion (GC/MS) 177 verschiedene Toxaphenkomponenten nachweisen. Mit hochauflösender HRGC/MS wies Saleh [15] 202 unterschiedliche Verbindungen nach, die er, wie folgt, charakterisierte: 76% polychlorierte Bornane, 18 % einfach und 2 % zweifach ungesättigte Verbindungen. Die restlichen 4 % setzen sich aus hochchlorierten sowie unchlorierten Kohlenwasserstoffen zusammen. In **Tab. 3** sind die Ergebnisse von Saleh zusammengestellt. Aus ihr kann

entnommen werden, dass sowohl sehr niedrig ( $Cl < 5$ ) als auch sehr hoch ( $Cl > 11$ ) chlorierte Bornanderivate mengenmäßig mehr oder weniger eine untergeordnete Rolle spielen, während Hepta- und Octachlorbornane mit über 50 % den größten Anteil am Gemisch stellen.

**Tab. 3:** Zusammensetzung von technischem Toxaphen [15]

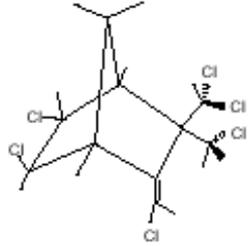
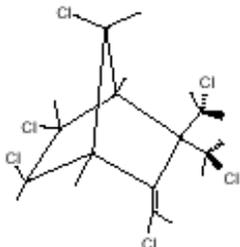
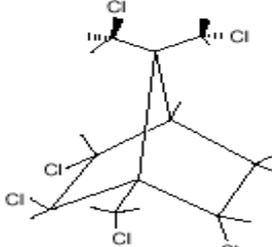
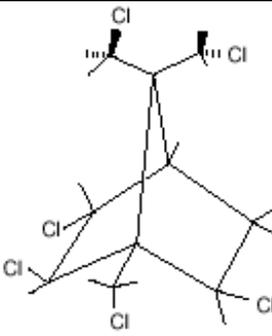
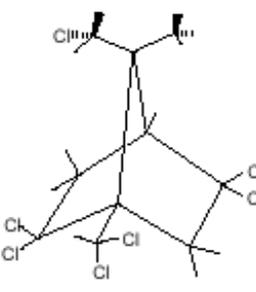
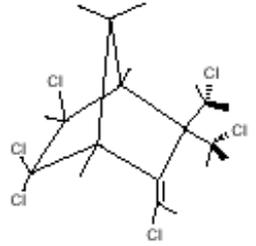
Chlor- substitution	Chlorbornan		Chlorbornen		Chlorbornadien	
	Anzahl der Isomere	Anteil im Toxaphen	Anzahl der Isomere	Anteil im Toxaphen	Anzahl der Isomere	Anteil im Toxaphen
Di-	4	2,33 %	2	0,16 %	1	0,02 %
Tri-	2	0,18 %				
Tetra-	3	0,15 %	1	0,02 %	3	0,27 %
Penta-	7	1,19 %	11	1,99 %	12	0,50 %
Hexa-	11	3,53 %	18	8,88 %	3	1,68 %
Hepta-	20	23,22 %	7	2,40 %		
Octa-	23	32,97 %	3	4,68 %		
Nona-	14	7,82 %				
Deca-	11	2,47 %				
Undeca-	4	0,59 %				
Andere chlorierte Kohlenwasserstoffe:			19	1,04 %		
Nicht chlorierte Kohlenwasserstoffe:			15	3,41 %		

Seit den 70er Jahren arbeiten zahlreiche Arbeitsgruppen gezielt an der Isolierung von Einzelkomponenten aus dem technischen Gemisch sowie an Direktsynthesen von umweltrelevanten Bornanderivaten. Bereits 1974 gelang es Khalifa et al. [11] zwei Fraktionen zu isolieren, die sie als Toxikant A (Tox A) und Toxikant B (Tox B) bezeichneten. Tox B konnte als 2,2,5-endo,6-exo,8,9,10-Heptachlorbornan identifiziert werden, während 1975 Tox A von Turner et al. [12] als ein aus zwei Verbindungen bestehendes Gemisch aus Octachlorbornanen charakterisiert wurde. Die beiden Komponenten unterschieden sich allein darin, dass die an den Tentakeln in C-8- und C-9-Position lokalisierten Chlormethyl- und Dichlormethyl-Gruppen untereinander vertauscht waren; es waren dies das 2,2,5-endo,6-exo,8,9,10- und 2,2,5-endo,6-exo,8,9,10-Octachlorbornan. 1978 entdeckten Chandurkar und Matsumura [14], die ebenfalls Tox A isoliert hatten, dass neben den beiden oben erwähnten Verbindungen noch eine dritte Komponente in dem isolierten Gemisch vorhanden war, die sie als 2-exo,3-endo,5-exo,6-endo,8,9,9,10,10-Nonachlorbornan identifizierten und welches daraufhin als

Tox Ac bezeichnet wurde. An einer 5,5 m langen Kieselgelsäule isolierten 1974 Anagnostopoulos und Parlar [13] fünf kristalline Substanzen, die alle als Grundgerüst ein Bornan aufwiesen. Burhenne [10] gelang es 1993 durch selektive Chlorierung, ausgehend von 2-exo,10-Dichlorbornan (2), mit anschließender Säulenchromatographie in Verbindung mit einem photochemischen Abbau acht Polychlorbornanderivate sowie ein Octachlorbornan in Form darzustellen. Ein Jahr später konnten Hainzl et. al. [30] 25 Verbindungen aus mit UV-Licht bestrahltem Toxaphen isolieren. Dazu wurde das bestrahlte Gemisch säulenchromatographisch vorgetrennt und anschließend mit präparativer HPLC in hoher Reinheit isoliert. Aus Melipax konnte Krock [36] einige Jahre später ein weiteres Bornanderivat (TOX7, 2-exo,3endo,5-exo,9,9,10-Heptachlorbornan) isolieren, dessen Strukturaufklärung mittels GC-MS (EI) und NMR-Messungen erfolgte (**Tab. 4**) [46,47].

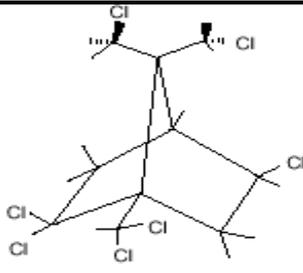
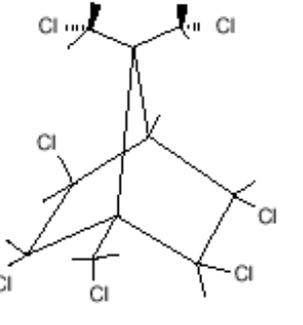
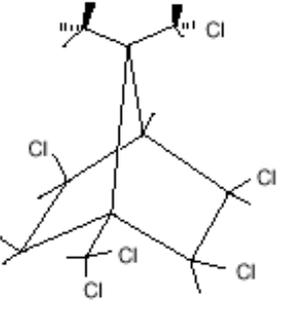
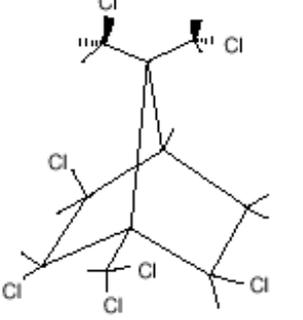
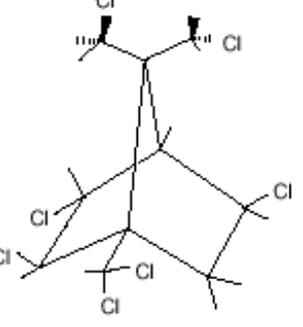
**Tab. 4:** Chemische Namen und Strukturformeln von bekannten Toxaphenen im technischen Gemisch

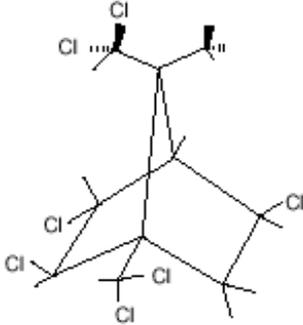
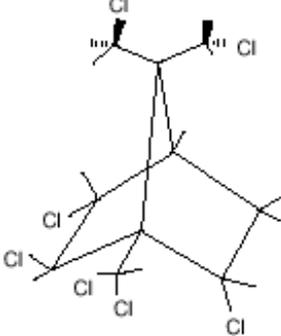
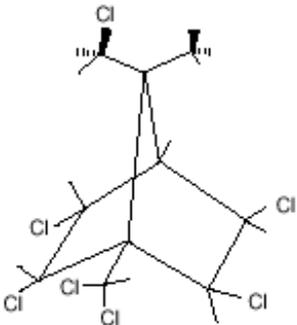
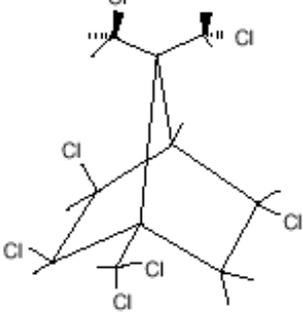
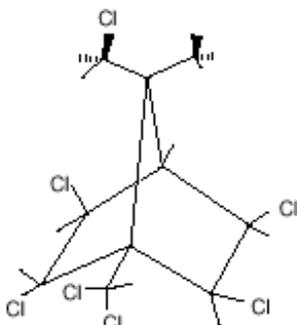
Nr.	Systematischer Name und Akronyme	Struktur	Lit.
1	(±)-2,3,5,8,9,10-Hexachlorborna-2,5-dien		[50]
2	(±)-2,5-endo,6-exo,8,9,10-Hexachlorborn-2-en		[10,55,50]
3	(±)-3,6,6,8,9,10-Hexachlorborn-2-en		[50]
4	(±)-2,2,3-exo-Trichlor,5,5-bis (chlormethyl), 6-(E)- chlormethylen,8,9,10-trinorboman (Parlar #11)		[64]

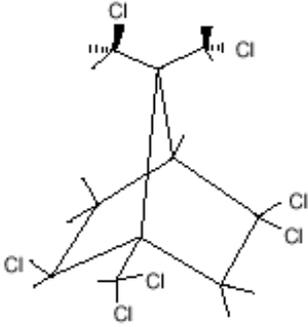
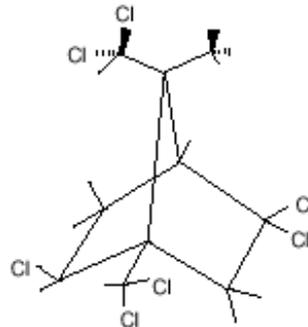
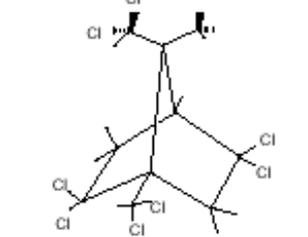
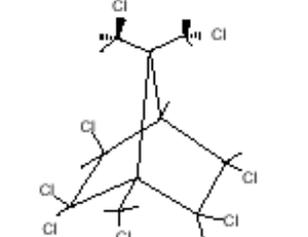
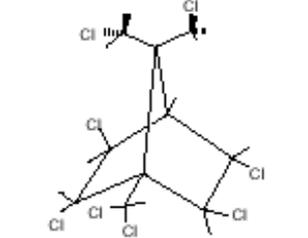
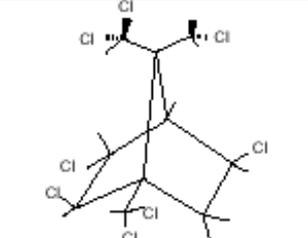
5	(±)-5-exo,6-endo-Dichlor,2,2-bis(chlormethyl),3-(E)-chlormethylen,8,9,10-trinorbornan (Parlar #12)		[64]
6	(±)-5-exo,6-endo,7-anti-Trichlor,2,2-bis chlormethyl),3- E)-chlormethylen,8,9,10-trinorbornan (Parlar #15)		[64]
7	(±)-2-exo,3-endo,6-endo,8,9,10-Hexachlorbornan (Parlar #M2, B6-913)		[237]
8	(±)-2-exo,3-endo,6-exo,8c,9b,10a-Hexachlorbornan (Parlar #M1, Hx-Sed, B6-923)		[10,52,55]
9	(±)-2,2,5,5,9c,10a,10b-Heptachlorbornan (Parlar #21, B7-499)		[64]
10	(±)-2,2,3-exo-Trichlor,5-endo-chlormethyl,6-(E)- chlormethylen,5-dichlormethyl,8,9,10-trinorbornan (Parlar #25)		[64]

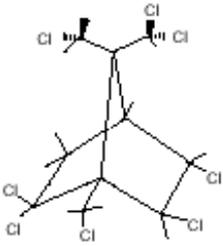
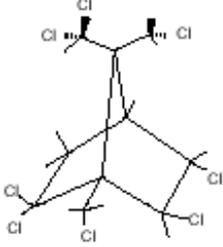
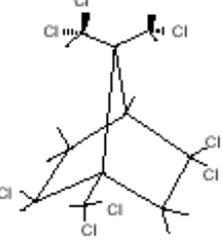
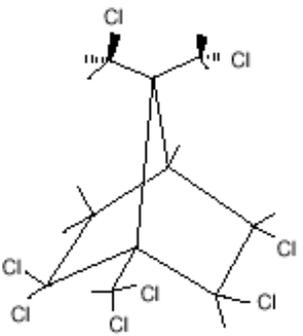
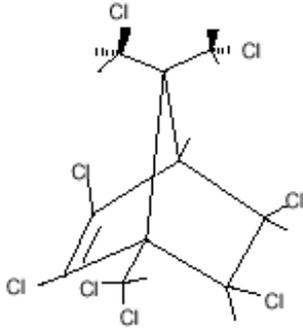
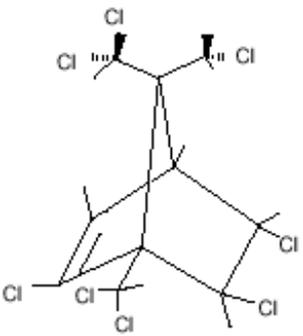
## II. Theoretischer Teil

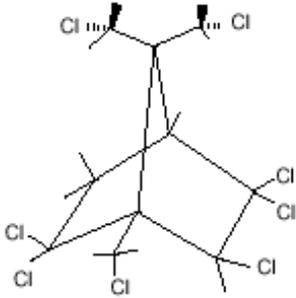
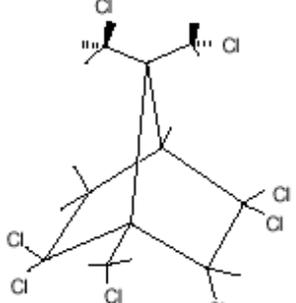
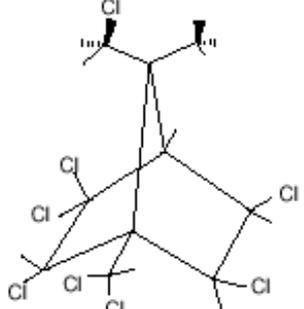
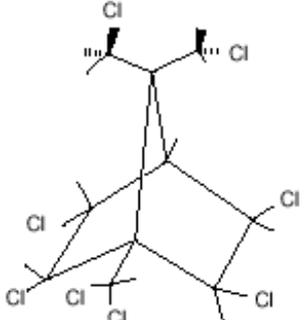
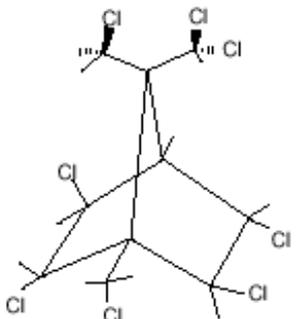
11	(±)-2-exo,5-exo,6-exo-Trichlor,3,3 bis (chlormethyl),2-dichlormethyl,8,9,10-trinorbornan		[49]
12	(±)-2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,10a,10c-Octachlorbornan (Parlar #26, B8-1413, TOX8, T2)		[64,66,56,57]
13	(±)-2,2,3-exo-Trichlor,6-(E) chlormethylen, 5,5-bis(dichlormethyl),8,9,10-trinorbornan (Parlar #31)		[64]
14	(±)-3,5-exo,6,6,8,9,10-Heptachlorborn-2-en		[50]
15	(±)-2,3,5-exo,6-exo,9,10,10-Heptachlorborn-2-en		[52,196]
16	(±)-2,2,5-endo,6-exo,8c,9b,10a-Heptachlorbornan (Parlar #32, B7-515, Toxicant B)		[54,64,50,66]

17	( $\pm$ )-2,2,5-exo,8,9,10,10-Heptachlorbornan (B7-560)		[66]
18	( $\pm$ )-2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8,9,10-Hepta- chlorbornan (B7-1001, Hp-sed)		[58]
19	( $\pm$ )-2-endo,3-exo,5-exo,6-exo,8,10,10-Hepta- chlorbornan (B7-1026)		[66]
20	( $\pm$ )-2-endo,3-exo,6-exo,8,9,10,10- Heptachlorbornan (B7-1059)		[66]
21	( $\pm$ )-2-exo,3-endo,5-exo,8,9,10,10-Hepta- chlorbornan (B7-1450)		[66]

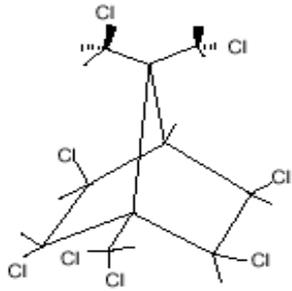
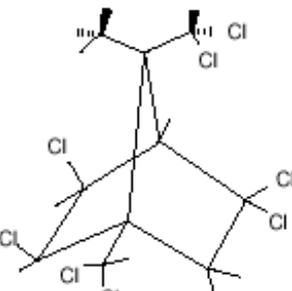
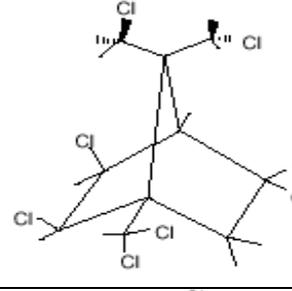
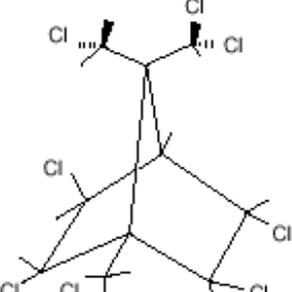
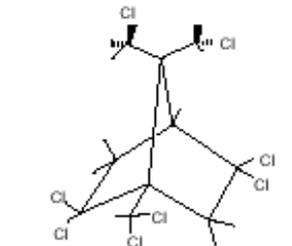
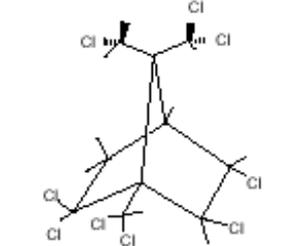
22	<p>(±)-2-exo,3-endo,5-exo,9,9,10,10-Heptachlorbornan (B7-1453, TOX 7)</p>		[46,66]
23	<p>(±)-2-exo,3-endo,6-endo,8,9,10,10-Heptachlorbornan (B7-1462)</p>		[66]
24	<p>(±)-2-endo,3-endo,5-exo,6-exo,9,10,10-Heptachlorbornan (B7-1572)</p>		[196]
25	<p>(±)-2-exo,3-exo,5-endo,8,9,10,10 Heptachlorbornan (B7-1584)</p>		[66]
26	<p>(±)-2-endo,3-exo,5-exo,6-exo,9,10,10-Heptachlorbornan (B7-1592)</p>		[196]

27	( $\pm$ )-2-exo,5,5,8c,9b,10a,10b-Hepta-chlorbornan (B7-1712)		[66]
28	( $\pm$ )-2-exo,5,5,9b,9c,10a,10b-Hepta-chlorbornan (B7-1715)		[66]
29	( $\pm$ )-2,2,5,5,9b,9c,10a,10b-Octachlorbornan (Parlar #38, B8-789)		[64]
30	( $\pm$ )-2,2,3-exo,5-endo,6-exo,8c,9b,10a-Octachlorbornan (Parlar #39, B8-531)		[64,50]
31	( $\pm$ )-2-endo,3-exo,5-endo,6 exo,8b,9c,10a,10c- Octachlorbornan (Parlar #40, B8-1414)		[64,66]
32	( $\pm$ )-2-exo,3-endo,5-exo,8c,9b,9c,10a,10b-Octachlorbornan (Parlar #41, B8-1945)		[64,66]

33	( $\pm$ )-2,2,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a-Octachlorbornan (Parlar #42a, B8-806, Toxicant A <sub>1</sub> )		[64,55]
34	( $\pm$ )-2,2,5-endo,6-exo,8c,9b,9c,10a-Octachlorbornan (Parlar #42b, B8-809, Toxicant A <sub>2</sub> )		[64,55]
35	( $\pm$ )-2-exo,5,5,8c,9b,9c,10a,10b-Octachlorbornan (Parlar #44, B8-2229)		[64,66]
36	( $\pm$ )-2,2,5-endo,6-exo,8c,9b,10a,10b-Octachlorbornan (Parlar #49a, B8-810)		[50,64,192]
37	( $\pm$ )-2,3,5-exo,6-exo,8,9,10,10-Octachlorborn-2-en		[16,233]
38	( $\pm$ )-2,5-endo,6-exo,8,9,9,10,10 Octachlorborn-2-en		[53]

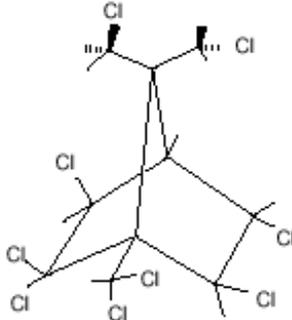
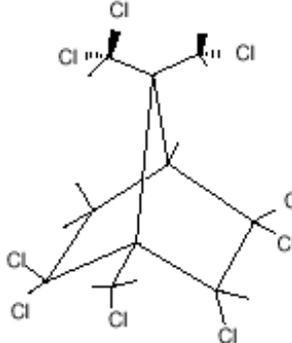
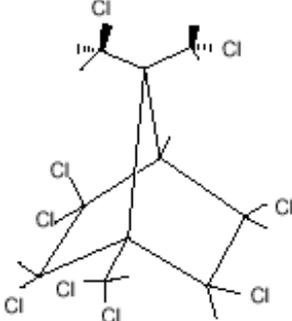
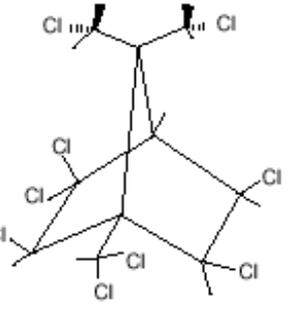
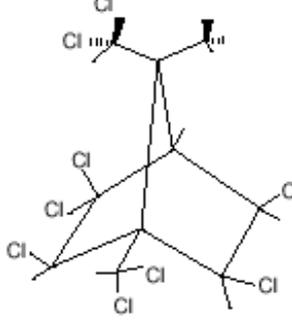
39	( $\pm$ )-2,2,5,5,6-exo,8,9,10-Octachlorbornan (B8-733)		[58]
40	( $\pm$ )-2,2,5,5,6-endo,8,9,10-Octachlorbornan (B8-763)		[50]
41	( $\pm$ )-2-endo,3,3,5-exo,6-exo,9,10,10-Octachlorbornan (B8-1058)		[13]
42	( $\pm$ )-2-endo,3-endo,5-exo,6-exo,8,9,10,10-Octachlorbornan (B8-1252)		[16,233]
43	( $\pm$ )-2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8,8,9,10-Octachlorbornan (B8-1412)		[59]

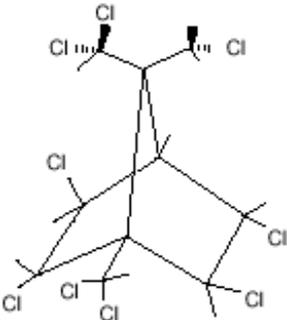
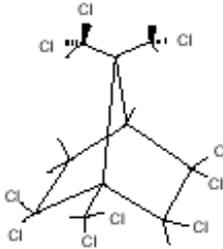
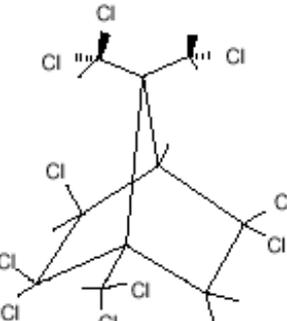
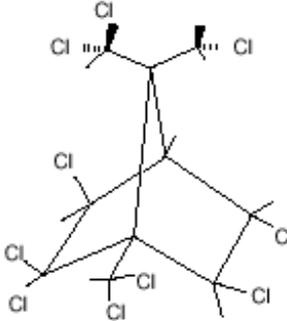
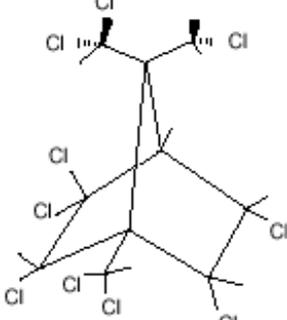
## II. Theoretischer Teil

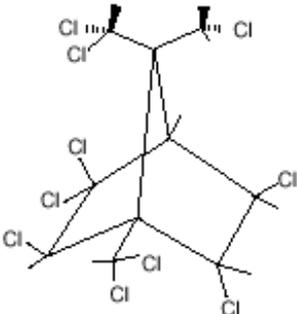
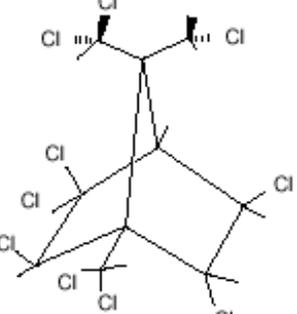
44	$(\pm)$ -2-endo,3-exo,5-exo,6-exo,8,9,10,10-Octachlorbornan (B8-1440)		[16,233]
45	$(\pm)$ -2-exo,3-exo,5,5,8,8,10,10-Octachlorbornan (B8-2075)		[66]
46	$(\pm)$ -2-exo,3-exo,5,5,8,9,10,10-Octachlorbornan (B8-2078)		[18]
47	$(\pm)$ -2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a,10c-Nonachlorbornan (Parlar #50, B9-1679, Toxicant Ac, TOX9, T12)		[56,57,66]
48	$(\pm)$ -2,2,5,5,8c,9b,10a,10b-Octachlorbornan (Parlar #51, B8-786)		[64]
49	$(\pm)$ -2,2,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a,10c-Nonachlorbornan (Parlar #56, B9-1046)		[64,50]

## II. Theoretischer Teil

50	(±)-2,2,3-exo,5,5,8c,9b,10a,10b-Nona-chlorbornan (Parlar #58, B9-715)		[64,50]
51	(±)-2,2,5-endo,6-exo,8c,9b,9c,10a,10b-Nona-chlorbornan (Parlar #59, B9-1049)		[64]
52	(±)-2,2,5,5,8c,9b,9c,10a,10b-Nona-chlorbornan (Parlar #62, B9-1025)		[64,66]
53	(±)-2-exo,3-endo,5-exo,6-exo,8,8,9,10,10-Nonachlorbornan (Parlar #63, B9-2206)		[51,53]
54	(±)-2,2,3-exo,5,5,9,9,10,10-Nonachlorbornan (B9-718)		[66]
55	(±)-2,2,3-exo,5-endo,6-exo,8,8,9,10-Nonachlorbornan (B9-739)		[48]
56	(±)-2,2,3-exo,5-endo,6-exo,8c,9b,9c,10a-Nonachlorbornan (B9-742)		[64]

57	<p>(±)-2,2,3-exo,5-endo,6-exo,8,9,10,10-Nona-chlorbornan (B9-743)</p>		[50]
58	<p>(±)-2,2,5,5,6-exo,8c,9b,9c,10a-Nonachlor-bornan (B9-1011)</p>		[64]
59	<p>(±)-2-endo,3,3,5-exo,6-exo,8,9,10,10-Nonachlorbornan (B9-1327, Tox C)</p>		[13]
60	<p>(±)-2-exo,3,3,5-exo,6-endo,8,9,10,10-Nona-chlorbornan (B9-2006)</p>		[58]
61	<p>(±)-2-exo,3,3,5-exo,6-endo,9,9,10,10-Nona-chlorbornan B9-2009)</p>		[58]

62	( $\pm$ )-2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8,9,9,10,10-Nonachlorbornan (B9-2200)		[10]
63	( $\pm$ )-2,2,5,5,6-exo,8c,9b,9c,10a,10b-Decachlorbornan (Parlar #69, B10-1110)		[64,66]
64	( $\pm$ )-2,2,3-exo,5,5,8c,9b,9c,10a,10b-Decachlorbornan (B10-831)		[64,66]
65	( $\pm$ )-2,2,3-exo,5-endo,6-exo,8c,9b,9c,10a,10b-Decachlorbornan (B10-860)		[64,66]
66	( $\pm$ )-2-endo,3,3,5-endo,6-endo,8,9,9,10,10-Decachlorbornan (B10-1361)		[13]

67	$(\pm)$ -2-exo,3,3,5-exo,6-endo,8,9,9,10,10-Decachlorbornan (B10-1981)		[61]
68	$(\pm)$ -2-exo,3,3,5-exo,6-endo,8,9,9,10,10-Decachlorbornan (B10-1993)		[66]

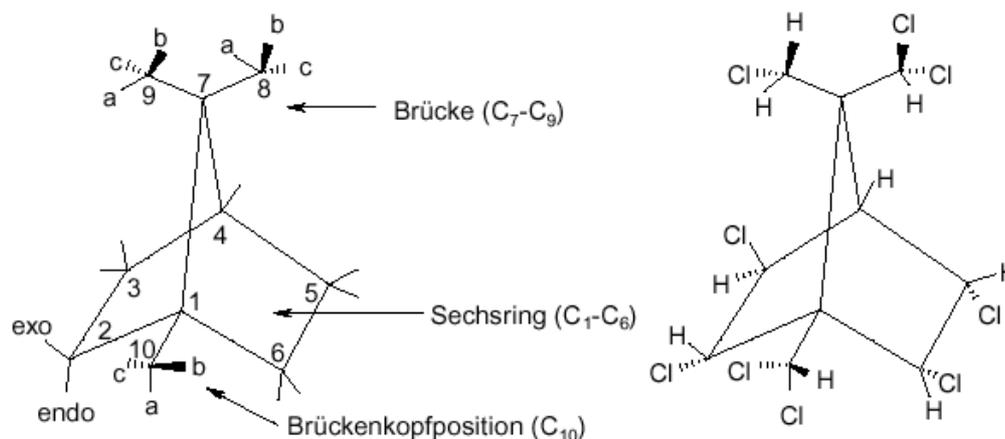
## 2. Identifizierte Einzelkomponenten des Toxaphens

### 2.1. Isolierung von Toxaphenkongeneren aus dem technischen Gemisch

Aufgrund der Tatsache, dass es bis vor kurzem kaum Toxaphene als Einzelstandards gab, musste die Quantifizierung der in Umweltproben enthaltenen Toxaphene mittels des technischen Toxaphens als externem Standard erfolgen. Wie aus **Abb. 4, Kap. 1.3** ersichtlich wird, ist es mit Hilfe der GC nicht möglich, alle Einzelverbindungen des technischen Gemisches voneinander zu trennen. Auch die exakte Quantifizierung unbekannter Toxaphene mit bekannten, verfügbaren Toxaphenen mit gleichem Chlorierungsgrad ist nicht möglich, da die einzelnen Toxaphene unterschiedliche Responsefaktoren sowohl bei der HRGC/ECD- als auch bei HRGC/ECNI-MS-Analyse aufweisen (**vgl. Kap. 5.3**) [60,61]. Um diese Schwierigkeiten und Ungenauigkeiten in der Quantifizierung zu vermeiden, wurden und werden Bestandteile des technischen Toxaphens seit Beginn der siebziger Jahre isoliert und synthetisiert.

Durch aufwendige Trennverfahren mittels Adsorptionschromatographie gelangen Casida et al. [54] 1974 erstmals die Isolierung zweier Fraktionen, die sie als Toxicant A (Tox A) und Toxicant B (Tox B) bezeichneten [54]. Toxicant B konnte durch Röntgenstrukturanalyse eindeutig als 2,2,5-endo,6-exo,8c,9b,10a-Heptachlorbornan, Parlar #32 (B7-515), (**vgl. Kap. 1.3, Tab. 4**), identifiziert werden und stellt in technischen Gemischen einen Anteil von 3-4 %.

Toxicant A stellte sich später als ein Gemisch aus zwei Octachlorbornanen (2,2,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a-Octachlorbornan, Tox A<sub>1</sub>, Parlar #42a und 2,2,5-endo,6-exo,8c,9b,9c,10a-Octachlorbornan, Tox A<sub>2</sub>, Parlar #42b; vgl. **Tab. 4**) und einem Nonachlorbornan (2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a,10c-Nonachlorbornan, Tox Ac, Parlar #50 (**Abb. 5**)) heraus. Wie die Strukturaufklärung zeigte, bestand der einzige Unterschied zwischen den zwei Octachlorbornanen darin, dass die in C-8- und C-9-Position vorhandenen Chlormethyl- und Dichlormethylgruppen vertauscht sind [12]. Die eindeutige Identifizierung des Nonachlorbornans, Tox Ac genannt, gelangen Chandurkar et al. [62] etwas später.



**Abb. 5:** Bornangerüst mit der Nummerierung der C-Atome nach IUPAC und die Struktur von 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a,10c-Nonachlorbornan (rechts)

1974 konnten Anagnostopoulos und Parlar [13] fünf weitere, kristalline Substanzen durch Adsorptionchromatographie an einer 5,5 m langen Kieselsäule isolieren. Drei der Verbindungen, ein Octa-, ein Nona- und Decachlorbornanen konnten in ihrer Struktur aufgeklärt werden (vgl. **Tab. 4**).

Lach und Parlar [63] entwickelten im Jahr 1990 einen Standard, der in seiner Zusammensetzung stark an die Toxaphenmuster erinnert, wie man sie in Fischen und Fischprodukten findet. Dieser sogenannte CB- Standard (CB = Camphechlor-bestrahlt) wurde durch Bestrahlung von Toxaphen bei ca. 254 nm und anschließende säulenchromatographische Reinigung an Kieselgel hergestellt. Diese Herstellung entsprach in etwa den abiotischen Bedingungen in der Umwelt, unter denen Dechlorierungen bzw. Dehydrochlorierungen stattfinden, die zu einer Vereinfachung des Peakmusters im Toxaphen führen.

Einen weiteren wichtigen Beitrag zur Isolierung von einzelnen Toxaphenkomponenten lieferten Hainzl et al. [30,48,64], denen es 1994 gelang, 25 Verbindungen im Milligramm-

Bereich zu isolieren. Nach säulenchromatographischer Vortrennung von mit UV-Licht bestrahltem Toxaphen und anschließender präparativer HPLC (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie) konnten neben Toxicant A ((A<sub>1</sub> und A<sub>2</sub>), Parlar #42a/b, (B8-806/9)), Toxicant B (Parlar #32, B7-515) und 17 Bornanisomeren auch fünf Verbindungen mit einem Camphengrundgerüst identifiziert werden. Ob die erhaltenen Camphenderivate tatsächlich im technischen Toxaphen vorhanden sind, war jedoch nicht sicher.

Aus Melipax konnten Krock et al. [46] einige Jahre später ein weiteres Bornanderivat (2-exo,3-endo,5-exo,9,9,10,10-Heptachlorbornan, Tox 7, (B7-1453) (**vgl. Tab. 4**) isolieren, dessen Strukturaufklärung mittels GC-MS-EI (Elektronenstoßionisation) und NMR-Messungen (Kernresonanzspektroskopie) erfolgte. In einer neueren Arbeit aus dem gleichen Arbeitskreis wird die Existenz von 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8,8,9,10-Octachlorbornan (B8-1412) im technischen Gemisch diskutiert. Nach der Isolierung aus marinen Säugern wurde die Struktur dieses in Umweltproben persistenten Toxaphenkongeners aufgeklärt. Die Verbindung erfüllt wesentliche Bedingungen hinsichtlich seiner Strukturmerkmale und ist im technischen Gemisch auch detektiert worden [59]. Insgesamt sind bis heute 68 Verbindungen aus dem technischen Gemisch bekannt und in ihrer Struktur aufgeklärt (**vgl. Tab. 4**), wobei ein von Vetter et al. [65] isoliertes Kongener aus Melipax, welches wahrscheinlich ein Heptachlorbornan ist, noch nicht berücksichtigt wurde.

### 2.2. Synthese von Toxaphen

Die Synthese von Toxaphenkongeneren stellt eine weitere Möglichkeit der Gewinnung dar. Niedrig chlorierte Bornanisomere wie 2-endo,6-endo-Dichlorbornan (B2-7), 2-exo,10-Dichlorbornan (B2-20) und 2-exo,10,10-Trichlorbornan (B3-90) sind schon länger bekannt. Turner et al. [50] konnten durch Chlorierung von 2-exo,10-Dichlorbornan (Bestrahlung mit einer Sonnenlichtlampe bei 0 °C) und anschließender Säulenchromatographie an Kieselgel das 2,2,5-endo,6-exo,8c,9b,10a-Heptachlorbornan (Parlar #32) im Grammbereich herstellen. Burhenne [10] gelang 1993 die Synthese von acht polychlorierten Bornanderivaten und einem Octachlorbornan. Durch selektive Chlorierung von 2-exo,10-Dichlorbornan und nachfolgende Säulenchromatographie an Kieselgel konnten 5 Verbindungen isoliert werden. Drei weitere Komponenten und 2,5-endo,6-exo,8c,9b,9c,10a,10c-Octachlorbornan konnten durch photochemischen Abbau des im ersten Schritt erhaltenen 2,2,3-exo,5-endo,6-exo,8c,9b,9c,10a,10b-Decachlorbornans hergestellt werden. Außerdem wurde Parlar #50 aus einer angereicherten säulenchromatographischen Fraktion nach photochemischer Umsetzung koeluierender Verbindungen gewonnen [10].

Besonders erfolgreich bei der Synthese von Toxapheneinzelkomponenten waren Nikiforov et al. [66,67,68], die mehr als 30 Verbindungen herstellen und identifizieren konnten. Die zwei nach der schonenden Chlorierung von Camphen erhaltenen Hauptprodukte 2-exo,10-Dichlorbornan und 2-exo,10,10-Trichlorbornan wurden gereinigt und anschließend getrennt weiterchloriert. Das erhaltene Gemisch, das weniger komplex als das technische Toxaphen ist, wurde an einer Kieselgelsäule (2 m x 5 cm) mit n-Hexan als Elutionsmittel fraktioniert. Durch fraktionierte Kristallisation konnten neben einigen bereits bekannten Verbindungen verschiedene Heptachlorbornane, aber auch Octa-, Nona- und Decachlorbornane isoliert werden.

### 2.3. Isolierung von Toxaphenkongeneren aus Umweltproben

Die Isolierung von Toxaphenkomponenten aus dem technischen Gemisch oder die Synthese, ausgehend von niederchlorierten Bornanderivaten, garantiert noch nicht, dass diese gewonnenen Kongenere Umweltrelevanz haben. Auch könnte es sich in den Umweltproben um Metabolite handeln, welche in den technischen Gemischen nicht enthalten sind. Zwar gelang über die Synthese von Toxaphenen der Durchbruch in der Toxaphenanalytik, doch ist die Gewinnung von Toxaphenkomponenten aus biologischen Matrices ebenfalls eine effektive Methode [69].

Durch den Einsatz mehrerer Kilogramm an biologischem Material können zwar nur wenige Mikrogramm eines entsprechenden Toxaphenkongeners gewonnen werden, doch sind diese Mengen ausreichend für eine Strukturaufklärung [69]. Auch ist es möglich, durch Kalibrierung einer verdünnten Lösung mittels GC-FID (Flammenionisationsdetektor) [9,46] einen Toxaphenstandard definierter Konzentration mikropräparativ herzustellen, welcher aus einer Synthese nicht hätte gewonnen werden können.

So wurden seit Beginn der 90er Jahre mehrere umweltrelevante Toxaphenkomponenten direkt aus Umweltproben isoliert. Diese Proben wiesen Toxaphenrückstände auf, deren Zusammensetzung keinesweges mit der des technischen Gemisches übereinstimmt. Stern et al. [56] isolierten die Komponenten 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,10a,10c-Octachloran (Parlar #26, B8-1413) und 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a,10c-Nonachloran (Parlar #50, B9-1679) mittels Dialyse und anschließender Flüssigkeitschromatographie an Kieselgel aus 2 kg Fett vom Beluga- bzw. Weißwal (*Delphinapterus leucas*). Die weitere Extraktreinigung zur Abtrennung störender Organochlorverbindungen erfolgte mit Hilfe der HPLC an einer RP(reversed phase)-C<sub>18</sub>-Phase (RP-HPLC) sowie die anschließende Strukturaufklärung mit NMR-Analyse.

Fast zeitgleich gelangen Vetter et al. [9] die Isolierung der gleichen Substanzen (hier TOX8 und TOX9 genannt) aus 3,5 kg Fett eines an der Ostseeküste verendeten Seehundes (*Phoca vitulina*). Die hierbei isolierten Mengen der Toxaphenkomponenten reichten jedoch nicht für NMR-Messungen aus. Außerdem konnte das Octachlorbornan nur in geringer Reinheit isoliert werden. Eine weitere, bis dahin nicht bekannte Verbindung konnte Vetter et al. 1997, wiederum aus Seehundfett, isolieren. Durch NMR-Messungen und –Vergleiche anderer chlorierter Bornane konnte das Kongener als 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8,8,9,10-Octachlorbornan (vgl. **Tab. 4**) charakterisiert werden [59].

Eine andere Arbeitsgruppe [234] isolierte 1998 aus 10 kg Fett von Eismeer-Ringelrobben (*Pusa (Phoca) hispida*) Toxicant A, welches aus den beiden Verbindungen 2,2,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a-Octachlorbornan (Parlar #42a) und 2,2,5-endo,6-exo,8c,9b,9c,10a-Octachlorbornan (Parlar #42b) besteht. Diese Verbindung, die zu den toxischsten Toxaphenkongeneren gehört, wurde in ausreichenden Mengen isoliert [70], so dass die Struktur mit NMR-Analyse bestimmt und mit dem aus der Synthese entstandenen Standard verglichen werden konnte. Die Spektren beider Verbindungen stimmten überein und bestätigten die Zuordnungen, die über den Vergleich der Retentionszeiten und der Fragmentierungsmuster erzielt wurden. Weiterhin wurden die ebenfalls synthetisierten und als Standard erhältlichen Toxaphene mit den Namen 2,2,3-exo,5-endo,6-exo,8c,9b,10a-Octachlorbornan (Parlar #39) und 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8b,9c,10a,10c-Octachlorbornan (Parlar #40) in ausreichender Menge isoliert und in ihrer Struktur bestätigt.

### **3. Toxizität von Toxaphen und seinen Komponenten**

#### **3.1 Einleitung**

Die Einführung von Chlor in organische Verbände führt neben der Erhöhung der Lipophilie und der Stabilität auch zu größerer biologischer Reaktivität [71]. Wie alle insektiziden Organochlorverbindungen wirkt auch Toxaphen neurotoxisch. Bei allen Organismen werden die Symptome von Übererregung und Lähmung motorischer und in geringen Maße auch sensorischer Nerven bestimmt. Die akuten Vergiftungserscheinungen beginnen mit Ruhelosigkeit, Schwindel und Salivation, gefolgt von Tremor und Muskelzuckungen. Höhere Dosen führen zu Krämpfen und spastischen Lähmungen. Durch Atemlähmung kommt es zum Tod, pathologisch lassen sich primär degenerative Veränderungen an Gehirn und Rückenmark sowie Lungenödeme diagnostizieren [72]. Als Spätfolgen können motorische und sensible Beeinträchtigungen bestehen bleiben [73]. Bis zum Jahr 1975 wurden 13 Fälle

bekannt, wo Toxaphen die Todesursache bei Menschen (überwiegend Kinder) war [74]. Im Vergleich zu Dioxin (2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-p-dioxin) wird für Toxaphen eine 3,73-fach geringere Toxizität bei Mäusen (*Mus spp.*) angegeben [75].

Neben der akuten Neurotoxizität (vgl. Tab. 5) verursacht Toxaphen chronische Erkrankungen der unterschiedlichsten Organe, wie die des zentralen Nervensystem (ZNS), der Leber, Niere und Reproduktionssysteme. Hormonelle Wirkungen und Einflußnahme auf endokrine Mechanismen werden diskutiert, sowie synergistische, kombinatorische und eventuell auch antagonistische. Eindeutiger sind kanzerogene und mutagene Wirkungen zu beobachten (vgl. Kap. 3.3.2, Tab. 5) [76].

**Tab. 5:** Neurologische und entwicklungsphysiologische Störungen nach Toxaphengaben

Tierart	Applikationsart u. -dauer	Dos*	Wirkung	Lit.
Ratte ( <i>Rattus spp.</i> )	oral/3 Tage, 1x proTag	25	Tremor, Unruhe	[77]
Meerschweinchen ( <i>Cavia porcellus</i> )	oral/einmalig	300	10 % verringertes Gehirngewicht, ↓ und ACh-esterase ↓	[78]
Hund (Beagle) ( <i>Canis familiaris</i> )	oral/2 Tage	10 5	Konvulsiv, Salivation, Vomitus NOAEL	[79]
Ratte ( <i>Rattus spp.</i> )	ad lib./14 Tage	10	NOAEL	[80]
Ratte ( <i>Rattus spp.</i> )	oral, 7-16 Zyklustage, 1x pro Tag	12,5	verringerte fetale Nierenproteine	[81]
Maus ( <i>Mus spp.</i> )	oral, 7-16 Zyklustage, 1x pro Tag	35	NOAEL	[82]

\*Dos.= Dosis, mg/kg; ad lib. = ad libidum; NOAEL = no-observed adverse effect level  
ACh = Acetylcholin; ↓ = verringerte Enzymaktivität

### 3.2 Akute Toxizität

Toxische Effekte von Xenobiotika in biologischen Systemen spiegeln stets biochemische Prozesse wider. Die primär „erwünschte“ Wirkung von Toxaphen zur Vernichtung von Insekten, Fischen und Nagern geht von der Wirkung auf das Nervensystem aus. Studien über die Wirkung von Toxaphen, wie auch die anderer Organochlorpestizide, auf die Enzymsysteme des zentralen Nervensystems (ZNS) haben sich in den letzten Jahren auf den  $\gamma$ -Aminobuttersäure ( $GABA_A$ )-Rezeptor konzentriert [83]. GABA ist der wichtigste, prä- und postsynaptische inhibitorische Neurotransmitter im Säugetier-ZNS sowie in peripheren Interneuronen von Nematoden und in neuromuskulären Synapsen von Arthropoden [84]. Es

gibt zwei Typen von GABA-Rezeptoren: GABA<sub>A</sub> und GABA<sub>B</sub>. Der GABA<sub>A</sub>-Rezeptor ist ein membrangebundener Rezeptor mit drei Bindungsstellen für 1. GABA und Benzodiazepine, 2. Barbiturat/Picrotoxin oder 3. t-Butylbicyclophosphorothionat (TBPS) mit Cl<sup>-</sup>-Ionenkanal [83]. Die drei Komponenten regeln die Chloridionenpermeabilität, dessen Steigerung zu einer Hyperpolarisation der Membranen führt und damit eine lähmende Wirkung erzeugt. Die konvulsiven Wirkungen der Insektizide sind grundsätzlich durch die Blockade der GABA-Rezeptoren erklärbar, wobei Toxaphen möglicherweise als nichtkompetitiver GABA<sub>A</sub>-Rezeptorantagonist fungiert. Weiterhin blockiert Toxaphen den GABA-aktivierten Chloridkanal und hemmt den Chlorioneninflux [83]. In Untersuchungen von Saleh und Blancato [85] aus dem Jahr 1993 konnte nach Isolierung der genannten Rezeptoren eine Zunahme der Bindungsaffinität von Toxaphen in der Reihe: Ziege < Rind < Ratte < Fisch festgestellt werden.

Lawrence und Casida konnten 1984 nachweisen, dass Toxaphen die Bindung von TBPS an den GABA-Rezeptor kompetitiv hemmt. Die toxischen Wirkungen von Toxaphen und einigen Komponenten standen dabei in Abhängigkeit zu der Bindungsfähigkeit an den GABA-Rezeptor und, damit verbunden, der Blockierung der TBPS-Bindungsstelle [86]. Matsumura und Tanaka [87] untersuchten die Interaktion von Toxaphen mit der Picrotoxinbindungsstelle. Sie berichteten, dass Insekten mit einer reduzierten Rezeptorsensitivität gegenüber Picrotoxin eine erhöhte Toxaphenresistenz aufweisen. In einer anderen Studie von Tanaka [88] konnte gezeigt werden, dass die Affinität von Picrotoxin, Heptachlorepoxid und wahrscheinlich auch von Toxaphen in Insekten zu den Picrotoxinbindungsstellen höher ist als die der in Rattengehirnen.

Neben den Wirkungen auf die GABA-Rezeptoren ließen sich auch Einflüsse auf den Calcium/Kalium Transport durch Zellmembranen nachweisen. Whitson und Crowder [89] führten den intrazellulären signifikanten Anstieg von <sup>45</sup>Ca<sup>2+</sup> und <sup>42</sup>K<sup>+</sup> in Nervenzellen der amerikanischen Schabe (*Periplaneta americana*) auf die Wirkung von Toxaphen zurück. Der intrazelluläre Anstieg von <sup>42</sup>K<sup>+</sup>, welcher bei DDT oder Dieldrin nicht beobachtet wurde, war durch die Hemmung des hierfür verantwortlichen, membranständigen Carrier-Proteins, die Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-abhängige Adenosintriphosphat(ATP)ase, verursacht worden. Weiterhin konnte ein signifikanter Abfall des Ca<sup>2+</sup>-Effluxes festgestellt werden. Moorthy et al. [90] verdeutlichten durch Untersuchungen an Rattengehirnen, dass Toxaphen in Abhängigkeit von der Konzentration die Ca<sup>2+</sup>-ATPase und die <sup>45</sup>Ca<sup>2+</sup>-Aufnahme hemmt. Durch die externe Zugabe von Calmodulin konnte sowohl die Enzymaktivität als auch die Aufnahme wiederhergestellt werden. Daraufhin vermuteten sie, dass Toxaphen primär die Calmodulinkonzentrationen

bzw. seine  $\text{Ca}^{2+}$ -Bindungsfähigkeit beeinflusst und so der verschlechterte aktive Calciumtransport zu erklären ist.

Andere Untersuchungen über die ATPase-Aktivitäten nach Toxaphenzugaben in Gehirn-, Nieren- und Leberzellen von Mäusen machten Trottmann und Desai [91]. Die Aktivität der  $\text{Na}^+$  und  $\text{K}^+$ -ATPasen in den Gehirn- und Nierenzellen zeigten eine konzentrationsunabhängige Hemmung durch Toxaphen. Dagegen war die Hemmung der mitochondrialen  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase-Aktivität in allen drei Zellkulturen deutlich konzentrationsabhängig. Ähnliche Ergebnisse konnten nach der oralen Applikation von Toxaphen erzielt werden, wobei die ATPase-Aktivität in den Gehirnzellen nicht deutlich herabgesetzt war, was auf einen möglichen Abbau in der Leber und der Niere zurückgeführt wurde. Fattah und Crowder [92] konnten durch vergleichende Studien an Mäusen (*Mus spp.*), Schaben (*Periplaneta americana*) und dem getüpfelten Gabelwels (*Ictalurus punctatus*) insgesamt feststellen, dass die ATPase-Aktivitäten in Verbindung mit Toxaphenzugaben abhängig von dem Organ und der Tierart sind sowie außerdem in einer Dosis-Wirkungs-Beziehung stehen.

Die Bestimmung der akuten Toxizität wird durch eine einmalige bzw. kurzfristig wiederholte Zufuhr einer zu prüfenden Substanz durchgeführt. Diese erfolgt meist in *in vivo*-Versuchen oral, dermal, intravenös oder durch Inhalation. Die Wirkungsqualität wird als letale Dosis ( $\text{LD}_{50}$ -Wert), bei der 50 % der Individuen eines Kollektivs sterben, angegeben. Diese hängt bei Toxaphen stark von der Zusammensetzung des technischen Gemisches ab. Die durch Umkristallisation aus Methanol erhaltenen Fraktionen zeigten in toxikologischen Untersuchungen sehr unterschiedliche Toxizitäten für verschiedene Insekten (vgl. Tab. 6).

**Tab. 6:** Akute Toxizität\* von technischem Toxaphen im Vergleich zu den zwei Toxaphenfraktionen nach Umkristallisation aus Methanol [29]

Tierart	Technisches Toxaphen	Kristalliner Anteil	Öliger Anteil
Stubenfliege	++	++	++
Senfkäfer	++	-	+
Baumwollwurm	++	++	++
Blattlaus	++	+	+
Milbe	++	-	-

\*(++ = völlig abtötend, + = teilweise abtötend, - = keine Wirkung)

Im Gegensatz zu dem technischen Gemisch konnte weder der kristalline noch der ölige Anteil Milben abtöten, während der  $\text{LD}_{50}$ -Wert für die Stubenfliege bei dem öligen Anteil mit 0,85

µg/Fliege niedriger lag als beim technischen Toxaphen (1,5 µg) bzw. dem kristallinen Anteil (1,6 µg) [29].

In Untersuchungen von Khalifa et al. [11] konnte für Parlar #32 (B7-515) nach intraperitonealer (i. p.) Injektion an Mäusen eine 6-fach höhere Toxizität als für das technische Gemisch beobachtet werden. Parlar #42a/b (B8-806/9) besaß sogar eine 14-fach höhere Toxizität. Parlar #50 (B9-1679) zeigte eine 4fach höhere Toxizität gegenüber Fischen als das technische Gemisch [62]. Die unterschiedliche akute Toxizität von Toxaphenkomponenten veranlaßten Saleh et al. [55], ausgehend von Parlar #32 (B7-515), Struktur-Wirkungs-Beziehungen aufzustellen. In Abhängigkeit von der Chlorposition im Molekül konnte eine Veränderung in der Toxizität festgestellt werden und ebenso, dass die Wirkungssteigerung verbunden ist mit der Einführung eines weiteren Chloratoms in die C-8- bzw. C-9- Position (vgl. Tab. 7).

**Tab. 7:** Struktur-Wirkungs-Beziehungen einiger Toxaphenkomponenten relativ zu Toxicant B (Parlar #32) [55]

Toxaphenkomponenten*	Position des Chloratoms relativ zu Toxicant B (Parlar #32)		Maus	Stubenfliege	Goldfisch
	Substitution	Dehydro- bzw. Dechlorierung			
Parlar #32, B7-515			100	100	100
Parlar #39, B8-531	3-exo		< 75	62	7
B8-773	5-exo		ca. 312	44	22
Parlar #42a, B8-806	8		2272	209	264
Parlar #42b, B8-809	9		> 3000	> 371	> 527
B8-810	10		< 75	14	8
B9-743	3-exo,10			12	3
Parlar #56, B9-1046	8,10			19	7
B6-923		2-endo		32	60
B6-913		2-exo		5	3
Hexachlorbornen		2,3		32	11
Hexachlorbornen		5,6	ca. 115	5	< 3

\* neuere Bezeichnungen nach Parlar # und nach AV-Code

Aquatische Organismen sind besonders empfindlich gegenüber Toxaphen. Konzentrationen von ca. 50 µg/l können für viele Fischarten bereits tödlich sein. Während der Grenzwert der

akuten Toxizität für Salzwasserfische mit 0,07 µg/l angegeben wird, liegt er bei Süßwasserfischen bei 1,6 µg/l (**vgl. Tab. 8**) [93].

**Tab. 8:** LC<sub>50</sub>-Werte von technischem Toxaphen für einige Fischarten [94,72]

Tierart *	LC <sub>50</sub> (µg/l)
<b>Süßwasserfische</b>	
Forellenbarsch <i>Micropterus salmoides</i>	2,0
Blauer Sonnenbarsch <i>Lepomis macrochirus</i>	2,4-29,0
Forelle <i>Salmo trutta</i>	3,1
Karpfen <i>Cyprinus carpio</i>	3,7
Regenbogenforelle <i>Salmo gairdenia</i>	10,6
Gelber Barsch <i>Perca flavescens</i>	12,0
Goldfisch <i>Carassius auratus</i>	14,0
Amerikanische Elritze <i>Pimephales promelas</i>	18,0
Guppy <i>Poecilia reticulata</i>	20,0
<b>Salzwasserfische</b>	
Meerbrasse <i>Lagodon rhomboides</i>	0,5
Edelsteinkärpfling <i>Cyprinodon variegatus</i>	1,1
Streifenbarsch <i>Morone saxatilis</i>	4,4
Dreistacheliger Stichling <i>Gasterosteus aculeatus</i>	8,2

\*LC<sub>50</sub> = Letale Konzentration im Wasser, bei der 50 % der Fische sterben

Neben dem bewußten Einsatz von Toxaphen als Piscizid in den 50er Jahren kam es auch später noch mehrfach zu ungewolltem Fischsterben in der Nähe von landwirtschaftlichen Anwendungsgebieten [95]. In zwei Fällen wird über das Verenden von Vögeln berichtet, das aus dem Verzehr von mit Toxaphen vergifteten Fischen resultierte [96]. Die akute Toxizität von Toxaphen für Säugetiere ist relativ niedrig und mit der anderer Chlorkohlenwasserstoffinsektizide vergleichbar (**vgl. Tab. 9**).

**Tab. 9:** LD<sub>50</sub>-Werte verschiedener Organochlorinsektizide für Ratten bei oraler Applikation [72,97]

Insektizid	LD <sub>50</sub> [mg/kg]
Aldrin	36-60
Dieldrin	40-87
Endosulfan	40-110
<b>Toxaphen</b>	<b>80-90</b>
Lindan	88-225
Heptachlor	100-162
DDT	113-118

Warmblüter sind gegenüber Toxaphen relativ unempfindlich. Der LD<sub>50</sub>-Wert bei Säugern und Vögeln variiert zwischen 5 und 1075 mg/kg in Abhängigkeit von der Tier- und Applikationsart, wobei Hunde und Katzen empfindlicher reagieren. Abhängigkeiten vom Geschlecht wurden bei Ratten beobachtet, weibliche Tiere scheinen empfindlicher auf Toxaphen zu reagieren. Die orale tödliche Dosis für den Menschen wird auf 60 mg/kg KG geschätzt [94]. In **Tab. 10** sind die LD<sub>50</sub>-Werte für einige Warmblüter aufgeführt.

**Tab. 10:** LD<sub>50</sub>-Werte von technischem Toxaphen für verschiedene Warmblüter

Tierart	Applikationsart	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	Lit.
Taube <i>Columba spp.</i>	oral	200-500	[5]
Wachtel <i>Colinus spp.</i>	oral	80-100	[5]
Fasan <i>Phasianus spp.</i>	oral	40	[72]
Stockente <i>Anas platyrhynchos</i>	oral	70,7	[72]
		37,6-133	[94]
		30,8	[72]
Küken (1 Woche)		23,3-40,6	[94]
Rebhuhn <i>Perdix perdix</i>	oral	23,7	[72]
		20-28,3	[94]
Ratte <i>Rattus norvegicus</i>	oral	40-150	[5]
	i.v.	13	[5]
Ratte, männlich	dermal	1075	[5]
	oral	90	[5]
Ratte, weiblich	dermal	780	[5]
	oral	80	[5]
Maus <i>Mus musculus</i>	oral	112	[5]
		120	[72]
Meerschweinchen <i>Cavia porcellus</i>	oral	69-375	[5]
		270	[72]
Kaninchen <i>Oryctolagus spp.</i>	oral	25	[5]
		75-100	[72]
	dermal	250	[71]
Katze <i>Felix domestica</i>	oral	25-40	[101]
Hund <i>Canis familiaris</i>	Oral	15-40	[5]
		49	[72]
	i.v.	5-10	[72]
Ziege <i>Capra spp</i>	oral	200	[101]
Schaf <i>Ovis spp</i>	oral	200	[101]

i.v. = intravenös

Die akute und subakute Toxizität von Toxaphen in Zusammenhang mit dem Lipidstoffwechsel untersuchten Chandra und Durairaj [98] 1995 am Meerschweinchen (*Cavia procellus*). Die zugeführte einmalige Dosis von 300 mg/kg Toxaphen führte nach ungefähr 72 Std. zum Tod der Tiere. Die Symptome der akuten Toxizität waren Piloerektion, Sedation, Umherkriechen und tonisch-klonische Krämpfe [98].

Zwei anderen Versuchsgruppen wurden täglich 2 mg und 5 mg Toxaphen/kg KG über einen Zeitraum von 60 Tagen vor der Tötung verabreicht. Die Hauptanreicherung von Toxaphen fand in der Leber statt und war im Vergleich zur Niere doppelt so hoch. In allen Versuchsgruppen kam es nach den Toxaphenapplikationen zum signifikanten Anstieg der Neutralfette und Cholesterol und zu einem signifikanten Abfall der Phospholipide im Gehirn. Andererseits kam es zu einem Abfall der Phospholipide in Leber und Niere ohne eine signifikante Veränderung der Glykolipid-, Neutralfett- und Cholesterolgehalte. Die Veränderungen der Phospholipid- und Cholesterolgehalte sahen die Autoren als biochemischen Indikator für die Schädigung von Zellmembranen durch Toxaphen bzw. andere Organochlorverbindungen an. Außerdem postulierten sie einen Zusammenhang zwischen dem Anstieg von Sphingomyelin im Gehirn und dem Auftreten von neurotoxischen Effekten, und zwar in der Weise, dass die Membranpermeabilität für kleine Moleküle und Ionen erhöht wird [98].

### **3.3 Chronische Toxizität**

#### **3.3.1 Einleitung**

Die chronische Toxizität von Chlorkohlenwasserstoffen (CKWs) in einen direkten Zusammenhang mit auftretenden Krankheitsbildern in Menschen und Wildtieren zu bringen, gestaltet sich als äußerst schwierig und problematisch. Zwar lassen sich in den meisten Fällen experimentell Dosis-Wirkungs-Beziehungen aufstellen, doch entscheidend ist nicht immer das Vorhandensein einer bestimmten Substanzmenge, sondern letztendlich ihre Bioverfügbarkeit und die Konzentration am Wirkort.

Die Zahl der Schadstoffe, die als sogenannte „Cocktails“ gleichzeitig auf den Menschen und andere Organismen einwirken, ist einfach zu groß. Abgesehen vom enormen zeitlichen Aufwand, die eine Prüfung aller möglichen synergistischen Wirkungen ubiquitärer Xenobiotika erfordern würde, lassen sich gewonnene Ergebnisse aus Tier- und Zellkulturtechniken nur eingeschränkt auf den Menschen oder Wildtiere übertragen. Physiologie und Toxikokinetik unterscheiden sich nur zu oft, so dass die durch Extrapolation (Sicherheitsfaktor zumeist von 10-1000) gewonnenen Ergebnisse mit Vorsicht interpretiert

werden müssen. Mehrere Testsysteme müssen positiv reagieren, um die Schadwirkung einer Substanz zu bestätigen. Langzeitversuche an Versuchstieren ermöglichen eine Risikoabschätzung und entscheiden letztendlich über die Zulassung und die gesetzliche Handhabung eines Stoffes. Zur Zeit bestehen für Toxaphen keine auf diesen Untersuchungen basierende ADI (acceptable daily intake)-Werte [76]. In den USA [94] wird ein ADI-Wert für Toxaphen von 1,25 µg/kg KG und Tag und in Kanada [99] von 0,2 µg/kg KG und Tag angegeben. Die maximale Arbeitsplatzkonzentration (MAK) wird mit 0,5 mg/m<sup>3</sup> angegeben [100].

Die Hauptaufnahme von Verbindungen des technischen Toxaphens erfolgt, wie bereits erwähnt, beim Menschen durch den Verzehr von Fisch. Da hinsichtlich der Gefährdung für den menschlichen Organismus, die von Einzelverbindungen des technischen Toxaphens ausgeht, gesicherte Erkenntnisse fehlen, wurden 1997 in der BRD im Sinne des Verbraucherschutzes Rückstandshöchstmengen für Fisch und Fischprodukte aus der Summe von drei Toxaphenen prophylaktisch festgelegt [102]. Grundlage der festgelegten Rückstandshöchstmengen (MRL = maximum residue level) und die damit verbundene Aufnahme in die Methodensammlung des §35 des Lebensmittel- und Bedarfsgegenstände gesetzes (LMBG) und in die Rückstandshöchstmengenverordnung (RHmV) waren Untersuchungen an 97 Fischarten aus den 9 wichtigsten Familien. Ausgehend von einem durchschnittlichen Fischverbrauch von 33 kg Fisch pro Jahr und Kopf wurden die Proben gepoolt und auf Toxaphen untersucht. Da die Kongenere Parlar #26 (B8-1413), #50 (B9-1679) und #62 (B9-1025) 50 % der Toxaphenbelastung in allen untersuchten Fischen ausmachten, wurde für die Summe dieser drei „Indikator“-Toxaphene ein Rückstandshöchstwert bezogen auf das Frischgewicht von 0,1 mg/kg festgelegt. Diese Festlegung erfolgte auch unter den Gesichtspunkten der Verkehrsfähigkeit, da der frühere Wert von 0,1 mg/kg Fett (Bestimmung mit dem technischen Gemisch) deutlich überschritten wurde, und ist so zwar realistischer, aber dennoch auch als Kompromiß anzusehen. Kimmel [103] empfiehlt nach neueren Untersuchungen die Octachlorbornane Parlar #40/41/44 (B8-1414/1945/2229) als zusätzliche Indikatorkongenere für Fisch und Fischprodukte mit zu berücksichtigen, da so 82,2 bis 100 % der Toxaphenrückstände erfaßt werden. Für andere Lebensmittel tierischer Herkunft wurde ein Rückstandshöchstwert für den Gesamttoxaphengehalt (67-69 % Chlor) bezogen auf Fett (mit Einschränkungen) von ebenfalls 0,1 mg/kg festgesetzt, der in näherer Zukunft ebenso kongenerspezifisch korrigiert werden soll.

Die kontinuierlich stattfindende Aufnahme und Anreicherung von Toxaphenen über die Nahrungskette in Menschen, Meeressäugern, Vögeln und Fischen läßt die Frage offen, inwieweit die erreichten Konzentrationen verantwortlich für chronische Toxizitäten sein können. Besonders für die Ureinwohner der arktischen Regionen (Inuit) dürften die hohen

Toxaphenkonzentrationen, welche sich in stark belasteten Muttermilchproben widerspiegeln [56] und wahrscheinlich aus dem Verzehr von überwiegend hochkontaminierten tierischen Produkten marinen Ursprungs (Wale, Robben, Seehunde, Fische, Lebertrane und Fischöle) stammen, ein Belastungsrisiko darstellen. Kausalitäten, wie Hautveränderungen, Atemwegserkrankungen und Totgeburten bei Yusho (Reisölkrankheit) nach PCB-Unfällen, Chlorakne nach Dioxinunfällen in Seveso, ein Rückgang der Eischalendicke bei fischfressenden Seevögeln in Verbindung mit DDT und seinen Metaboliten [104,83] oder die der in geringsten Konzentrationen wirkenden Organozinnverbindungen bei Mollusken in europäischen Gewässern [105], sind für Toxaphen fast nicht bekannt bzw. untersucht. In nur einem Fall wird über das vermehrte Auftreten von Chromosomenaberrationen bei russischen Feldarbeiterinnen berichtet, die während ihrer Arbeit (durch das Ausbringen von 2 kg Toxaphen/ha mittels eines Flugzeuges) in Kontakt mit Toxaphen gekommen waren [106].

### **3.3.2 Chronische Wirkungen von Toxaphen und seinen Komponenten**

Die Prüfung von Toxaphen auf eine subchronische (Zufuhr einer Substanz über 1-6 Monate) oder chronische Toxizität (Zufuhr über 2 Jahre bei kleinen Labornagern, bis zu 7 Jahren bei großen Versuchstieren) wurde mit geringen Toxaphenmengen an verschiedenen Arten, wie Ratten, Hunden und Affen untersucht. Dabei waren im Bereich von 15-40 mg/kg noch keine meßbaren Effekte zu beobachten. Erst bei höheren Konzentrationen wurden cytopathologische Veränderungen an Leber, Nieren und Gehirn festgestellt [7]. Auch bei täglicher Aufnahme von 10 mg/kg Toxaphen über einen Zeitraum von 2 Jahren kam es bei Affen zu keiner außergewöhnlichen Veränderung in Wachstum, Atmung, Verhalten oder Organ Ausbildung [32]. Langzeitversuche an Ratten zeigten, dass sich bei Gabe von 189 mg Toxaphen/kg KG über 12 Wochen keine chronische Toxizität durch äußere oder histopathologische Erscheinungen bemerkbar macht [8]. In anderen Studien an Ratten konnten diese eine Gesamtdosis von 700-2000 mg/kg tolerieren, wenn ihnen alle 48 Std. 300 mg/kg Toxaphen verabreicht wurden [16]. Auch Hunde, für die Toxaphen eine sehr hohe akute Toxizität besitzt, konnten insgesamt 429 mg/kg tolerieren, wenn sie täglich mit 4 mg/kg behandelt wurden [8].

Bei Wachteln (*Colinus virginianus*), die über einen Zeitraum von vier Monaten täglich mit Toxaphen in Konzentrationen von 5, 50 und 500 mg/kg KG gefüttert wurden, konnte bei der höchsten Dosis neben einer Hypertrophie der Nebenniere eine Vergrößerung der Schilddrüse verbunden mit einer erhöhten <sup>131</sup>I-Aufnahme beobachtet werden. Weitere Folgen waren eine

stetige Abnahme des Körpergewichts sowie Veränderungen der Leber. Die nach einer dreimonatigen Exposition vergrößerte Schilddrüse verkleinerte sich wieder nach dem Absetzen der Toxaphengaben [107]. Desgleichen traten bei Hühnern, die mit der Nahrung über einen Zeitraum von 31 Wochen 5, 50, und 100 mg Toxaphen/kg KG täglich verabreicht bekamen, vermehrt Brustbeindeformationen auf, die durch mangelhaften Einbau von Mineralstoffen in das Knochengüst hervorgerufen worden waren [108].

In einem Fall wird über die Abnahme der Eischalendicke bei Stockenten und Wachteln berichtet, die bereits nach einmaliger oraler Gabe von 10 ppm Toxaphen zu beobachten war [109]. Chronische Veränderungen für Fische bei Toxaphenkonzentrationen von 54-299 ng/l bestanden in Wachstumsstörungen, reduzierten Vermehrungsraten, Wirbelsäulenanomalien und Degenerationserscheinungen der inneren Organe [94].

Die Applikation eines toxaphenhaltigen Aerosolsprays auf die Haut von 50 Versuchspersonen mit einer Dosis von 300 mg/Tag über einen Zeitraum von 30 Tagen zeigte keine Wirkung. Das gleiche galt für die Inhalation eines Toxaphenaerosols in einer Dosierung von 0,4 µg/l/Tag 15 Tage lang für jeweils 10 Minuten. Selbst bei 30-minütiger Inhalation eines Toxaphennebels mit einer Konzentration von 0,25 mg/l über einen Zeitraum von 13 Tagen kam es zu keiner Vergiftung [7].

Synergistische Wirkungen in einer verstärkten Hemmung der Serumcholinesterasenaktivität zeigte die Verabreichung von Toxaphen + Parathion in Mäusen (ICR). Im Gegensatz dazu führte die Kombination Toxaphen + 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D) zu einer Aktivitätssteigerung [110]. Die Verabreichung von Parlar #26 (B8-1413) + #50 (B9-1679) führten stärker zu Wachstumsstörungen in einer Verkleinerung des Kopfes und Verkürzung der Kopf-Steißbeinlänge als die alleinige Zufuhr eines der beiden Kongenere. Entgegengesetzt fielen die Entwicklungsstörungen der Hörorgane in der kombinatorischen Anwendung geringer aus als bei den Einzelkongeneren. Durch Parlar #26 (B8-1413) konnten auch vermehrt Missbildungen an den Gliedmaßen beobachtet werden. Die Autoren postulierten darauf hin, dass die in Umweltproben vorkommenden Toxaphene andere organspezifische Toxizitäten aufweisen könnten, als die in *in vivo*-Versuchen erzielten Ergebnisse für das technische Gemisch [111].

Toxaphen wird als hoch kanzerogen eingestuft. Wie alle Organochlorverbindungen ist es ein potenter Induktor der mikrosomalen Oxygenasen in der Leber. In Langzeitstudien an Ratten und Mäusen konnten vermehrt maligne Lebertumore festgestellt werden. Während bei

männlichen Tieren gehäuft Sarkome auftraten, zeigten weibliche bevorzugt Karzinome [112]. Bei beiden Geschlechtern traten zudem signifikante Steigerungen der Häufigkeit von Drüsentumoren auf.

Ebenfalls in einem über 18 Monate dauernden Versuch an Mäusen, denen Dosen von 50 mg/kg pro Tag verabreicht worden waren, konnten neben einem gehäuften Auftreten von Leberkarzinomen bei beiden Geschlechtern, bei den männlichen Tieren Leukämie und den weiblichen Tieren vermehrt Sarkome im Uterus festgestellt werden. Toxaphen greift nachweislich in den Metabolismus von Benz[a]pyren ein, in dem es die Hydrolasenaktivität zur Bildung des hoch kanzerogen auf die Lunge wirkenden *anti*-Diolepoxids inhibiert. Dabei wurde nachweislich die Bildung von Lungenkarzinomen bei Mäusen signifikant reduziert mit dem Ergebnis, dass nun gehäuft maligne Lebertumore auftraten [113]. Beim Menschen wird die potentielle kanzerogene Wirkungsschwelle bei oraler Toxaphenaufnahme auf 1,13 mg/kg/Tag geschätzt [43].

Die mutagene Wirkung von Toxaphen konnten Hooper et al. [114] 1979 im Ames-Test mit dem Bakterienstamm TA-100 von *Salmonella typhimurium* erstmalig beweisen. Erstaunlich war, dass Parlar #32 (B7-515) als ein Kongener mit relativ hoher Toxizität keine mutagenen Eigenschaften aufwies.

Im Gegensatz dazu konnten Boon et al. [115] 1998 mit Hilfe des Mutatox®-Assay die Genotoxizität des technischen Gemisches und die von Parlar #32 (B7-515) eindeutig unterstreichen. Das positive Ergebnis des Mutagenitätstests konnte durch die Zugabe von gewonnenen Mikrosomenfraktionen aus den Lebern des Seehundes (*Phoca vitulina*) und des Laysan Albatros (*Diomedea immutabilis*) oder durch Rattenleber S9-Mix aufgehoben werden. Die entstandenen Metabolite zeigten somit keine mutagenen Eigenschaften. Desweiteren diskutierten die Autoren die Möglichkeit einer kovalenten Bindung nach einer nukleophilen Substitution 2. Ordnung (S<sub>N</sub>2) von Parlar #32 (B7-515) zur Bildung eines DNA-Adduktes. Als favorisierte Bindungsstelle geben sie die C8- oder C9-Position an. Die bereits diskutierte Metabolisierung von Parlar #32 (B7-515) durch eine Hydroxylierung an Position C3, C8 oder C10 durch CYP-Isoenzyme verhinderte in diesen Versuchen seine Mutagenität [115]. Weitere Untersuchungsergebnisse aus anderen Mutagenitäts- und Kanzerogenitätsstudien sind in **Tab. 11** zusammengefaßt.

**Tab. 11:** Karzinogenität und Mutagenität von Toxaphen und seinen Komponenten

<i>in vivo</i> , Tierart	Applikationsart und -dauer	Dosis (mg/kg/Tag)	Wirkung/Ergebnis	Lit.
Ratte	ad lib./80 Wochen	55,6 (männlich) 54,0 (weiblich)	Follikularzellkarzinome, Schilddrüsenadenome	[116]
Maus	ad lib./80 Wochen	12,9 (männlich) 25,7 (weiblich)	Leberkarzinom Leberkarzinom	[116]
Ratte Sprague-Dawley (CrI:Cd BR)	oral/maximal 29 Tage	100 für 3 Tage 75 für restliche Tage	Follikularepitheliale Hypertrophie u. -plasie der Schilddrüse	[117]
Ames-Test Salmonellenstamm TA1535, TA1537, TA1538, TA98 und TA100	0-3000 µg/Platte		mutagen in TA98 u. TA100 mit u. ohne Leber S9-Mix Parlar #32 (B7-515) nicht mutagen in TA 1535, TA1537, TA1538, TA98 u. TA100 mit u. ohne Leber S9- Mix	[114]
Ames-Test Mikrosuspension von Salmonellenstamm TA98 und TA100	0-10.000 µg/ml		mutagen in TA100 (2500, 5000 u. 10.000 µg/mL), Parlar #26 (B8- 1413), #32 (B7- 515), #50 (B9-1679) u. #62 (B9-1025) nicht mutagen in TA100	[117]
SCE <sup>1)</sup> -Test Chinesische Ham- sterlungenzellen	0-20 µg/ml, Inkuba- tionszeit bis zu 28½ Std.		dosis- und zeitabhängige Induktion der SCEs, dosisabhängige Induktion des Zellzyklusaufschubs	[118]
GJIC <sup>2)</sup> Humane Brustepithelzellen	0-10 µg/mL, Inkubationszeit bis zu 24 Std.		dosis- u. zeitabhängige Hemmung der GJIC, Reduktion der phosphorylierten Connexin 43-Gehalte	[119]
Proteinkinase C- Aktivität in Gehirn- homogenisat (Maus)	200 µM		Induktion der Proteinkinase C- Aktivität um das 469- fache	[120]

<sup>1)</sup> SCE = Schwesterchromatidaustausch (sister chromatid exchange)

<sup>2)</sup> GJIC = Hemmung der Zellkommunikation (gab junctional intercellular communication)

### 3.3.2.1 Hormonähnliche Wirkungen von Toxaphen und seinen Komponenten

Toxaphen gehört mit zu den Pestiziden, bei denen der Verdacht besteht, dass sie unerwünschte östrogene bzw. endokrine Wirkungen („endocrine disruptor“) haben. Dabei

konkurrieren sie an den Hormonrezeptoren möglicherweise durch ihre „steroidähnliche“ Konformation mit den endogenen Geschlechtshormonen, beeinflussen deren Synthese und Metabolisation oder die der Rezeptoren und können so östrogene, antiöstrogene oder antiandrogene Wirkungen entfalten [121]. Von den bisher identifizierten anthropogenen Stoffen mit unerwünschter Östrogenwirkung sind nicht alle expositionsrelevant. Als expositionsrelevante Stoffe, bei denen potentiell mit einer Körperbelastung zu rechnen ist, werden Alkylphenole, Bisphenol A, Phthalate, Butylhydroxyanisol, DDT, Endosulfan und hydroxylierte PCBs genannt. Es ist denkbar, dass diese Chemikalien an der Entstehung von hormonabhängigen Erkrankungen (z.B. Unfruchtbarkeit durch Rückgang der Spermienqualität, Hodenkrebs und Brustkrebs) beteiligt sind [122].

Als *in vivo*-Östrogenitätstest werden juvenile oder ovariectomierte weibliche Ratten eingesetzt, wo die Auslösung eines Uteruswachstums (Bestimmung des Uterusgewichtes) durch dosisabhängige östrogene Stoffe als positives Ergebnis angesehen wird. Ebenfalls wird die Verhornung des Scheidenepithels zwei bis drei Tage nach Verabreichung erfaßt. In *in vitro*-Assays wird die Verdrängung von radioaktiv markiertem [<sup>3</sup>H] 17β-Östradiol vom Östrogenrezeptor untersucht. Eine andere Methode ist der E-Screen mit östrogensensitiven Brustkrebszellen (MCF-7 oder ZR-75-Zellen), wo die Zunahme dieser Zellen in Abhängigkeit zu der östrogenen Wirkung bestimmt wird. In einem verwandten Testverfahren wird als östrogenspezifischer Endpunkt die Synthese und Sekretion der 34 kDa- und 52 kDa-Proteine Kathepsin D und Prokathepsin D bestimmt. Neuere Testsysteme arbeiten mit in MCF-7 Brustkrebszellen transfizierten Plasmiden, die ein „estrogen response element“ (ERE) und ein Reporter-Gen (Luciferase, β-Galactosidase oder Chloramphenicol-Transferase) tragen. Die östrogene Potenz einer Substanz korreliert dann mit der Aktivität der vom Reporter-Gen exprimierten Enzyme (Stimulation der Transkriptionsaktivität). Als ein anderer hochempfindlicher Assay ist der Hefe-Zellinientest (YES = yeast estrogen system) mit *Saccharomyces cerevisiae* anzusehen, der ein transformiertes Plasmid mit den Genen für den menschlichen Östrogenrezeptor, einen Östrogen-sensitiven Promotor und β-Galactosidase enthält [122].

Um die hormonähnliche Wirkung von Toxaphen nachzuweisen, werden seit Anfang der 90er Jahre verschiedene Untersuchungen mit den genannten Testsystemen durchgeführt. Die erhöhten Konzentrationen von weiblichen Hormonen und die Verkümmern der Geschlechtsorgane bei männlichen Alligatoren (*Alligator mississippiensis*) in Florida, welche zu Zeugungsunfähigkeit bzw. Unfruchtbarkeit führten, veranlaßten Vonier et al. [123] verschiedene Umweltchemikalien auf ihre Bindungsfähigkeit an die Östrogen- (ER) und Progesteron-rezeptoren (PR) zu testen. In aufbereiteten Proteinextrakten aus

Alligatoreneileitern wurde die Hemmung der Bindungsfähigkeit von radioaktiv markiertem [ $^3\text{H}$ ]17 $\beta$ -Östradiol am ER durch DDT-Metaboliten, Alachlor, trans-Nonachlor, Endosulfan und Atrazin festgestellt. Chlordan und Toxaphen führten zu keiner Verdrängung von [ $^3\text{H}$ ]17 $\beta$ -Östradiol am ER. Wenn Toxaphen aber in Verbindung mit DDT-Metaboliten, Alachlor, trans-Nonachlor, Endosulfan oder Atrazin den Proteinextrakten zugeführt wurde, kam es zu einer signifikanten Verdrängung von [ $^3\text{H}$ ]17 $\beta$ -Östradiol, die die einer additiven Wirkung noch überstieg. Dagegen konnte keine Verdrängung von synthetischem Progesteron (Progestin, [ $^3\text{H}$ ]R5020) vom PR durch Toxaphen beobachtet werden [123].

Knudsen und Pottinger [124] konnten in Untersuchungen aus dem Jahr 1999 an Regenbogenforellen (*Oncorhynchus mykiss*) keine Bindung von Toxaphen oder Dieldrin allein oder in Kombination am ER beobachten.

Soto et al. [125] postulierten additive östrogene Wirkungen von Dieldrin, Endosulfan und Toxaphen, wenn diese in Kombination dem E-Screen (östrogensensitiven Brustkrebszellen (MCF-7)) ausgesetzt wurden. Desweiteren konnten sie eine Dosis-Wirkungs-Beziehung beobachten.

Die synergistische Wirkung von Dieldrin, Endosulfan, Chlordan und Toxaphen untersuchten Arnold et al. [126] 1996 im „yeast estrogen system (YES)“. Die alleinige Zugabe einer der vier Pestizide führte nur zu einem schwachen Abfall der  $\beta$ -Galactosidase und zeigten eine Bindungsaffinität, die um  $10^4$  geringer war als im Vergleich zum natürlichen 17 $\beta$ -Östradiol. Unter natürlichen Bedingungen würde dies zu keiner schädigenden Wirkung führen. Wurden aber je zwei der Pestizide miteinander kombiniert, kam es zu einer 160- bis 1600-fach höheren Bindungsaffinität zum ER, wobei die Kombination Endosulfan + Dieldrin am stärksten war und die Kombination Endosulfan + Toxaphen an zweiter Stelle stand [126].

Diese überraschende Feststellung ging 1996 schnell durch die Medien und wurde sofort angezweifelt. Ramamoorthy et al. [127] versuchten die synergistischen Wirkungen von Dieldrin und Toxaphen 1997 zu rekapitulieren. Zwar zeigten Dieldrin und Toxaphen geringe östrogene Aktivitäten im YES und in MCF-7 Zellen, doch konnten sie keine synergistischen Wirkungen feststellen. Im Sommer 1997 wurden dann die oben genannten Ergebnisse von einem der Koautoren negiert und der Artikel zurückgezogen [128], da sie bezüglich des Synergismus nicht wiederholt werden konnten. Unter anderem wurde hierfür die mögliche genetische Variabilität des YES verantwortlich gemacht. In weiteren Versuchen konnten aber synergistische Wirkungen von Phytoöstrogenen im YES eindeutig bewiesen werden [129], und dergleichen mit natürlichen und synthetischen Östrogenen im YES und an männlichen Schildkrötenembryonen [130].

Bonefeld-Jørgenson et al. [131] konnten die antiöstrogene Wirkung von technischem Toxaphen und Parlar #50 (B9-1679) nachweisen, die je in einer Konzentration von 10 µM zu einer Hemmung der Transkriptionsaktivität in mit transfizierten Plasmiden MCF-7 Brustkrebszellen führte. In anderen *in vitro*-Untersuchungen an mit Toxaphen exponierten Hühnerlebern konnte mittels des durch Östrogen regulierten mRNA-Stabilisationsfaktor (E RmRNASF), welcher sich in einer Akkumulation des Apolipoproteins II (apoII) mRNA widerspiegelt, die antiöstrogene Wirkung von Toxaphen bestätigt werden [132].

Die Blockierung der Dexamethason-, der Progesteron- und Testosteronrezeptoren in aus Hühnern isolierten Eischalendrüsengewebe konnte als antiandrogene Wirkung von Toxaphen belegt werden [133].

Soto et al. [134] vermuteten, dass für die östrogene Wirkung durch Toxaphen einige hydroxylierte Bornanmetabolite und/oder Keto-Metabolite verantwortlich sind.

## **4. Verhalten von Toxaphen in der Umwelt**

### **4.1 Verteilungswege von Toxaphen in der Umwelt**

Die Verbindungen des technischen Toxaphens sind in der gesamten Umwelt nachweisbar [135]. Durch ihre relativ hohe Flüchtigkeit und Persistenz können Toxaphene wie aber auch andere chlorierte Kohlenwasserstoffe über die Atmosphäre weiträumig transportiert werden [136]. Da ihre Kondensation bei niedrigen Temperaturen verstärkt erfolgt, sind Rückstände von Toxaphenen in Regionen nachweisbar, in denen sie nie angewendet wurden, z. B. in Skandinavien, Sibirien und den Polarregionen [137]. Die trockene bzw. feuchte Deposition und der Oberflächenabfluß, welcher durch eine hohe Wasserlöslichkeit von Toxaphen noch gefördert wird, bewirken, dass die Toxaphenbelastungen in aquatischen Ökosystemen besonders hoch sind [138,139,140]. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit hängt dabei sehr von der Anwendungsart, der Pflanzenart und dem Bewuchs, der Bodenbeschaffenheit und den meteorologischen Faktoren ab.

#### **4.1.1 Toxaphen und seine Komponenten in der Atmosphäre**

Toxaphen gelangt, entweder durch direkte Verdampfung oder an Staubpartikel gebunden in die Atmosphäre, wobei der Anteil des gasförmig transportierten Toxaphens von der Temperatur abhängt. Bei sehr hohen Temperaturen wird Toxaphen hauptsächlich gasförmig transportiert, bei Temperaturen um 25 °C erfolgt der Transport bereits zu 10 % über Aerosole. Nach Schätzungen bei Applikationen von Flugzeugen aus, beträgt der Anteil des von

Baumwollpflanzen aufgenommenen Toxaphens nur 9-19 %, der des Boden 28-92 % [141]. Willis et al. [142] zeigten in einer anderen Studie an Baumwollpflanzen, dass die Verflüchtigung von der Pflanzenoberfläche einen Haupteintragspfad in die Umwelt darstellt und diese abhängig von der Luftfeuchtigkeit, Temperatur, Windgeschwindigkeit, den Niederschlagsmengen und dem Entwicklungsstand der Pflanze ist.

Nach dem Transfer von Toxaphen in das Medium Luft ist der Transport in die Troposphäre ein weiterer entscheidender Vorgang, der das Ausmaß des „long range atmospheric transport“ bestimmt. Bidleman und Olney [143] fanden 1975 in Luftproben auf den Bermudas, 1200 km von den Hauptanwendungsgebieten der USA entfernt, eine mittlere Konzentration von 0,630 ng/m<sup>3</sup> (für DDT dagegen nur 0,0024 ng/m<sup>3</sup>, PCBs 0,315 ng/m<sup>3</sup>). Aus diesen Daten resultiert, dass die mittlere Lebensdauer der Toxaphenkomponenten in der Atmosphäre, die primär durch die OH-Radikale kontrolliert wird, besonders hoch ist. Bestätigt wird dies durch kinetische Experimente von Parlar [135], wo der mittlere Wert des log KOH [cm<sup>2</sup>/s] der Polychlorbornane in der Atmosphäre 11,3 beträgt, was einem t<sub>1/2</sub>-Wert von ungefähr fünf Tagen entspricht (2,4,5-Trichlorbiphenyl = 0,64, DDT = 1,61, DDE (p,p'-Dichlordiphenyl-dichlorethen) = 0,4). In anderen Studien wurden von Patton et al. [144] aus dem Jahre 1989 im Norden Kanadas 0,044 ng/m<sup>3</sup> und im noch weiter entfernten Stockholm noch 0,025 ng/m<sup>3</sup> [37] gemessen. Direkt über den Baumwollanbaugebieten im Süden der USA wurden Toxaphenkonzentrationen von 16-2520 ng/m<sup>3</sup> gemessen [143] und über dem Mississippidelta durchschnittlich noch 167 ng/m<sup>3</sup> [145]. Durch Untersuchungen der Komponenten-zusammensetzung der Luftproben stellten McConell et al. [146] 1993 eine Veränderung im Vergleich zum technischen Gemisch fest. In den Luftproben fanden sie die flüchtigeren, niedrig chlorierten Komponenten mit kürzeren Retentionszeiten (GC-Lauf) angereichert. Sie verweilen aufgrund der geringsten Wasserlöslichkeit über längere Zeit in der Atmosphäre, ganz im Gegensatz zu den an Aerosole gebundenen hochchlorierten Komponenten mit hoher Wasserlöslichkeit, die durch trockene und feuchte Deposition wieder aus der Atmosphäre entfernt werden können. Daher steht die Zusammensetzung von Toxaphen in Abhängigkeit von der Entfernung zum Anwendungsgebiet, so dass eine größere Entfernung auch zu einer stärkeren Veränderung des Gemisches beiträgt [147,148]. Inwieweit diese Veränderungen auf einen selektiven Transport infolge der unterschiedlichen physikalisch-chemischen Eigenschaften der einzelnen Toxaphenkomponenten oder auf abiotischen Reaktionen während des Transportes beruhen, ist noch nicht geklärt.

Glassmeyer et al. [149] erklären die höheren Anteile an 8er und 9er-chlorierten Toxaphenen in untersuchten Fischen aus den großen Seen der USA und die geringen prozentualen Anteile an 6er und 7er-chlorierten mit der schnelleren Degradierung der niedrig-chlorierten unter

atmosphärischen Bedingungen, die sich durch den direkten Übergang in das Wasser und Aufnahme durch die Fische widerspiegelt [149]. In Untersuchungen aus dem Jahr 1997 von Shoeib et al. [150] wurden erstmals auch Toxaphenkongenere in Luftproben berücksichtigt. Über dem nördlichen Küstenstreifen des Ontariosees in Kanada wurde die durchschnittliche Zusammensetzung der in den Luftproben gefundenen Toxaphene ermittelt. Sie bestehen zu 48 % aus Octachlor-, 45 % Heptachlor- und 7 % Nonachlorbornanen. Die Kongenere Parlar #26 (B8-1413) und #50 (B9-1679) haben dabei einen Anteil von 10 % am Gesamttoxaphengehalt der Proben. Ein als TSED bezeichnetes Heptachlorbornan hatte einen Anteil von 25 % unter den 7er-chlorierten Toxaphenen. Parlar #26 (B8-1413), #39 (B8-531) und #41 (B8-1945) repräsentierten den Hauptteil der 8er-chlorierten und Parlar #50 (B9-1679) war oft das einzige Nonachlorbornan in allen untersuchten Luftproben aus den Jahren 1992 bis 1996. In anderen Analysen von Karlsson et al. [151] und Muir et al. [152], die die Enantiomerenverhältnisse von Toxaphenen in Boden-, Wasser- und Luftproben sowie biologischen Matrices untersuchten, konnten weitere Kongenere in Luftproben bestimmt werden. So werden die Toxaphene B6-923, B7-1001, Parlar #32 (B7-515), B8-1412, #40 (B8-1414), #42a/42b (B8-806/9) und #44 (B8-2229) erstmals als weitere Bestandteile in Luftproben über den Großen Seen (Oberer See) Nordamerikas angegeben, wobei in beiden Untersuchungen keine Angaben über die Konzentrationen gemacht wurden. In einer neueren Publikation von Shoeib et al. [153] wurden weitere Toxaphenkongenere in 28 Luftproben, die zwischen den Jahren 1995 bis 1997 über Point Pedre (Ontariosee) gesammelt wurden, mit Hilfe des technischen Gemisches und des 22-Komponenten-Standards [154] bestimmt. Die Konzentrationen für 12 bekannte und 32 unbekannte Toxaphene lagen zwischen  $0,005 \text{ pg/m}^3$  (Parlar #63, B9-2206) und  $0,086 \text{ pg/m}^3$  (unbekanntes Heptachlorbornan).

Das Vorkommen von Toxaphen im nordöstlichen Atlantik ist vermutlich durch die Drift der Luftmassen vom amerikanischen Kontinent her zu erklären [155]. Obwohl Toxaphen in Westeuropa nie eingesetzt wurde, lassen sich hohe Rückstandsmengen in Fischen aus den isländischen Gewässern, den Shetlandinseln und der nördlichen Nordsee feststellen.

### **4.1.2 Toxaphen und seine Komponenten in Niederschlägen und Gewässern**

Die sich an den Transport in die Atmosphäre anschließende Deposition verläuft bei Toxaphen wahrscheinlich zum größten Teil über die Auswaschung durch Niederschläge. Die Geschwindigkeit für den Übergang von der Gasphase in das wässrige Medium wird durch die Wasserlöslichkeit und den Dampfdruck und dementsprechend von der Henry-Konstante bestimmt. Im Falle von Toxaphen wäre die Henry-Konstante jeder einzelnen Komponente sehr wichtig, um die Flußrate und deren Richtung zu bestimmen. Bisherige

Modellrechnungen zur Richtung des Fluxes von technischem Toxaphen haben ergeben, dass beim Luftaustauschprozeß der Toxaphentransfer fast ausschließlich aus der Luft in das Wasser führt [146]. Dadurch erklären sich auch die hohen Konzentrationen an Toxaphenen in den Großen Seen in Nordamerika und anderen aquatischen Ökosystemen. Trotz des Verbots von Toxaphen in den USA seit 1982, findet weiterhin ein Toxapheneintrag über die Atmosphäre in die Großen Seen statt. Dieser von Hoff et al. [156] 1993 geschätzte jährliche Eintrag wird in **Tab. 12** aufgeführt.

**Tab. 12:** Geschätzter jährlicher Eintrag von Toxaphen (kg) in die Großen Seen Nordamerikas [156]

	Oberer See	Michigansee	Huronsee	Eriesee	Ontariosee
feuchte Deposition	12,5	9,9	9,1	4,3	3,5
partikelgebundene trockene Deposition	6,3	4,4	4,6	2,0	1,5

Neben der trockenen und feuchten Deposition erfolgt über den Oberflächenabfluß der primäre Eintrag von Toxaphen in Flüsse und kleinere Seen. Allerdings wurde in Flüssen im Westen der USA von 1966 bis 1968 an 20 Versuchsstationen kein Toxaphen nachgewiesen [96]. In Trinkwasseruntersuchungen wurde Toxaphen allerdings in 27 von 680 Proben detektiert, in zwei Proben lag die Konzentration sogar über 0,05 mg/L [93]. Die Toxaphenrückstände in Regenwasser über South Carolina lagen mit 150 ng/kg etwa um das 10- bis 100-fache höher als für PCBs und DDT [157]. Nach Berechnungen von Villeneuve und Cattini [158] beträgt der jährliche Eintrag ins Mittelmeer 1140 kg. Bei diesen Untersuchungen ist bemerkenswert, dass die Konzentration von gelöstem Toxaphen (860 ng/m<sup>3</sup>) größer ist als die im Regen vorhandene, an Partikel gebunden Toxaphenmenge (451 ng/m<sup>3</sup>). Im Gegensatz zu anderen Chlorkohlenwasserstoffen liegt Toxaphen offenbar zu einem größeren Teil in der wäßrigen Phase vor und unterstreicht so die verhältnismäßig hohe Wasserlöslichkeit der chlorierten Bornane. In Regenwasser sind im Vergleich zu den Luftproben hauptsächlich die Hepta- und Octachlorbornane zu finden [159].

In der neueren Literatur sind erst wenige Angaben zu den Einzelkomponenten gemacht worden. So berichten Karlsson et al. [151] und Muir et al. [152] über das Vorhandensein von B6-923, B7-1001, Parlar #32 (B7-515), B8-1412, #40 (B8-1414), #42a/42b (B8-806/9) und #44 (B8-2229) in Wasserproben aus dem Oberen See der Großen Seen. In einer anderen Studie von Muir et al. [160] werden die Kongenere B6-923 und B7-1001 neben Parlar #26 (B8-1413) und #50 (B9-1679) als die dominierenden Toxaphene in Wasserproben von 1997 aus dem Labergesee in der Nähe des Yukon angegeben. In Proben aus arktischen Gewässern

in der Nähe der Beaufortsee wurden die beiden niederchlorierten Kongenere nicht detektiert, so dass die Proben nur sehr schlecht zu vergleichen sind. Allerdings wurden erstmalig auch die Konzentrationen von Toxaphenkongeneren in Wasserproben bestimmt, welche in **Tab. 13** dargestellt sind.

**Tab. 13:** Durchschnittliche Toxaphenkonzentrationen [pg/l] in Wasserproben vom Labergesee (Yukon) und dem Arktischen Ozean (Beaufortsee) [122]

Ort	B6-923	B7-1001	Parlar #26 (B8-1413)	Parlar #50 (B9-1679)	Σ Toxaphen <sup>1)</sup>
Labergesee (Yukon)	9	28	3	10	209
Arktischer Ozean (Beaufortsee)	- <sup>2)</sup>	- <sup>2)</sup>	1,2	1,4	35-100

<sup>1)</sup> Quantifizierung mit dem technischen Gemisch; <sup>2)</sup> nicht berücksichtigt

Die biologische Aktivität eines Gewässers beeinflusst die Wirksamkeit eines Pestizids, wobei die Gewässertiefe und die Dynamik des vertikalen Austausches die entscheidenden Faktoren darstellen. Die Wassertemperatur, der Lichteinfall, der Sauerstoffgehalt und der pH-Wert spielen hierbei nur eine untergeordnete Rolle [161]. Ein Absinken der Toxaphenkonzentration im Wasser darf nicht unbedingt als Folge eines mikrobiellen Abbaus, wie z. B. durch Pseudomonaden [162], angesehen werden, da im Wasser lebende Organismen Toxaphen sowohl über die Körperoberfläche als auch über die Nahrung aufnehmen [163,164].

Terriere et al. [161] beschreiben die Persistenz von Toxaphen in zwei Bergseen (Davis- und Millersee), die im Rahmen eines Fischausrottungsprogrammes mit Toxaphen behandelt wurden. Die zu Beginn in beiden Seen gemessenen Konzentrationen von 2 ng/g ließen keinen Neubesatz mit Fischen zu. Diese Konzentration veränderte sich in dem sehr tiefen, biologisch schwach aktiven Millersee über vier Jahre hinweg kaum. Forellen konnten erst nach sechs Jahren wieder ausgesetzt werden. Der zweite, sehr flache Davissee erholte sich insofern relativ schnell, da nach einem Jahr nach der letzten Applikation Forellen ausgesetzt werden konnten. Innerhalb von zwei Wochen bauten die Forellen eine konstante Konzentration von 5-10 mg/kg Toxaphen, bezogen auf das Frischgewicht (FG), auf und waren demzufolge ungenießbar. Die WHO (World Health Organization) berichtet ebenfalls von fünf Jahren, während derer eine Fischtoxizität nach der Anwendung als Piscizid bestehen bleibt [165].

Ein weiterer Grund für die Abnahme von Toxaphenkonzentrationen in Gewässern ist unter anderem die Adsorption an organische Substanz. Primär kommt es hierbei zu einer Adsorption an das Sediment, aber auch an suspendierte Partikel, die absinken und auf der

Sedimentoberfläche abgelagert werden [166]. Calero et al. [167] fanden in dem Xolotlánsee in Nicaragua, in den die Abfälle aus der Toxaphenproduktion der Fa. Hercasa seit 1965 eingeleitet wurden, Konzentrationen von bis zu 359 mg/kg im Sediment und ca. 0,08 mg/l im Wasser. Besonders hohe Rückstandswerte wurden im Bereich der Einleitungsstelle verzeichnet, wohingegen an weiter abgelegenen Stellen des 5660 km<sup>3</sup> großen Beckens nichts mehr nachgewiesen werden konnte. Dadurch wird die Beobachtung unterstrichen, dass an organische Substanz adsorbiertes Toxaphen eine geringere Mobilität aufweist [167].

Die Zusammensetzung von Toxaphenrückständen im Sediment behandelter Seen hängt von der Schichttiefe und damit von der Zeit seit der Anwendung ab. Die Chromatogramme von Sedimentproben aus dem Peanut- und Chatwinsee in Kanada, aus der Schicht, die dem Jahr der Toxaphenanwendung entsprachen, ähnelten der Zusammensetzung des technischen Toxaphens. Dagegen wurden in den darüberliegenden, etwa zehn Jahre jüngeren Schichten hauptsächlich Hexa- und Heptachlorbornane gefunden. Den Hauptanteil an diesen niederchlorierten Bornanen bildeten dabei B6-923 und B7-1001, die auch in Regenbogenforellen aus diesen Seen zu finden waren [166].

Nach Angaben der „Food and Agriculture Organization“ (FAO) der Vereinten Nationen [168] sind bisher noch keine Gesundheitsschäden bekannt, die auf den Verbrauch von toxaphenkontaminierten Wassers zurückzuführen sind. Durch den Einsatz von Aktivkohlefiltern wird Toxaphen effektiv während der Trinkwasseraufbereitung entfernt, und um den Schutz aquatischer Lebewesen zu sichern, wurde von der „International Joint Commission of Great Lakes Water Quality Board“ [72] ein Sicherheitswert für Toxaphen in Wasser empfohlen, der 0,008 µg/l nicht überschreiten darf.

### **4.1.3 Toxaphen und seine Komponenten in Böden**

Die Bodenkontamination mit Toxaphen erfolgt hauptsächlich durch die direkte Anwendung und durch Niederschläge. Wie auch im Wasser weist an organische Substanz adsorbiertes Toxaphen im Boden eine geringere Mobilität auf. Dieses vertikale Verlagerungsverhalten wiederum steht in Abhängigkeit von der Bodenkörnung, pH-Wert, Humusgehalt und Wasserbindungsvermögen. In zahlreichen Untersuchungen wird eine signifikante Abnahme der Toxaphenkonzentration mit Zunahme der Bodentiefe registriert, woraus abgeleitet werden kann, dass unter normalen Bedingungen eine geringe Grundwassergefährdung gegeben ist. Seiber et al. [169] zeigten in kombinierten Luft- und Bodenmessungen, dass wesentliche Mengen an Toxaphen nach dessen Anwendung in die Atmosphäre und in den Boden gelangen. So betrug die Toxaphenkonzentration der Luft am Tage der Ausbringung auf ein Baumwollfeld 4,2 µg/m<sup>3</sup> und noch 1,3 µg/m<sup>3</sup> vier Wochen nach der letzten Behandlung. Im

Boden (2,5 cm Tiefe) lag am Tag der Ausbringung eine Konzentration von 13,1 mg/kg und nach 58 Tagen noch eine Konzentration von 6,4 mg/kg vor. In einer Bodentiefe von 7,5 cm nahm die Konzentration langsamer ab: 4,6 mg/kg am ersten Tag und 3,2 mg/kg nach 58 Tagen. In einem Fall aus dem Jahre 1973 wird über die Verlagerung von Toxaphen nach der Applikation auf einem Dunbarboden berichtet, wobei Toxaphen 129 Tage danach im Grundwasser gefunden wurde [170]. Über 95 % der eingetragenen Toxaphene werden auch nach Jahren fast ausschließlich in den oberen 20 cm gefunden, wobei innerhalb dieses Bereiches ein exponentieller Abfall zu beobachten ist [171,172]. Sandige Lehmböden scheinen dabei besonders adsorptionsstark zu sein. In einer Studie von Nash et al. [173] konnten 45,1 % des applizierten Toxaphens noch 20 Jahre später nachgewiesen werden, wobei sie in einer anderen Studie [174] eine Halbwertszeit für Toxaphen von 11 Jahren angaben. Diese hohe Persistenz von Toxaphen wird auch durch den Vergleich der Halbwertszeiten mit anderen Chlorkohlenwasserstoffinsektiziden (**vgl. Tab. 14**) sichtbar. Eine Verringerung der Toxaphengehalte in Böden findet durch Verdunstung, mikrobiellen Abbau [162], Aufnahme durch Pflanzen und durch Erosion statt. Der mikrobielle Abbau von Toxaphen unter anaeroben Bedingungen vollzieht sich am schnellsten in sehr feuchten Böden. Dagegen überwiegt bei normal bewässerten Böden der Toxaphenverlust durch Verdunstung, die wiederum von der Konvektion, Temperatur, Bodenfeuchte und -beschaffenheit beeinflusst wird.

**Tab. 14:** Halbwertszeiten verschiedener Chlorkohlenwasserstoffinsektizide im Boden [175]

<b>Insektizid</b>	<b>Halbwertszeit in Jahren</b>
Dieldrin	1-7
Chlordan	2-4
DDT	3-10
Heptachlor	7-12
<b>Toxaphen</b>	ca. 10

Die in Bodenproben überwiegend gefundenen Toxaphenkongenere sind das 2-exo,3-endo,6-exo,8c,9b,10a-Hexachlorbornan (B6-923), welches in der Literatur auch als Hx-Sed beschrieben wird und das Heptachlorbornan B7-1001, auch bekannt unter der Bezeichnung Hp-Sed [176]. Bei dem Hexachlorbornan handelt es sich um einen stabilen Metaboliten, der unter Umweltbedingungen nicht weiter abgebaut wird (dead-end-metabolite) [177].

### 4.2. Veränderungen von Toxaphen unter Umweltbedingungen

Als Biotische Umwandlungen (**Metabolismus**) werden chemische Veränderungen einer Substanz durch Organismen bzw. deren Enzyme bezeichnet. Die hierbei entstehenden Umwandlungsprodukte heißen **Metabolite**. Biotische Umwandlungen laufen im Gegensatz zu abiotischen Reaktionen mit sehr geringem Energieaufwand ab. Dabei können enzymatisch katalysierte Reaktionen erwünscht oder unerwünscht sein, je nachdem ob Verbindungen mit geringerer Schadstoffwirkung entstehen (**Detoxifikation**) oder Verbindung mit höherer Toxizität als die Ausgangsverbindungen (**Aktivierung**).

Für die Metabolisierung organischer Verbindungen können drei Umsetzungsmöglichkeiten unterschieden werden [178]:

1. Die Substanz wird vollständig zu CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O mineralisiert (**Totalabbau**).
2. Die Substanz wird zu niedermolekularen Verbindungen abgebaut, die in natürlichen Stoffkreisläufen wiederum zu CO<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>O abgebaut werden.
3. Die Substanz wird zwar chemisch verändert, liefert aber weder Energie noch verwertbare Produkte für den Organismus (**Co-Metabolismus**).

Für Toxaphen gestalteten sich die bisher durchgeführten Metabolismusstudien wegen der komplexen Zusammensetzung recht schwierig. Von verschiedenen Organismen wird Toxaphen in unterschiedlich starkem Maße abgebaut, wobei ein selektiver Metabolismus beobachtet werden konnte.

#### 4.2.1. Metabolismus von Toxaphen

Aufgrund der komplexen Zusammensetzung von Toxaphen gestalteten sich die bisher durchgeführten Metabolismusstudien als recht problematisch. Erschwerend kam hinzu, dass bis heute noch nicht alle Komponenten identifiziert worden sind und zudem für Untersuchungen zum Metabolismus kaum isolierte Einzelverbindungen in ausreichenden Mengen zur Verfügung standen. Allgemein kann jedoch festgestellt werden, dass Toxaphen mit über 202 Komponenten in unterschiedlich starkem Ausmaß von Organismen umgewandelt wird und dass in diesem Zusammenhang ein mehr oder weniger selektiver Metabolismus beobachtet werden konnte.

##### 4.2.1.1. Säuger

In Versuchen mit <sup>36</sup>Cl-markiertem Toxaphen bei Ratten konnte gezeigt werden, dass diese Toxaphen relativ schnell wieder ausscheiden. Bei einer einmaligen oralen Applikation von 20 mg/kg wurden ca. 53 % innerhalb von 9 Tagen wieder ausgeschieden, davon 15 % mit

dem Urin und 37 % mit den Fäzes. Dabei zeigte sich, dass der größte Teil der ausgeschiedenen radioaktiven Metabolite ionischer Natur war [179].

Ohsewa [180] untersuchte ebenfalls den Metabolismus von mit  $^{36}\text{Cl}$ - und  $^{14}\text{Cl}$ - markiertem Toxaphen an Ratten und stellte dabei fest, dass die Hälfte der Chlorkohlenstoff-Bindungen bei  $^{36}\text{Cl}$ - Toxaphen gespalten wurde, wobei als Hauptmetabolit das  $^{36}\text{Cl}$ - Ion im Urin gefunden werden konnte. Die Ausscheidungsraten nach 14 Tagen betragen 76 % für  $^{36}\text{Cl}$ -Toxaphen und 57 % für  $^{14}\text{Cl}$ -Toxaphen. Die Verteilung von mit  $^{14}\text{Cl}$ -markierten Komponenten bei der Ausscheidung war wie folgt : 30 % konnten in Fäzes, 25 % im Urin und 2 % im ausgeatmeten  $\text{CO}_2$  nachgewiesen werden, was ein Hinweis auf einen möglichen Totalabbau sein könnte. Dabei wurden nur 3 % der applizierten Substanz unverändert in den Fäzes gefunden, während 5 – 10 % vollständig und 27 % teilweise dechloriert im Urin und den Fäzes enthalten waren. Die Verteilung des akkumulierten  $^{14}\text{Cl}$ - Toxaphens und der daraus entstandenen Metabolite in den verschiedenen Geweben von Ratten wird in **Tab. 15** aufgeführt.

**Tab. 15:** Verteilung von  $^{14}\text{Cl}$ -markiertem Toxaphen und daraus entstandenen Metaboliten in verschiedenen Geweben von Ratten nach unterschiedlicher oraler Applikation [180].

Gewebeart	Applikation von $^{14}\text{Cl}$ -Toxaphen [mg/kg]	Zeitdauer [d]	Akkumuliertes $^{14}\text{Cl}$ -Toxaphen und $^{14}\text{Cl}$ -Metabolite [mg/kg]
Fett	19,0	14,0	0,78
Leber	19,0	14,0	0,30
Fett	8,5	14,0	0,52
Leber	8,5	14,0	0,12
Niere	8,5	14,0	0,17
Blut	8,5	14,0	0,14
Knochen, Gehirn, Herz, Lunge, Muskeln, Milz	8,5	14,0	0,02 – 0,09
Leber	2,6	9,0	0,12
Niere	2,6	9,0	0,09
Blut	2,6	9,0	0,07
Weiteres Gewebe	2,6	9,0	< 0,03

Ohsawa et al. [180] kamen schließlich zu der Schlussfolgerung, dass nicht alle im Toxaphen enthaltenen Komponenten in gleich starkem Maße eine Chloreeliminierung erfahren haben konnten. Nur Komponenten, die bezüglich der Chlorsubstituenten eine bestimmte Konfiguration aufweisen, werden offensichtlich dechloriert, während andere sich dagegen resistent verhalten.

Für Chandukar und Matsumura [14] spielt zudem der oxidative Metabolismus eine wichtige Rolle, insbesondere in bezug auf den totalen biotischen Abbau von Toxaphen. Sie konnten zeigen, dass die NADPH-abhängige mischfunktionelle Oxidase aus Rattenlebermikrosomen eine rasche Transformation von  $^{14}\text{C}$ -Toxaphen zu stärker polaren Metaboliten bewirkt. Dass eine Oxidation stattgefunden haben musste, zeigte sich nicht nur an der Zunahme von wasserlöslichen Metaboliten, sondern auch an dem Auftreten von Glukoroniden, die aus den Toxaphenumwandlungsprodukten gebildet worden waren, denn die Bildung dieser Konjugate läuft grundsätzlich nur ab, nachdem in eine Toxaphenkomponente eine Hydroxylgruppe eingeführt wurde.

In einem weiteren Versuch wurde Tox B mit isolierter Rattenleber und unter Zusatz von NADPH behandelt, wobei fünf Metabolite entstanden, von denen, nach Derivatisierungsversuchen zu schließen, keiner eine Hydroxylgruppe aufwies. Chandukar und Matsumura [14] leiteten daraus ab, dass NADPH in diesem Fall nur als reduzierendes Agens auf Tox B gewirkt haben musste, was bereits von Hassall 1971 [181] bei Metabolismusstudien von DDT zu DDD beobachtet werden konnte. An dieser Stelle muss jedoch angemerkt werden, dass beiden Wissenschaftler die entstandenen Metabolite nicht auf möglicherweise gebildete Ketone hin untersucht haben. Ebenfalls konnten sie aufgrund der geringen Ausbeuten an Metaboliten keine Molekularmassen mittels GC/MS bestimmen, die eventuell einen weiteren Hinweis auf mögliche Oxidationsprodukte geliefert hätten.

Im Gegensatz zum Tox B wurde Tox C (2-endo,3,3,5-exo,6-exo,8,9,10,10-Nonachlorbornan), das unter den gleichen Bedingungen untersucht worden war, sowohl reduziert als auch oxidiert [14]. Dabei entstanden sechs Metabolite (3,3,5-exo,6-exo,8,9,10,10-Nonachlorbornan), von denen ein Hauptmetabolit mit der Summenformel  $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{Cl}_8$  isoliert und spektroskopisch aufgeklärt werden konnte (**Tab. 16**).

**Tab. 16:** <sup>1</sup>H-NMR Daten (chemische Verschiebung in ppm und Kopplungskonstanten in Hz) von Tox C und dem daraus entstandenen Hauptmetaboliten [14].

Protonen	Tox C	Metabolit
H <sub>1</sub>	6,83 s*	6,37 s
H <sub>2</sub>	5,08 dd*	4,40 d (breit)
H <sub>3</sub>	4,20 dd	3,99 dd
H <sub>4</sub>	4,20 d*	4,03 d
H <sub>5</sub>	4,65 d	4,41 d
H <sub>6</sub>	3,66 s	3,65 s
H <sub>7</sub>	3,66 s	3,61 s
H <sub>8</sub>	3,20 s	3,14 s
H <sub>9</sub>	5,70 s	2,90 d
H <sub>10</sub>	-	3,23 d
Kopplungen		
J <sub>2,3</sub>	3,0	1,75
J <sub>2,4</sub>	13,0	12,75
J <sub>3,5</sub>	12,5	12,00
J <sub>9,10</sub>	-	15,5

\* s = Singulett, d = Doublett, dd = doppeltes Doublett

Chandukar und Matsumura [14] leiteten aus Derivatisierungsversuchen ab, dass die oxidierten Metabolite ausschließlich Hydroxylgruppen besitzen. Sie postulierten, dass einer der Metabolite am Brückenkopf hydroxyliert worden sei, während die anderen vier möglicherweise in C2-, C3-, C5- oder C6-Position eine Hydroxylgruppe aufweisen könnten. Mit Hilfe von *in vitro*-Untersuchungen konnten sie zudem demonstrieren, dass auch die Glutathion S-transferase (GSH-S-transferase) in den Metabolismus involviert ist. In einer Versuchsreihe konnten sie beim Abbau von Toxaphen eine Steigerung der Ausbeute an wasserlöslichen Metaboliten von 50 % beobachten.

Zusammenfassend kann aus der Untersuchungsergebnissen entnommen werden, dass beide Enzyme, sowohl die NADPH-abhängige mischfunktionelle Oxidase als auch die GSH-S-Transferase Toxaphen respektive einige seiner Einzellkomponenten selektiv zu mehr oder weniger polaren Verbindungen metabolisieren können, wobei jedoch einige Komponenten über eine hohe Resistenz verfügen müssen.

Maiorino et al. [182] untersuchten den Metabolismus von Toxaphen an isolierter Rinderleber, die mit Blut perfundiert wurde, das mit Toxaphen dotiert war. Dabei konnten sie feststellen, dass Toxaphen rasch aus dem Blut in die Leber transportiert und dort sehr schnell zu chlorärmeren Metaboliten umgewandelt wird. Bereits 15 Minuten nach Beginn des Experiments konnten 75 % des Toxaphens im Lebergewebe nachgewiesen werden. Zudem stellten sie fest, dass in der Leber zahlreiche, in geringem Maße dechlorierte Biotransformationsprodukte gespeichert wurden, die dadurch einem weiteren direkten Metabolismus entzogen waren und anschließend nur sehr langsam weiter abgebaut wurden.

Es wurden auch Metabolismusstudien mit Tox B (#32, B7-515) an isoliertem Pansenserum von Rindern durchgeführt [182]. 500 ml Serum wurden dazu mit 66 µg Tox B dotiert. Der Metabolismus wurde in einer zeitabhängigen Reaktion gaschromatographisch verfolgt. Bereits nach 24 Stunden konnte kein Tox B mehr nachgewiesen werden. Neben den beiden durch reduktive Dechlorierung entstandenen Hexachlorbornanderivaten konnten keine weiteren Metabolite detektiert werden.

Vergleichende Metabolismusstudien wurden von Saleh et al. [183] an sechs Säugern mit Toxaphen und Tox B (#32, B7-515) durchgeführt. Die dabei beobachteten Metabolisierungsraten waren in starkem Maße abhängig von der Tierspezies. Als Hauptreaktion konnten reduktive Dechlorierungen und Dehydrochlorierungen nachgewiesen werden. Beim Tox B entstanden primär die durch reduktive Dechlorierung der geminalen Dichlorgruppe in C2-Position gebildeten Metabolite (B6-923), 2-exo,5-endo,6-exo,8,9,10-Hexachlorbornan (III) und (B6-913), 2-endo,5-endo,6-exo,8,9,10-Hexachlor-bornan (II) sowie in geringeren Mengen der durch Eliminierung von HCl in den Positionen C2 und C3 gebildete Metabolit 2,5-endo,6-exo,8,9,10-Hexachlorborn-2-en (IV) (vgl. **Tab. 17**).

Die mit technischem Toxaphen behandelten Tierspezies enthielten alle in den Fäzes beachtliche Mengen der drei aus Tox B entstandenen Hauptmetabolite (z. B. bei Affen und Ratten). Da der Anteil an Tox B in technischem Toxaphen nur 3–4 % beträgt [183], kann aufgrund der Intensität der in den Gaschromatogrammen beobachteten Peaks geschlossen werden, dass diese drei Metaboliten neben Tox B (#32, B7-515) höchstwahrscheinlich auch von weiteren Toxaphenkomponenten gebildet werden.

**Tab. 17:** Tox B (#32, B7-515) und daraus entstandene Metabolite (in % der applizierten Dosis von 3 mg/kg) in Fäzes von verschiedenen Säugern sowie Hühnern, 72 Stunden nach oraler Applikation [183]

Tierspezies	Parlar #32 Tox B	B6-913 II	B6-923 III	IV	Produktverhältnis III/II
Hühner	17,7 ± 2,7	3,8 ± 0,7	5,2 ± 0,9	0,9 ± 0,2	1,4
Mäuse	2,8 ± 0,3	1,8 ± 0,1	2,2 ± 0,3	0,3 ± 0,0	1,2
Ratten	0,2 ± 0,1	2,1 ± 0,6	5,3 ± 1,6	1,0 ± 0,3	2,5
Hamster	0,6 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,4 ± 0,1	0,2 ± 0,0	1,1
Meerschweinchen	3,2 ± 0,5	3,6 ± 0,5	4,0 ± 0,7	0,7 ± 0,1	1,1
Kaninchen	2,5 ± 0,0	10,1 ± 0,1	10,1 ± 0,1	1,5 ± 0,2	1,0
Affen	0,0	8,8	10,7	0,9	1,2

#### 4.2.1.2. Weitere Tierarten

Obwohl Toxaphen hauptsächlich als Insektizid angewendet wurde, ist der Metabolismus in Insekten nur sehr wenig untersucht worden. 1952 berichteten Hoffman und Lindquist, dass resistente Stubenfliegen 40 % des applizierten Toxaphens metabolisieren konnten, während von DDT 35 % und von Chlordan 59 % abgebaut werden konnten. Bei dem Baumwollschädling *Spodopetra littoralis* konnte eine Dechlorierung der Komponenten und die Entstehung von niedrig chlorierten Isomeren durch Metabolisierung nachgewiesen werden [184,185]. Der gleiche Metabolisierungsmechanismus wurde auch bei der Stubenfliege bestätigt, wobei Tetrachlortricyclenderivate entstanden [182].

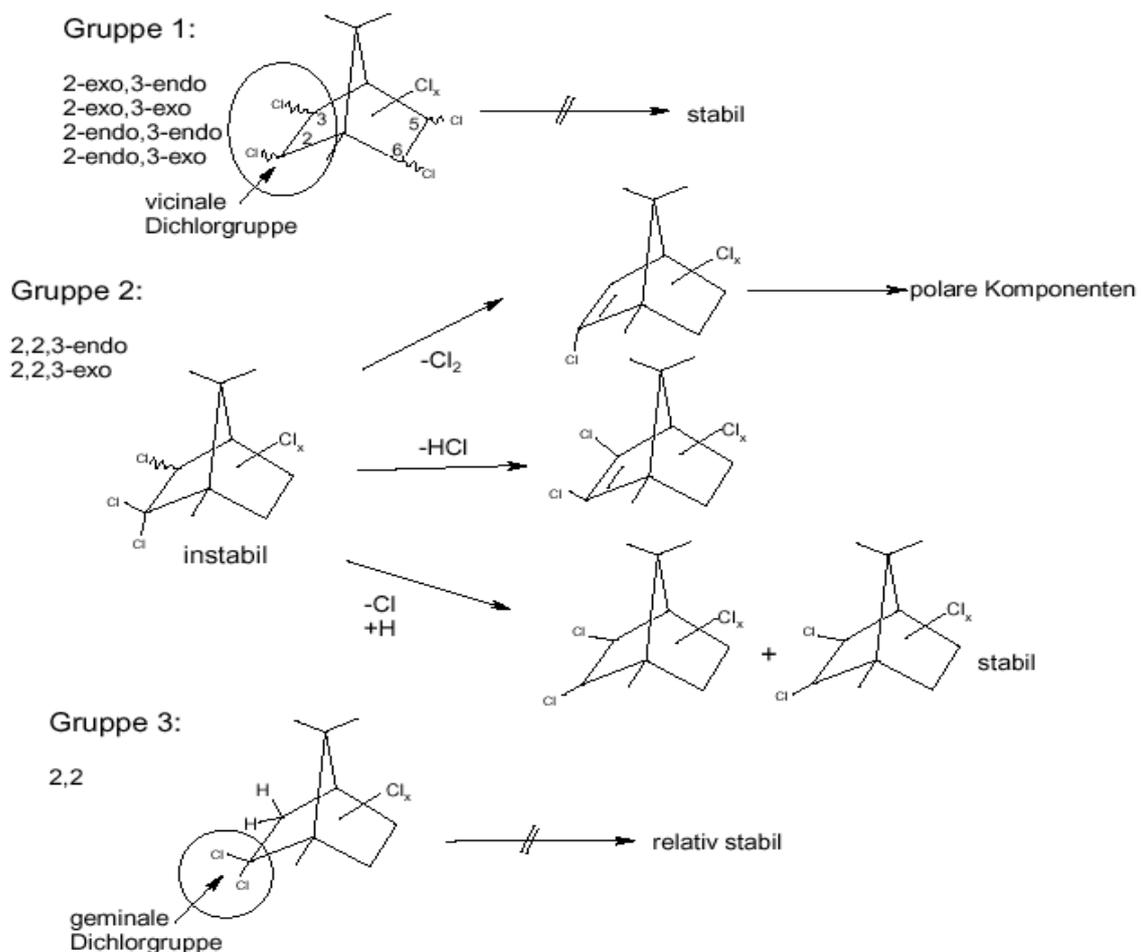
Auffällig ist, dass sowohl in Fischen als auch in Meeressäugtieren nur wenige Toxaphenkomponenten angereichert werden. Fisch-, Fischöl- und Lebertranproben weisen Rückstände auf, die ein ähnliches Peakmuster besitzen wie photodechloriertes Toxaphen. Beim Narwal (*Monodon monoceros*), der Quappe (*Lota lota*) und Robben (*Leptonychotes weddellii*) werden die meisten Toxaphenkomponenten metabolisiert. Lediglich zwei Substanzen, Parlar #26 und Parlar #50, erweisen sich als resistent gegenüber dem Abbau und werden daher in großen Mengen angereichert [186,187,188].

#### 4.2.1.3 Mikroorganismen

Der in zahlreichen Studien untersuchte mikrobielle Abbau spielt eine tragende Rolle bei der Eliminierung von Toxaphen aus der Umwelt [182,189,190]. Außerdem zeigen die meisten Untersuchungen, dass der Abbau unter anaeroben Bedingungen am schnellsten abläuft.

Fingerling untersuchte den anaeroben Abbau von technischem Toxaphen und sechs umweltrelevanten Toxapheneinzelkomponenten (Parlar #32, #42a, #42b, #49a, #56, #59) in überflutetem Boden. Allen sechs Einzelsubstanzen ist die geminale Dichlorogruppe in C2-Position gemeinsam, außerdem besitzen alle entweder ein Chloratom in C5<sub>endo</sub>-C6<sub>endo</sub>-Position. Es konnten zwei stabile Endmetabolite, 2-endo,5-endo,6-exo,8,9,10-Hexachlorbornan und 2-exo,5-endo,6-exo,8,9,10-Hexachlorbornan isoliert werden. Die Hauptreaktion bei der Bildung der Metabolite ist die reduktive Dechlorierung, wobei die Dechlorierungsrate von der Zahl der Chloratome abhängig ist: Nonachlorbornan > Octachlorbornan > Heptachlorbornan [191,192].

Weitere Untersuchungen zum mikrobiellen Abbau ausgewählter Einzelkomponenten im Boden konnten zeigen, dass sich die Toxaphenkomponenten bezüglich ihrer Stabilität in drei Gruppen (**Abb. 6**) einteilen lassen [193].



**Abb. 6:** Einteilung chlorierter Bornane bezüglich ihrer Stabilität bei mikrobiellem Abbau

Komponenten, die im Ring in C2-, C3-, C5- und C6-Position jeweils nur Chloratome in alternierender Orientierung besitzen, sind sehr stabil. Im Gegensatz dazu werden Komponenten mit geminalen Dichlorgruppen im Ring, denen ein weiteres Chloratom in exo- oder endo- Stellung benachbart ist, leicht abgebaut. Befindet sich allerdings im Ring in C2-Position eine geminale Dichlorgruppe, der kein weiteres Chloratom benachbart ist, dann sind diese Komponenten relativ stabil. Diese Einteilung bezüglich der Stabilität gilt auch für den photochemischen Abbau.

### 4.2.2 Abiotischer Abbau von Toxaphen

Abiotische Umwandlungen laufen in allen drei Umweltkompartimenten (Luft, Wasser, Boden) mehr oder weniger effektiv ohne Anwesenheit von Organismen bzw. deren Enzymen ab. Die wichtigsten Energiequellen sind Temperatur und UV-Strahlung. Allgemein können vier verschiedene Reaktionstypen unterschieden werden [178]:

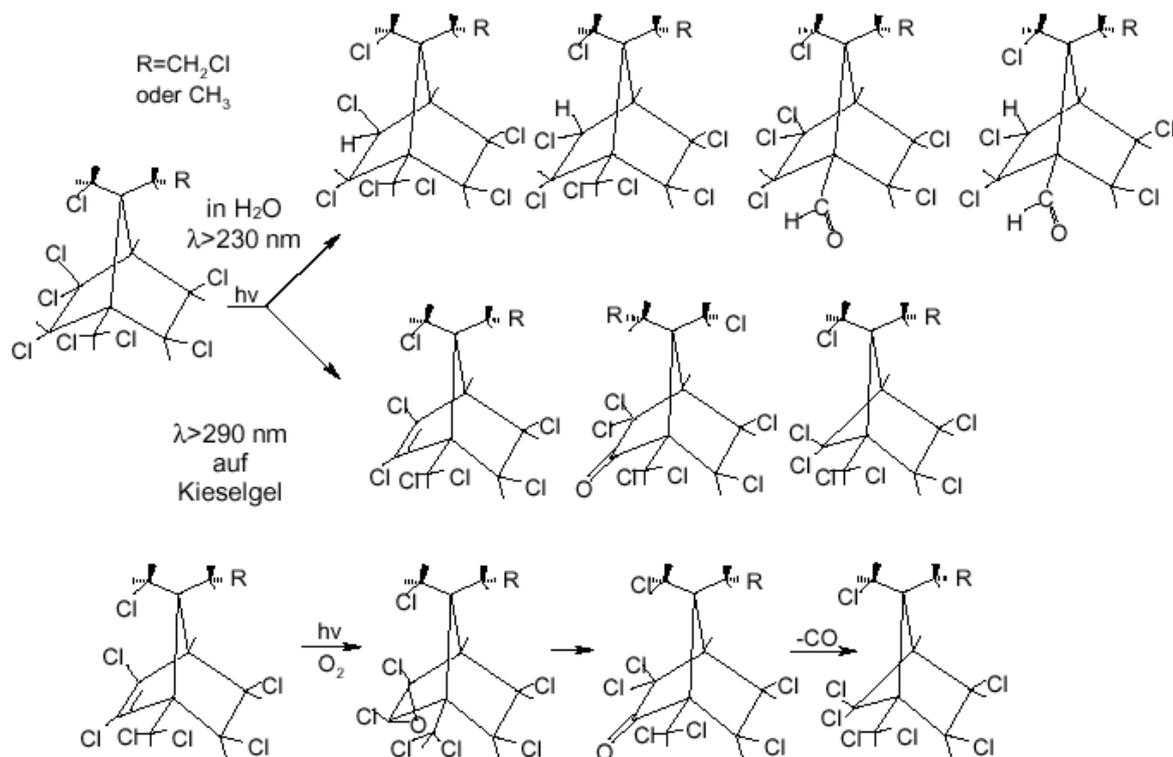
- **Hydrolyse** in aquatischen Systemen,
- **Reduktion** im anaeroben Milieu von Sedimenten,
- **Oxidationen** durch reaktiven Sauerstoff, sowohl in der Luft als auch in Gewässern und
- **Photochemische Reaktionen** (Photoisomerisierung, -dissoziation und -mineralisierung).

Aufgrund der Zusammensetzung von Toxaphen (überwiegend polychlorierte Bornanderivate) kann geschlossen werden, dass weder hydrolytische noch oxidative Prozesse eine große Rolle spielen. Auch reduktive Abbaureaktionen spielen in der Umwelt keine wichtige Rolle, so dass im Folgenden nur auf das photochemische Verhalten von Toxaphen näher eingegangen werden soll.

Khalifa et al. [194] konnten 1976 zeigen, dass Tox A<sub>1</sub> (2,2,5-endo,6-exo,8b,8c,9c,10a-Octachlorbornan, Parlar #42a, B8-806), Tox A<sub>2</sub> (2,2,5-endo,6-exo,8c,9b,9c,10a-Octachlorbornan, #42b, B8-809) und Tox B (2,2,5-endo,6-exo,8c,9b,10a-Heptachlorbornan, #32, B7-515) mit reduziertem Hämatin (Ferrihämhydroxid) zu verschiedenen Produkten dechloriert werden. In allen Fällen waren eine reduktive Dechlorierung und Dehydrochlorierung die Hauptabbauwege. Ganz ähnliche Ergebnisse hatten Saleh et al. [183] 1979, die ebenfalls einen reduktiven Abbau von Tox B in Gegenwart von reduziertem Hämatin feststellten. Dabei erhielten sie zu ca. 85 % die durch reduktive Dechlorierung der geminalen Dichlorgruppe entstehenden Verbindungen 2-exo,5-endo,6-exo,8,9,10-Hexachlorbornan (B6-923) und 2-endo,5-endo,6-exo,8,9,10-Hexachlorbornan (B6-913). Weiterhin identifizierten sie ein 2,5-endo,6-exo,8,9,10-Hexachlorbornan und ein mögliches 2,5-endo,8,9,10-Pentachlortricyclen. Der photochemische Abbau von Toxaphen ist von besonderem Interesse. Toxaphen besitzt, gelöst in n-Hexan, ein Absorptionsmaximum bei 210 nm und läßt eine direkte Photolyse mit

der für die Troposphäre typischen UV-Strahlung ( $\lambda > 290$  nm) nicht erwarten. Bei Wellenlängen von  $\lambda < 290$  nm werden unter Laborbedingungen verstärkt Abbauraten beobachtet [195], wobei vor allem hochchlorierte Bornane dechloriert (in C2- oder C3-Position) bzw. dehydrochloriert (C2- und C3-Position) werden [196,182,233]. Dichlorbornanderivate verhalten sich unter diesen Bedingungen inert. Nach einer zweistündigen Bestrahlung von technischem Toxaphen mit einer Niederdrucklampe bei  $\lambda = 254$  nm weist das Chromatogramm des erhaltenen Photoprodukts ein ähnliches Peakmuster auf, wie das von Lebertran und Fischölproben. Diese Korrelation konnte Lach [197] 1990 erstmals feststellen und Hinweise dafür liefern, dass sowohl beim biotischen als auch beim abiotischen Abbau ein ähnliches Transformationsverhalten vorliegen muß. Das durch Bestrahlung entstandene Produkt (CB-Standard) mit etwa 20 größeren Einzelpeaks wurde daraufhin für einige Zeit zur Quantifizierung von Toxaphenen in Lebertran- und Fischölproben eingesetzt [198]. In anderen Untersuchungen wurde auch das photochemische Verhalten von Einzelkomponenten in n-Hexan und einem Methanol/Wassergemisch untersucht [16,182]. Bei Bestrahlungen mit  $\lambda > 220$  und 230 nm konnten reduktive Dechlorierungen an der geminalen Dichlorgruppe in C5-Position beobachtet werden sowie eine in Abhängigkeit vom Reaktionsmedium und der Bestrahlungsdauer stehende Dechlorierungsstufe.

Die in organischen Lösungsmitteln durchgeführten Photoabbaureaktionen bei  $\lambda = 254$  nm laufen insgesamt alle unter der Erhaltung des Bornangerüsts ab. Bestrahlt man dagegen die an standardisierten Oberflächen, wie z. B. Kieselgel, adsorbierten chlorierten Bornanderivate und das technische Gemisch bei  $\lambda > 230$  nm, so findet zum Teil eine rasche Mineralisierung zu  $\text{CO}_2$  und HCl statt. Desgleichen werden bei diesen Wellenlängen auch die niedrig chlorierten Bornanderivate, die bei Bestrahlung in n-Hexan inert sind, vollständig abgebaut [7]. Parlar führte Bestrahlungsversuche bei  $\lambda > 290$  nm mit zwei von Anagnostopoulos und ihm selbst 1974 [13] isolierten Toxaphenen durch (2-endo,3,3,5-exo,6-exo,8,10,10-Octachlorbornan, (B8-1058) und 2-endo,3,3,5-exo,6-exo,8,9,10,10-Nonachlorbornan, (B9-1327). In wäßriger Lösung erwiesen sich die beiden Verbindungen als sehr stabil, während sie adsorbiert an Kieselgel, d.h. der Absorptionsbereich ist bathochrom verschoben, rasch abgebaut wurden. Der Abbau in wäßriger Lösung erfolgt dagegen erst bei der Bestrahlung mit niedrigeren Wellenlängen ( $> 230$  nm). Die identifizierten Abbauprodukte (**vgl. Abb. 7**) entstanden durch reduktive Dechlorierung, Dehydrochlorierung, Oxidation und durch Kombination dieser Reaktionen [196].



**Abb. 7:** Photoreaktionen von 2-endo,3,3,5-exo,6-exo,8,9,10,10-Nonachlorbornan ( $R=CH_2Cl$ ) und 2-endo,3,3,5-exo,6-exo,8,10,10-Octachlorbornan ( $R = CH_3$ ) [196]

## 5. Analytik von Toxaphenrückständen

Um eindeutige Aussagen über das ökochemische Verhalten von Toxaphen und seinen Komponenten, insbesondere über das der Persistenz und Toxikologie, machen zu können, bedarf es einer eindeutigen Analytik. Im Gegensatz zu den experimentellen toxikologischen Studien, die zumeist unter definierten Bedingungen mit bekannten Substanzmengen und -klassen stattfinden, sind die Zusammensetzungen der Schadstoffmuster in biologischen Proben weitaus komplexer. Neben einer Vielzahl von bekannten, komplexen ubiquitären Xenobiotika können sie unbekannte und/oder zur Zeit nicht bestimmbar Rückstände enthalten. Die optimale Nutzung aller Analysenschritte trifft insbesondere für bisher nur wenig oder gar nicht untersuchte Spezies zu, d. h. wenn keine Informationen hinsichtlich der Vergleichbarkeit erzielter Ergebnisse vorliegen. So ist für eine erfolgreiche gaschromatographische Rückstandsanalytik von Toxaphenen mit geeigneten Kapillarsäulen und der Verwendung von hochempfindlichen Detektionssystemem (ECD oder ECNI-MS) auch eine vorherige effiziente Matrixabtrennung und Reinigung der Probe nach Extraktion erforderlich. Dabei finden allgemein bekannte Methoden Anwendung, wie Fettabtrennung durch

Gelpermeationschromatographie (GPC), die N,N-Dimethylformamid(DMF)/Hexan-Verteilung, Cleanup-Schritte mit konzentrierter Schwefelsäure und anschließende Eliminierung von Störsubstanzen durch Säulenchromatographie sowie Gruppentrennung durch Adsorptionschromatographie an Kieselgel oder Florisil.

### 5.1 Matrixabtrennung

Chlorkohlenwasserstoffe (CKWs) liegen im Spurenbereich (ng/kg bis mg/kg) in lipidhaltigen bis lipidreichen Matrices (Fettgewebe, Öle, aber auch Organgewebe wie Leber, Niere, Muskulatur oder Gehirn und Fortpflanzungsprodukte wie z. B. Eier) vor. In den bisher am meisten auf Toxaphenrückstände untersuchten biologischen Proben stehen Fisch und Fischprodukte zahlenmäßig an erster Stelle. Als Bezugsgröße werden der Fettgehalt und beim Lebensmittel Fisch oft auch das Frischgewicht angegeben, da dieses dem Verhalten des Verbrauchers am nächsten kommt. Da Toxaphen und seine Komponenten ein großes Polaritätsintervall überstreichen, hat sich, nach vorheriger Homogenisierung und Trocknung der Probenmatrices mit Natriumsulfat, die Fettextraktion mit einem Lösungsmittelgemisch von Cyclohexan/Dichlormethan mittels Soxhlet in umfangreichen Untersuchungen von Fisch und Fischprodukten bewährt [103,195,199,200].

Das Zusetzen eines internen Standards zur Überprüfung aller Aufarbeitungsschritte gestaltet sich zur Zeit immer noch als problematisch, da <sup>13</sup>C-markierte Toxaphene noch nicht vorliegen oder Chlordane, welche sich ähnlich wie Toxaphene verhalten, auch sehr teuer sind. In der Literatur werden meist keine Angaben dazu gemacht, und wenn doch, so werden häufig Hexachlorcyclohexan, 1,2,3,4-Tetrachlor- oder Octachlornaphthalen verwendet [201]. Die besonders gute Eignung von 4,5-Dichlorchlorden als internem Standard zur Quantifizierung von Toxaphenrückständen in Fischproben konnten Karlsson et al. [201] 1997 herausstellen. 4,5-Dichlorchlorden kann sehr leicht durch Synthese aus trans-Nonachlor gewonnen werden und ist in Umweltproben nicht vorhanden. Neben den toxaphenähnlichen chromatographischen Eigenschaften (Polarität, Säurestabilität, Thermostabilität und Response) lassen sich gleichzeitig auch Chlordane mit 4,5-Dichlorchlorden quantifizieren.

Die Abtrennung der lipophilen Probenmatrix erfolgt nach dem Aufnehmen der Probe in einem geeigneten, unpolaren Lösungsmittel. Am häufigsten werden dafür die GPC und die Flüssig-Flüssig-Verteilung verwendet. Bei der GPC ist die Kombination Bio-Beads SX-3 Gel und Cyclohexan/Essigsäureethylester (1+1 v/v) als Lösungsmittel die heutige Standardmethode, die zur Matrixabtrennung in der Pestizidanalytik fetthaltiger Matrices (Fette, Öle, Fettgewebe, Pflanzenlipide, Talg etc.) eingesetzt wird [202]. Die Pestizide, deren

Molekulargewichte zwischen 200 und 400 u liegen, werden in den Hohlräumen des Gels zurückgehalten und eluieren später als die größeren Lipide, deren Molekulargewichte meist zwischen 600 und 1500 u liegen. Vorteil der GPC sind der geringe Zeitaufwand und niedrige Lösungsmittelverbrauch. Durch die GPC können so bis zu 98 % des Fettgehaltes entfernt werden [40]. Die Beseitigung der restlichen Verunreinigungen kann durch Behandlung mit konzentrierter Schwefelsäure erfolgen. Nachteilig sind neben geringeren Wiederfindungsraten (für Toxaphen 87,0 % bei 1 µg/ml und für den 22-Komponenten-Standard 86,2 % bei 0,1 µg/ml je Komponente bei Lebertranproben) als auch bei der Flüssig/Flüssig-Verteilung [103], auch das differierende Quellverhalten der Gele von Charge zu Charge, so dass bei jeder neuen Säulenfüllung erst das jeweilige Elutionsprofil bestimmt werden muß [203].

Bei der Flüssig-Flüssig-Verteilung mit DMF/Hexan werden die Chlorkohlenwasserstoffe (CKWs) mit einer ca. 60-80%igen Ausbeute aus der n-Hexanphase extrahiert, während die Fette dabei in der Hexanphase verbleiben [199]. Da das Fett auf diese Weise nicht quantitativ abgetrennt werden kann, muß ebenfalls ein Schwefelsäure-Cleanup angeschlossen werden. Weiterer Nachteil sind ein hoher Zeit- und Arbeitsaufwand sowie der beträchtliche Lösungsmittelverbrauch. Die Wiederfindungsraten für Toxaphen lagen bei untersuchten Lebertranproben (keine Soxhletextraktion) je nach zugegebener Toxaphenkonzentration zwischen 82,7 % bei 10 µg/ml und 90,9 % bei 1 µg/ml [200]. Weitaus bessere Wiederfindungsraten für Toxaphen findet man beim alleinigen Schwefelsäure-Cleanup ohne DMF/Hexan-Verteilung. Die gewonnenen Fette werden in n-Hexan gelöst, in Scheidetrichtern mit Schwefelsäure versetzt und die CKWs in der Hexanphase gewonnen. Neben dem geringeren Lösungsmittelverbrauch, leichterer Handhabung und Zeitersparnis werden Wiederfindungsraten für Toxaphen (Fischproben (Muskulatur, Extraktion mit Soxhlet)) von 91,3 % bei 6 µg/ml bis 95,3 % bei 1 µg/ml und für den 22-Komponenten-Standard von 87,7 % bei 0,1 µg/ml je Komponente genannt [103].

### **5.2 Abtrennung interferierender Substanzen**

Der Abtrennung bekannter interferierender Substanzen kommt bei der Toxaphenanalytik eine besondere Bedeutung zu. In der Gaschromatographie kann es zu einer Überlappung der Retentionsbereiche von Toxaphenen mit Substanzen wie PCBs, DDT und Metaboliten, Chlordanen, Cyclodieninsektiziden und HCHs kommen. Besonders bei der Verwendung des <sup>63</sup>Ni-haltigen ECD ist eine Befreiung der Toxaphenrückstände von störenden Begleit-substanzen erforderlich, da diese Detektionsmethode im Gegensatz zur GC/ECNI-MS außer der Retentionszeit keine substanzspezifischen Informationen liefert.

Neben der Verwendung von mit 2 % H<sub>2</sub>O desaktivierten Aluminiumoxidsäulen oder mit 1,2 - 1,25 % H<sub>2</sub>O desaktivierten Florisilsäulen [204] werden vor allem Kieselgelsäulen zur Abtrennung eingesetzt [139,199,155,200,205,206,103]. Beispielsweise wurde die Abtrennung von PCBs von Jansson et al. [139] mit 3 % H<sub>2</sub>O desaktiviertem Kieselgel durchgeführt. Zuerst wurden die PCBs mit n-Hexan eluiert und danach Toxaphen mit n-Hexan/Diethylether (75+25 v/v). Eine andere Arbeitsgruppe chromatographierte zuerst mit n-Hexan an mit 1 % H<sub>2</sub>O desaktiviertem Kieselgel und danach mit iso-Octan/Diethylether (75+25 v/v) [155]. Nach Einengung der Toxaphenfraktion wurde diese Prozedur wiederholt, um die Reste der PCBs zu entfernen. In wiederum anderen Versuchen wurde Kieselgel (1 g) eingesetzt, das mit 1,5 % H<sub>2</sub>O desaktiviert war [205]. PCBs und Organochlorpestizide wurden mit 8 ml Hexan eluiert, wobei ein geringer Anteil von Chlorbornanen in dieser Fraktion verblieb. In der mit Hexan/Toluol (65+35 v/v) eluierten zweiten Fraktion wurden mehr als 90 % der Chlorbornane (bezogen auf Toxaphen) wiedergefunden. So eluierte z. B. eines der persistenteren Toxaphene (Parlar #26 (B8-1413)), welches auch als sehr apolares Octachlorbornan bekannt ist [207], in beide Fraktionen, so dass in diesem Fall beide gewonnenen Fraktionen quantifiziert werden müssen [206]. Gute Ergebnisse wurden erzielt, wenn das Kieselgel (4,3 g) mit 5 % H<sub>2</sub>O desaktiviert wurde [199,103,200]. Dabei wurden die PCBs mit n-Hexan und Toxaphen mit Hexan/Dichlormethan (2+1 v/v) eluiert. Die Toxaphenrückstände lagen dann in der zweiten Fraktion (18-25 ml) vor. Um eine bessere Reproduzierbarkeit zu erreichen, wurde außerdem mit einem konstanten Überdruck von 3 kPa chromatographiert. Vorteil aller säulenchromatographischen Fraktionierungen ist, dass neben den Toxaphenen auch die abgetrennten oder mit in der Toxaphenfraktion verbleibenden Chlorkohlenwasserstoffe (CKWs) analysiert werden können.

### **5.3 Gaschromatographische Trennung und Detektion von Toxaphen und seinen Einzelkomponenten**

Die Entwicklung und Einführung modernster, hochauflösender Kapillarsäulen hat in den letzten Jahren zu akzeptablen gaschromatographischen Auftrennungen von chlororganischen Rückständen in biologischen Proben geführt. Zwar ist eine vollständige Auftrennung aller Toxaphenkomponenten nicht möglich (**vgl. Kap. 1.3, Abb. 4**), doch lassen sich durch entsprechende Aufreinigungsschritte, Temperaturprogramme, Injektionstechniken und die Auswahl der Kapillarsäulen weitere Verbesserungen in der Auftrennung, Identifizierung und Quantifizierung von Toxaphenen erzielen. So können die drei Indikatorkongenere Parlar #26 (B8-1413), #50 (B9-1679) und #62 (B9-1025) für Fisch und Fischprodukte mit den 5 %

Phenyl- und 95 % Dimethylpolysiloxan enthaltenden Kapillarsäulen (DB 5, Ultra 2, CP-Sil 8 oder RTx-5) ohne Probleme getrennt werden [208]. Dagegen bereitet die vollständige Trennung des 22-Komp.-Standards schon größere Probleme, so dass es häufig zu Koelutionen im Bereich von Parlar #11/12, #31 und #32 (B7-515), der Octachlorbornane Parlar #39/40/41 (B8-531/1414/1945) und der Nonachlorbornane #62/63 (B9-1025/2206) kommen kann [209,211,210]. So werden als Alternative die apolarere CP-Sil 2 [212] und mit mittlerer Polarität die Optima- $\delta$  3 oder die OV-1701 genannt [208]. Eine andere Möglichkeit Koelutionen zu vermeiden und die Trennleistung insgesamt zu verbessern gelingt, wenn zwei Säulen hintereinander geschaltet werden (2-Säulenchromatographie, Tandemchromatographie oder auch heart-cut multidimensional gas chromatography) [76].

Um eine mögliche Zersetzung von Toxaphenen im Injektionssystem zu verhindern, ist es unbedingt empfehlenswert, dieses mit verschiedenen Temperaturen zu prüfen. So sollen Temperaturen über 250 °C [213] bzw. 240 °C [214] möglichst vermieden werden, andererseits können zu niedrige Temperaturen, durch ein unvollständiges Verdampfen der Probe im Injektorblock, zu Verschmutzungen und falschen Analyseergebnissen führen. Bei einem durchgeführten Ringversuch betrug daher die mit Erfolg angewendete durchschnittliche Injektortemperatur 230 °C [215]. Durch die sogenannte druck-gepulste, splitlose Injektion (PPI) kann die Nachweisempfindlichkeit für einige Toxaphene verbessert werden, was im Falle von Parlar #62 (B9-1025) bei HRGC/ECNI-MS-Analysen nicht unerheblich ist, da diese Verbindung als eines der Indikatorkongenere für die Toxaphenbelastung von Fisch und Fischprodukten in der BRD herangezogen wird [213]. Auch die on-column Injektion liefert im Vergleich zur splitlosen Injektion eine höhere Ionenausbeute und damit verbesserte Responsefaktoren (**vgl. Tab. 18**) [60], ist aber wegen ihrer Anfälligkeit gegenüber Verschmutzungen vor allem bei großem Probendurchsatz im Routinebetrieb nicht ohne Nachteile.

**Tab. 18:** Übersicht über Responsefaktoren ausgewählter Toxaphene relativ zu Parlar #50 (B9-1679) [60]

Parlar # (Av-Code)	GC/ECD (on column)	GC/ECD (Splitlos)	GC/MS (EI)	GC/MS (NCI)	GC/MS (NCI-SIM)
26 (B8-1413)	-*	-*	1,42	-*	1,11
32 (B7-515)	1,29	1,86	0,99	2,54	1,99
50 (B9-1679)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
62 (B9-1025)	1,38	0,71	0,52	0,22	0,39
69 (B10-1110)	1,46	0,19	0,18	0,17	0,45

\*keine Angaben; NCI = Negative chemische Ionisation; SIM = Selected Ion Monitoring

Während bei der on-column Injektion am ECD für die untersuchten Toxaphene Parlar #26 (B8-1413), #32 (B7-515), #50 (B9-1679), #62 (B9-1025) und #69 (B10-1110) Response-Unterschiede bis zu 46 % auftraten, wurden bei der Split/Splitlos-Injektion sogar Abweichungen bis zu 1000 % gefunden. Lach et al. [198] konnten bei der Verwendung des technischen Toxaphens zur Quantifizierung sowohl bei ECD- als auch bei ECNI-MS-Analysen Responseunterschiede von 80 bzw. 70 % feststellen [198]. Beim Vergleich von drei untersuchten GC/ECNI-MS-Detektionssystemen zeigte sich, dass das Responseverhalten von 18 Chlorbornanen gleicher Konzentration am ECD insgesamt homogener ist (**vgl. Abb. 8**) [61].

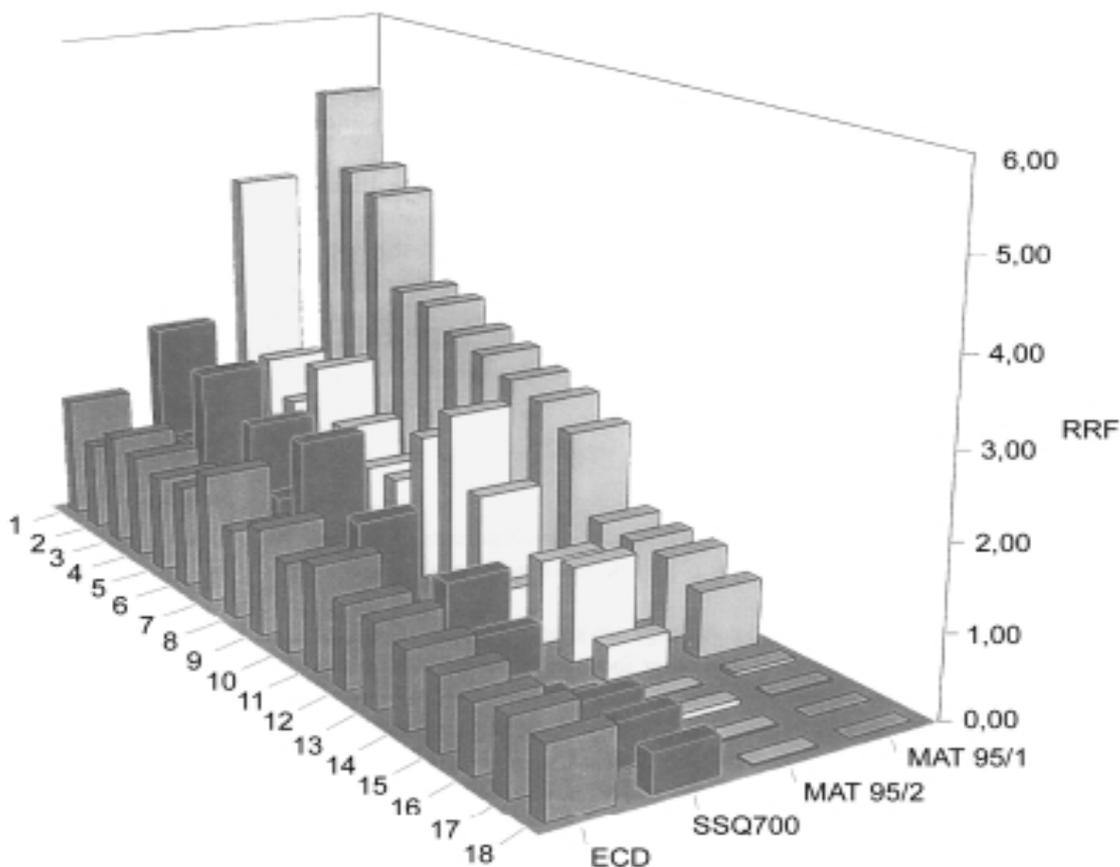
Weitere Parameter wie z. B. die Träger- und Reaktandgasauswahl und die Ofen-, Detektor- oder Quelltemperatur haben ebenfalls geringfügige Auswirkungen auf die Leistungsfähigkeit des gesamten Systems. Sie können aber auch teilweise von gängigen rückstandsanalytischen Methoden übernommen werden oder lassen sich schnell optimieren. Als Detektoren kommen der ECD als auch das Massenspektrometer (MS) zum Einsatz. Beide lassen sich im Anschluß an eine hochauflösende Kapillarsäule betreiben und können theoretisch kombiniert werden. Meistens werden diese Detektoren aber einzeln eingesetzt. Die Nachweisempfindlichkeit der Chlorkohlenwasserstoffe (CKWs) am ECD hängt im wesentlichen von der Höhe des Chlorierungsgrades, der Chlorposition im Molekül und dessen Struktur ab. Der ECD ist, wie bereits erwähnt, nicht in der Lage substanzspezifische Informationen zu liefern, so dass man bei der Identifizierung eluierender Verbindungen auf den Vergleich der Retentionszeiten der eines Standards angewiesen ist. Dieses kann sehr leicht zu Fehlinterpretationen führen, wenn beim Einsatz des technischen Toxaphens als externen Standard zur Quantifizierung, zwei oder mehrere Verbindungen koeluiieren. Zudem unterscheiden sich die Muster von den in Umweltproben gefundenen Toxaphenen signifikant von denen der zu Verfügung stehenden technischen Standards, da sich die im Gemisch vorliegenden Chlorbornane unter Umweltbedingungen bezüglich Verteilung, abiotischer Transformation, Metabolisierung und Akkumulation so unterschiedlich verhalten, dass anschließend in Gaschromatogrammen ein völlig anderes Peakmuster resultiert [139,204]. Da bekanntlich als Hauptumwandlungspfade Dechlorierungs- und Dehydrochlorierungsreaktionen stattfinden, resultieren in den Umweltproben Toxaphene, die zum Teil weniger Chlorsubstituenten aufweisen, als die im technischen Gemisch. Wenn im Vorfeld keine vollständige Trennung von interferierenden Substanzen stattgefunden hat, wird die Zuordnung der Toxaphene zusätzlich erschwert, zumal PCBs eine 20-fach höhere Response am ECD zeigen als Toxaphene [199].

Im Vergleich von untersuchten Fischölen und Lebertranen mittels ECD und ECNI-MS lagen die ermittelten Toxaphenrückstände unter Verwendung des ECD immer höher, weil koeluisierende Verbindungen höchstwahrscheinlich mitquantifiziert wurden. Besonders auffällig waren die berechneten Abweichungen bei den Octachlorbornanen Parlar #40/41/42a/b/44 (B8-1414/1945/806/809/2229). Weiterhin wurden mit dem ECD offenbar sehr viel mehr Toxaphenkomponenten nachgewiesen, da sowohl PCBs als auch Cyclodieninsektizide im ECNI-MS nachweisbar waren [103]. Zwar kommt in der Rückstandsanalytik bei der gesetzlichen Lebensmittelüberwachung der ECD für die Bestimmung der drei Indikatorkongenere Parlar #26 (B8-1413), #50 (B9-1679) und #62 (B9-1025) für Fisch und Fischprodukte zusammen mit anderen Chlorkohlenwasserstoffe (CKWs) routinemäßig zum Einsatz und es werden Nachweisgrenzen erreicht, die im Femtogrammbereich liegen [216], doch ist die Massenspektrometrie für die Toxaphenanalytik in biologischen Proben die Methode der Wahl [103].

Die GC/MS-Kopplung in der Toxaphenanalytik bietet zusätzlich Informationen zur Quantifizierung und Identifizierung (Chlorierungsgrad, Fragmentierungsverhalten, koeluisierende Verbindungen) von Toxaphenkongeneren. Von den erhaltenen Peaks können Massenspektren erstellt werden, die unter den gewählten Parametern (Ionisierungsart, Massenbereich) eine Zuordnung ermöglichen. Die EI und die ECNI kommen hier zum Einsatz. Bei einem routinemäßigen Einsatz der massenspektrometrischen Detektion in der Rückstandsanalytik besteht das Problem, dass das Nachweisvermögen im EI-Modus häufig nicht ausreicht. Deshalb ist es von Vorteil nur ausgewählte Massen (SIM) für die Bestimmung heranzuziehen. Diese Massen müssen für Toxaphen charakteristisch sein und sollten nicht von koeluisierenden Xenobiotika gebildet werden. Deshalb wurde vorgeschlagen, neben anderen, das Fragment  $m/z$  (Masse/Ladung) 159 zu messen, das unter EI-Bedingungen von allen Toxaphenen gebildet wird. Die Nachweisgrenze liegt bei dieser Methode mit  $500 \mu\text{g/kg}$  für Toxaphen in einer dotierten Fettprobe noch relativ hoch [15]. Im Gegensatz zur ECNI, die nur bedingt zur Strukturaufklärung herangezogen werden kann, liefert die EI fragmentreichere Spektren, anhand derer eine Teilaufklärung unbekannter Substanzen erfolgen kann [217].

Die Vorteile der chemischen Ionisation liegen dagegen eindeutig in der empfindlicheren und schonenderen Möglichkeit, Toxaphene massenspektrometrisch zu bestimmen. Stark elektronenaffine Verbindungen bilden unter diesen Bedingungen eine relativ hohe Anzahl an negativen Ionen, wodurch die Nachweisempfindlichkeit bei Registrierung der negativen Ionen (ECNI) anstelle der positiven Ionen erheblich gesteigert werden kann. Entstehende Cluster resultieren aus den Isotopenformen von Chlor ( $^{35}\text{Cl}$  und  $^{37}\text{Cl}$ ), die im Verhältnis 3:1 vorkommen. Die Anzahl der Chlorcluster errechnet sich als  $n + 1$  ( $n$  = Zahl der Chloratome).

Die Summenformel lässt sich errechnen, indem zur Masse des schwersten Clusters die Masse 35 addiert wird. Bei Bornen/Camphenen bzw. Bornadienen liegt das Molekulargewicht um  $m/z$  2 bzw. 4 niedriger als bei den entsprechenden Bornanen. Zur Bestimmung der Molmasse und damit bei bekannter Grundstruktur auch des Chlorierungsgrades ist die ECNI-MS die geeignetste Methode [103].



**Abb. 8:** Relative Responsefaktoren (RRF) von 18 Chlorbornanen bestimmt mit GC/ECD\* und drei GC/ECNI-MS\*-Systemen (relativ zu 12 = #32 (B7-515)) [61]

1 = #39 (B8-531)	7 = Nonachlorbornan	13 = B7-1059
2 = #50 (B9-1679)	8 = B7-1715	14 = Nonachlorbornan
3 = Nonachlorbornan	9 = B7-1450	15 = #62 (B9-1025)
4 = #26 (B8-1413)	10 = #38 (B8-789)	16 = B10-1981
5 = #58 (B9-715)	11 = B9-718	17 = B10-860
6 = B9-2009	12 = #32 (B7-515)	18 = #69 (B10-1110)

# = Parlar Nr.; \*GC: HP 5890, DB-5: 60 m x 0,32 mm x 0,25  $\mu$ m, MS: Finnigan MAT 95/1 (hochauflösend): SIM mit 1 Massengruppe, MAT 95/2: SIM mit 2 Massengruppen; Finnigan SSQ 700 Quadropol: SIM mit 1 Massengruppe;  $^{63}\text{Ni}$ -ECD: Reaktandgas  $\text{N}_2$ , Detektortemperatur 300 °C

Von Swackhamer et al. [218] wurde eine GC/ECNI-MS-SIM-Methode zur Quantifizierung entwickelt, die auf der Detektion spezieller Fragmentionen basiert (**vgl. Tab. 19**). Mit einigen Ausnahmen sind die Massenspektren der höher chlorierten Toxaphene durch intensive  $[M-Cl]^-$  Cluster gekennzeichnet. Zu diesen Ausnahmen gehören nicht nur die Hexachlorbornane, von denen viele unter NCI-Bedingungen ein intensives  $[M]^-$ -Ion als Hauptpeak liefern, sondern auch einige höher chlorierte Verbindungen, wie z. B. die Toxaphene Parlar #21 (B7-499), #38 (B8-789), #51 (B8-786) und #62 (B9-1025). Die Fragmentierung von Bornenen/Camphenen ist denen der Bornane sehr ähnlich, aber in der Regel wird das  $[M-3Cl]^-$  nicht beobachtet [31]. Zur Erkennung eventueller Störsubstanzen werden acht weitere Massenfragmente einbezogen (**vgl. Tab. 19**). Die Auswahl der Massen erfolgt insgesamt so, dass sowohl die gesättigten als auch die ungesättigten Toxaphene erfaßt werden können (Bornane, Bornene/Camphene und Bornadiene) [218].

**Tab. 19:** Ausgewählte Massen zum Nachweis von Toxaphenrückständen sowie ihre Anwendung in SIM-Fenstern [218]

Formel	Molekulargewicht	Ionencluster	Ion zur Quantifizierung	Ion zur Identifizierung	SIM-Fenster
$C_{10}H_{10}Cl_6$	340	$[M]^-$	342	340	1;2
$C_{10}H_{12}Cl_6$	342				
$C_{10}H_9Cl_7$	374	$[M-Cl]^-$	343	341	1;2;3
$C_{10}H_{11}Cl_7$	376				
$C_{10}H_8Cl_8$	408	$[M-Cl]^-$	377	375	2;3
$C_{10}H_{10}Cl_8$	410				
$C_{10}H_7Cl_9$	442	$[M-Cl]^-$	413	411	3;4
$C_{10}H_9Cl_9$	444				
$C_{10}H_6Cl_{10}$	476	$[M-Cl]^-$	449	447	4
$C_{10}H_8Cl_{10}$	478				
Fenster		Ionen			
1		336, 338, 340, 341, 342, 343			
2		336, 338, 340, 341, 342, 343, 371, 373, 375, 376, 377, 444			
3		341, 342, 343, 375, 376, 377, 411, 412, 413, 428, 430			
4		411, 412, 413, 447, 448, 449			

Da die Elutionsreihenfolge der Toxaphene auf gebräuchlichen Kapillarsäulen überwiegend durch den Chlorierungsgrad bestimmt wird, kann eine genaue Einteilung in Zeitfenster vorgenommen werden. Die Empfindlichkeit des Detektionssystem läßt sich entscheidend verbessern, wenn nur wenige Massen in einem Zeitfenster registriert werden [204]. Der Gerätetyp hat ebenfalls Einfluß auf die Response der Toxaphene (**vgl. Abb. 8**), so dass zusammen mit den vorher genannten Parametern die Toxaphenanalytik mittels GC/ECNI-MS optimiert werden kann. Beachtenswert bei der Toxaphenanalytik mit ECNI-MS ist noch, dass die Ionenquelle absolut sauerstofffrei gehalten werden muß, da es sonst zu einer Oxidation

von PCBs kommen könnte, dessen  $[M-Cl^+O]$ -Addukte die exakte Quantifizierung einiger Toxaphene stören könnten [204].

Die GC/ECNI-MS-Methode ist gegenüber dem EI-Modus um zwei Größenordnungen empfindlicher und erreicht Nachweisgrenzen, die wie beim GC/ECD im Femtogrammbereich liegen. Der lineare Bereich umfaßt mehrere Größenordnungen bei einer Nachweisgrenze von 75 pg absolut injiziertem Toxaphen, was ungefähr einem Gehalt von 10 µg/kg in einer realen Probe entspricht [203].

Die Quantifizierung von Toxaphenen fand bis Ende der 80er Jahre mehr oder weniger erfolgreich mit dem technischen Toxaphen statt. Seit Anfang der 90er Jahre kommen durch die Isolierung und Synthese von Einzelkomponenten auch Einzelstandards zum Einsatz. Dadurch ist die Identifizierung und besonders die Quantifizierung von Toxaphenen wesentlich verbessert worden. Insgesamt basiert die Quantifizierung von Toxaphen und seinen Komponenten auf einer der drei folgenden Methoden [219]:

- *Gesamtbestimmung*

Diese Methode kann angewendet werden, wenn alle Toxaphene durch einen Peak bzw. eine Masse repräsentiert werden (GC/ECD, EI-HR (High Resolution)-MS-SIM mit  $m/z$  159/161, TIC (Total Ion Current) in PCI (Positive Chemische Ionisation)-MS-SIM und ECNI-MS-SIM). Der Gesamtrückstand an Toxaphen wird dann meistens anhand eines einzelnen Responsefaktors bestimmt, der aus der Summe aller Peaks oder einer Gruppe von Peaks innerhalb eines Retentionsfensters abgeleitet wird. Diese Peaks werden nach den folgenden Kriterien ausgewählt:

1. Anwesenheit sowohl im technischen Toxaphen als auch in der Probe;
2. Ausschluß von Interferenzen;
3. Vollständige Trennung von anderen Peaks. Es können sowohl interne als auch externe Standards verwendet werden.

- *Homologenbestimmung*

Bei dieser Methode (z. B. ECNI-MS-SIM basierend auf  $[M]$  oder  $[M-Cl]^+$ ) wird die Gesamtfläche innerhalb eines Zeitfensters für jede homologe Gruppe anhand des Responsefaktors des korrespondierenden Homologs im technischen Toxaphen bestimmt. Anschließend werden die Konzentrationen aller homologen Gruppen addiert.

- *Kongenerbestimmung*

Bei dieser Methode, die als die verlässlichste gilt, werden einzelne Verbindungen des Gemisches anhand der relativen Responsefaktoren der reinen Kongenerstandards quantifiziert. Da die relativen Responsefaktoren stark differieren, werden  $^{13}C$ -markierte Standards für eine Isotopenverdünnung benötigt.

Zur Zeit lassen sich 40 Toxaphenkongenere, sofern sie eine Relevanz in biologischen Proben haben, eindeutig quantifizieren, da sie als Standard mit definierter Konzentration zur Verfügung stehen und überwiegend auch kommerziell erhältlich sind. Der Versuch einer Quantifizierung von unbekanntem Einzelkongeneren durch Vergleich kann zu einer Berechnung von zu hohen oder zu niedrigen Gehalten führen, da das Responseverhalten nicht unbedingt konzentrationsabhängig ist. Die Bestimmung des Gesamttoxaphengehaltes einer Probe ist somit auch weiterhin als problematisch anzusehen. So variierte der mit dem technischen Toxaphengemisch Hercules (X16189-49, 68,6% CI) bestimmte Gesamttoxaphengehalt von 10 anderen in den USA produzierten technischen Gemischen bekannter Konzentration zwischen 19 und 131 % und daher bleibt die Frage offen: Was bedeutet Gesamttoxaphengehalt, wenn die Zusammensetzung der in die Umwelt ausgebrachten technischen Gemische nicht bekannt ist? Es gibt keine genauen Informationen bzw. Aufzeichnungen über die Herstellungsverfahren der weltweit in einer Vielzahl produzierten Gemische, zumal moderne Kapillarsäulen und Detektionstechniken in der Zeit der Hauptanwendung und -produktion zur Prozeßkontrolle nicht verfügbar waren [220].

### **6. Rückstände von Toxaphen und seinen Komponenten in biologischen Proben**

Verbesserte analytische Methoden und die Verfügbarkeit von Einzelstandards haben die Toxaphenbestimmung in biologischen Proben während der letzten zehn Jahre eindeutiger werden lassen. Problematisch bleibt weiterhin die Vergleichbarkeit der erzielten Ergebnisse, da die gewonnenen Ergebnisse auf einer Vielzahl unterschiedlicher Parameter beruhen. Probengewinnung und -lagerung, Aufarbeitung, gaschromatographische Bedingungen, Detektions- und Quantifizierungsmethoden haben Einfluß auf die Ermittlung von Rückstandskonzentrationen. Es besteht aber kein Zweifel daran, dass Toxaphen einer weltweiten Verteilung durch die Atmosphäre unterliegt und ubiquitär vorhanden ist [221]. Die meisten Informationen über quantifizierte Toxaphenrückstände (Bezugsgröße: Frischgewicht oder Fett) in biologischen Proben und Lebensmitteln beziehen sich auf den Gesamttoxaphengehalt, seltener sind die Angaben über kongenerspezifische Gehalte. Fisch und Fischprodukte sind, gefolgt von den Meeressäugern, am besten und meisten untersucht. Danach kommen wenige Landsäuger und Vögel. Berücksichtigt sind neben dem Jahr und Ort der Probenentnahme sowie der Matrix auch überwiegend bei den Meeressäugern das Geschlecht, weniger das Alter. Fast keine Daten gibt es über Zeittrends oder geographische Variationen. Auch fehlen Informationen zur kongenerspezifischen Anreicherung innerhalb

einer Nahrungskette, d. h. besonders zu Untersuchungen verschiedener Trophiestufen des marinen Ökosystems. Obwohl umfangreiche Studien, z. B. in der kanadischen Arktis über die Kontamination von Biota mit Chlorkohlenwasserstoffen (CKWs) seit Anfang der 70er Jahre bis heute durchgeführt werden, sind verwertbare Zeittrends über die Toxaphenbelastung nicht vorhanden, da diese Stoffgruppe unzureichend berücksichtigt wurde [152].

Die bisher höchsten Gehalte an Toxaphen ( $83,6 \pm 75,4$  mg/kg Fett) wurden im Blubber eines männlichen Weißschnauzendelphins *Lagenorhynchus albirostris* an der Küste Neufundlands gefunden [186]. Auch in anderen untersuchten Meeressäugern werden Konzentrationen im ppm-Bereich erreicht (**vgl. Tab. 20**), wobei männliche Tiere im allgemeinen höhere Gehalte aufweisen. In Fischen und Fischprodukten können ebenfalls Werte im ppm-Bereich erreicht werden (**vgl. Tab. 20**). Vor allem in den Flüssen und Seen Kanadas wird Toxaphen immer wieder als Hauptkontaminant in Fischen nachgewiesen. In untersuchten amerikanischen Seesaiblingen *Salvelinus namaycush* (Süßwasserfisch, Michigansee) lagen Spitzenwerte für Toxaphen bei 8 mg/kg in der Bauchlappenmuskulatur [70] und erreichten damit teilweise Werte, die die Summe an PCBs und DDT um das 2- bis 5-fache übersteigen.

Die durchschnittlichen gefundenen Konzentrationen der in Deutschland im Handel erhältlichen und aus den Hauptfanggebieten (nördliche Nordsee, Ostsee, Ärmelkanal, Nordwestküste Norwegens, Reykanesrücken um Island, Ostküste Kanadas) stammenden Fische liegen für Heringe *Clupea harengus* (Marktanteil 26, 3 %) aus der Summe der drei Indikatorkongeneren Parlar #26 (B8-1413), #50 (B9-1679) und #62 (B9-1025) zwischen 3,2 und 33,2 µg/kg Frischgewicht. Für Fischarten, wie die Makrele *Scomber scombrus* (Marktanteil 3,9 %), schwarzer Heilbutt *Reinhardtius hippoglossoides* (1,2 %), Rotbarsch *Sebastes* spp. (5,8 %) und Sardinen *Sardina pilchardus* (1,3 %) lagen die Konzentrationen zwischen 2,3 u. 13,5 µg/kg FG (Makrele), 17,8 u. 75,7 µg/kg FG (Heilbutt), 5,1 u. 31,8 µg/kg FG (Rotbarsch) sowie 0,6 u. 3,58 µg/kg FG (Sardine). Die Variationen der Gehalte werden überwiegend durch den unterschiedlichen Fettgehalt der Fische sowie durch das Alter (Körperlänge) erklärt, die unterschiedlichen Fanggebiete scheinen keinen Einfluß auf die Toxaphenkonzentrationen zu haben [214].

Einzig Ergebnisse über die Veränderung der Toxaphenbelastung während längerer Zeiträume in offenen Ökosystemen sind den Arbeiten von Andersson et al. [222] und Wideqvist et al. [223] zu entnehmen. In beiden Studien sind sowohl zunehmende als auch abnehmende Toxaphenkonzentrationen in untersuchten Trottellummen (*Uria aalge*) von der Südostküste Schwedens zu erkennen, wobei die mit GC/ECD gemessenen Werte immer niedriger lagen als die mit GC/ECNI-MS. Bei den Muskelhomogenisaten der Trottellummen

aus den Jahren 1970-1978 sind ansteigende Werte von 6,6 auf 7,7 mg/kg Fett zu beobachten, bei den untersuchten Eiern abnehmende Gehalte von 13-68 (1974), 23-190 (1976), 9,5-30 (1978), 8,0-25 (1982), 5,2-7,7 (1987) und ansteigende Werte von 15-31 mg/kg Fett für 1989. Die Autoren erklären die widersprüchlichen Ergebnisse durch unzureichende Quantifizierungsmöglichkeiten (technisches Gemisch), Probenaufarbeitung (Abnahme der PCB-Belastung könnte eine Toxaphenabnahme in den ECD-Messungen vortäuschen) und sehen das Ei als homogenere und idealere Probenmatrix langfristig angelegter Untersuchungen an [223]. Weitere Konzentrationsangaben zu anderen untersuchten Vögeln sind in den **Tab. 20** und **21** angegeben.

Tab. 20: **Toxaphenrückstände in ausgewählten biologischen Proben und Lebensmitteln**

Probe/Matrix	n	Herkunft	Konzentration* (mg/kg, ppm)	FG/F	Lit.
Dorschleberkonserve	3	Deutschland	3,7 (PCB 1; DDE 1,2)	FG	[199]
Thunfischkonserve	2	Frankreich	< 0,006 (PCB ca. 0,008, DDE 0,0004)	FG	[199]
Hering ( <i>Clupea harengus</i> )	P	Ostsee	13	F	[139]
	P	Ostsee	0,133-0,344*	F	[214]
	P	Nordsee	0,007-0,313*	F	
Makrele ( <i>Scomber scombrus</i> )	P	Nordsee	0,15-52,9*	F	[214]
	P	westl. Shetland	47,8-63,1*	F	
Beluga ( <i>Delphinapterus Leucas</i> ) Blubber Kegelrobbe ( <i>Halichoerus grypus</i> ) Blubber	10 m	Beaufortsee	3,83 ± 1,16	FG	[224]
	2 w		1,38	FG	
	8 m	Jones Sound	4,25 ± 1,02	FG	
	7 w		3,74 ± 2,12	FG	
	1	Rügen/Ostsee	0,733 <sup>1)</sup>	FG	
	1		Nordsee	1,457 <sup>1)</sup>	
6	Westisland	48 (32-77 <sup>1)</sup> )	FG		
Muttermilchfett	1	Nicaragua	68(PCB 0,05, DDE 11)	F	[199]
Muttermilchfett	12	Kanada, Keewatin	0,677	F	[225]
Wanderfalke (Eier) ( <i>Falco peregrinus</i> ) Seeadler ( <i>Haliaeetus albicilla</i> )	7	Schweden	0,33-4,66 (Σ DDT 20-670, PCB 34-987)	F	[222]
	6		Schweden	7,3-8,5 (Eier) (Σ DDT 154-835, PCB 340-775)	F
	2	Südfinnland	< 0,01 (Muskulatur)	F	[227]
Grünhalsreiher ( <i>Butorides striatus</i> ) Gehirn Muskulatur Leber Fett	4	USA, Louisiana	0,54	FG	[228]
			1,02	FG	
			21,70	FG	
			65,40	FG	

(\*Gesamttoxaphengehalt, Quantifizierung mit technischem Gemisch)

P = Pool; n = Anzahl der Proben; FG = Frischgewicht, F = Fett; \*Parlar #26/50/62 (B8-1413, B9- 1679/1025); <sup>1)</sup>Σ8 Toxaphene (vgl. Tab. 21); m = männlich; w = weiblich

**Tab. 21:** Konzentrationen von bisher detektierten Toxaphenen in Vögeln im Vergleich zu anderen ausgewählten biologischen Proben

Probe	Herkunft Matrix	B7- 1453	B8- 1412	Parlar #26 (B8- 1413)	Parlar #40 (B8- 1414)	Parlar #41 (B8- 1945)	Parlar #44 (B8- 2229)	Parlar #50 (B9- 1679)	Parlar #62 (B9- 1025)	Lit.
Wasseramsel ( <i>Cinclus cinclus</i> )	Südnorwegen Ei, n= 8,FG	-*	-*	0,2 - 2,4	-*	-*	-*	0,2 – 0,9	-*	[229]
Adéliepinguin ( <i>Pygoscelis adeliae</i> )	Antarktis Leber, n= 2,FG Gehirn, FG Fett	0,03- 0,1 n. d. 1,2	0,3- 1,3 1,2 23	0,4- 1,9 1,9 34	0,1 n. d. 1,2	0,1 n. d. 0,7	0,7 0,4 2,8	0,1- 1,1 0,8 23	0,1- 0,3 n. d. 12	[226]
Aal ( <i>Anguilla anguilla</i> )	Elbe M. FG	<sup>1</sup> )km 692 <sup>2</sup> )567 <sup>3</sup> )562	-* -* -*	0,7- 5,0 1,4- 5,5 1,0- 29,0	-* -* -*	-* -* -*	-* -* -*	0,7- 2,5 1,3- 11,5 3,0- 110,0	0,7- 2,5 1,4- 3,5 1,0- 18,0	[230]
Fischöl	Island	-*	-*	54,8 ± 5,2	<sup>4</sup> )53,4 ± 3,3		227,6±11,8	102,3 ± 8,2	97,5 ± 1, 6	[103]
Hering ( <i>Clupea harengus</i> )	Nordsee Pool, FG	-*	-*	1, 1- 4, 1	-*	-*	-*	1,5- 10,2	0, 7- 7, 8	[214]
Dorsch ( <i>Gadus morhua</i> )	Island Leber, n= 3,FG Ostsee Leber,n=5,12FG Lebertran	2 12 25	7 14 60	15 59 248	8 9 24	4 12 37	11 31 126	28 68 393	12 17 281	[226]
Wedellrobbe Leptonychotes <i>weddelli</i>	Wedellsee Blubber n= 3	6 (4 – 8)	12 (5 – 20)	182 (76 – 247)	3 (1 – 4)	5 (3 – 6)	24 (12 – 31)	130 (52 – 173)	17 (8 – 25)	[226]
Sattelrobbe ( <i>Phoca groenlandica</i> )	Nordsee Blubber	61	74	381	27	27	162	697	28	[226]
Eisbär ( <i>Ursus maritimus</i> )	Island n= 1,Körperfett	-*	-*	53	-*	-*	-*	76	-*	[231]
Humanmilch	Faröer Inseln = 4,F	-*	-*	25-640	-*	-*	-*	41-750	-*	[205]
Hum. Fettgew. (Kinder), s. c.	R. W., n= 10,F Strals., n= 10,F	-* -*	-* -*	0,99(Max.190) 2,53(Max.6,02)	-* -*	-* -*	-* -*	1,25(Max.2,90) 2,86(Max.6,12)	-* -*	[232]

Nummerierung nach AV- Code [and95] und Parlar # [par95]; (FG= Frischgewicht, F= Fett; Angaben in ng/ g (ppb) ); n. d.= nicht detektierbar; \* keine Angaben; n= Anzahl der Proben; *P.g.* = *Phoca groenlandica* ; *Cl. h.* = *Clupea harengus* ; M.= Muskulatur; s. c.= subkutan; R. W.= Rheda- Wiedenbrück, Strals.= Stralsund; Max.= Maximum, sonst Mittelwerte; Hum. Fettgew.= Humanes Fettgewebe <sup>1</sup>);Brunsbüttel (n= 7)<sup>2</sup>),Hohnsdorf (n= 21)<sup>3</sup>),Boizenburg/ Barförde (n= 34)<sup>4</sup>) Σ Parlar #40+ 41

## III. Experimenteller Teil

### 1. Material und Methoden

#### 1.1 Standards und Ausgangsverbindungen

##### Toxaphenstandard:

22 Komponenten-Standard: enthält die Komponenten Parlar # 11, # 12, # 15, # 21, # 25, # 26, # 31, # 32, # 38, # 39, # 40, # 41, # 42, # 44, # 50, # 51, # 56, # 58, # 59, # 62, # 63, # 69 ; 0,4 mg/l je Komponente in Cyclohexan (Dr. Ehrenstorfer).

##### Technisches Toxaphen:

Reinheit 99 %, Chlorgehalt 61,6 % (Dr. Ehrenstorfer).

#### 1.2 Chemikalien

Aceton:	Destilliert über silberspiegelte, mit Raschigringen gefüllte Vakuumkolonne.
n-Hexan:	siehe Aceton.
Cyclohexan:	siehe Aceton .
Essigsäureethylester:	siehe Aceton
Dichlormethan:	mind. 99,9 %, für die Gas-Chromatographie (Merck)
Toluol:	LiChrosolv, für die Chromatographie (Merck)
Isooctan:	für die Rückstandsanalytik (Fluka)
Schwefelsäure:	95– 98%, reinst (Roth)
Bidestilliertes Wasser:	eigene Destillation
Kieselgel 60:	Korngröße 70–230 mesh für die Säulenchromatographie (Merck)
Natriumsulfat:	wasserfrei, p.A. (Merck)
Seesand:	mit Säure gereinigt und gegläht, z.A. (Merk)
Bio-Beads SX3:	200-400 mesch (Bio-Rad)

### 1.3 Geräte und Arbeitsbedingungen

#### Gaschromatographie: Chrompack CP 9002 GC

Detektor:	ECD, 280 °C
MAKe-up-Gas:	N <sub>2</sub>
Injektor:	Split/Splitlos, 230 °C (1 min splitlos)
Injektionsvolumen:	1 µl
Trärgas:	H <sub>2</sub>
Flussrate:	1,5 ml/min
Splitverhältnis:	1 : 10
Säule:	DB5, 30 m x 0,25 mm i.D., 0,25 µm Filmdicke (J&W Scientific)
Temperaturprogramm:	100 °C (1 min) → 250 °C (3 °C/min) (5min)

#### Massenspektrometrie: EI-Modus

##### A. MS Finnigan 4500

Ionisierungskammer:	140 °C
Ionisierungsenergie:	70 eV
Emission:	0,25 mA
Multiplayerspannung:	950 V
Auflösung:	1000
Software:	MASPEC Data System für MS-Windows (MSS, Manchester), Version 2.11, NIST-Library.

#### Gaschromatograph Finnigan 9600

Injektor:	Split/Splitlos, 230 °C (1,5 min splitlos)
Injektionsvolumen:	1 µl
Trärgas:	He
Säule:	DB5, 30 m x 0,25 mm i.D., 025 µm Filmdicke (J&W Scientific)
Flussrate:	1,26 ml/min
Splitverhältnis:	1 : 11
Temperaturprogramm:	50 °C (1 min) → 150 °C (70 °C/min) (5 min) → 260 °C (2 °C/ min)

**B. MS Finnigan 8200**

Ionisierungskammer: 230 °C  
Ionisierungsenergie: 70 eV  
Emission: 1 mA  
Multiplayerspannung: 3 KV  
Auflösung: 1,8 KV  
Software: MASPEC Data System für MS-Windows (MSS, Manchester),  
Version 2.11, NIST-Library.

**Gaschromatograph HP 5890 Series II**

Injektor: Split/Splitlos, 230°C (1,5 min splitlos)  
Injektionsvolumen: 1 µl  
Trärgas: He  
Säule: DB5, 30 m x 0,25 mm i.D., 025 µm Filmdicke (J&W Scientific)  
Flussrate: 1,15 ml/min  
Splitverhältnis: 1 : 10  
Temperaturprogramm: 50°C (1 min) → 150°C (70 °C/min) (5 min) → 260°C (2 °C/min)

**Massenspektrometrie NCI- Modus:**

**MS Finnigan 8200**

Reaktandgas: CH<sub>4</sub>  
Ionenquellendruck: 2,5 x 10<sup>4</sup>  
Ionenquellentemp.: 190 – 200 °C  
Ionisierungsenergie: 150 eV  
Emission: 0,1 mA  
Multiplayerspannung: 1,8 KV  
Beschleunigungssp.: 3 KV  
Auflösung: 1000  
Scan: 65 – 500 (1,2 s/Scan)  
Software: MASPEC Data System für MS-Windows (MSS, Manchester),  
Version 2.11, NIST-Library.

#### Gaschromatograph HP 5890 Series II

Injektor:	Split/Splitlos, 230 °C (1,5 min splitlos)
Injektionsvolumen:	1 µl
Trägergas:	He
Transferline:	230 °C
Säule:	DB5, 30 m x 0,25 mm i.D., 025 µm Filmdicke (J&W Scientific)
Flussrate:	1,15 ml/min
Splitverhältnis:	1 : 10
Temperaturprogramm:	50°C (1 min) → 150 °C (70 °C/min) (5 min) → 260 °C (2 °C/min)

#### Gelpermeationschromatographie (GPC):

Pumpe	Biotronik HPLC-Pump BT 3020
Probenventil	Biotronik Column Unit BT 3021
Probenschleife	5 ml (1 g Öl)
Säule	50 cm x 3,5 cm, Glas
Säulenfüllung	Bio-Beads S-X3; Bio-Rad Laboratories, 2000 Alfred Nobel Dr., Hercules, CA 94547 Maschenweite: 200 – 400 mesh
Füllhöhe	41 cm
Elutionsmittel	Cyclohexan / Essigsäureethylester (1 : 1) mit Heliumbegasung
Flussrate	5 ml/min
Druck	Maximal 0,5 MPa
Fraktionssammler	Gilson Modell 203; Abimed USA
Elutionsvolumen von Toxaphen	125-240 ml

#### Mini-Kieselgel-Säulenchromatographie:

Säule:	20 cm x 1 cm, Glas
Füllmaterial:	Glaswolle, Seesand, 1 g Kieselgel 60 (5 h bei 130 °C, anschließend mit 1,5 % Wasser desaktiviert), 1 cm wasserfreies Natriumsulfat, Glaswolle, in n-Hexan
Elutionsmittel:	1) 8 ml n-Hexan/Toluol (65 : 35) 2) 8 ml n-Hexan

#### 1.4. Versuchstiere und Applikation

Die Versuche wurden mit insgesamt 72 Legehennen (*Lohmann*) durchgeführt. Die Tiere waren zu Beginn der Versuche 22 Wochen alt und wurden in mehrere Gruppen eingeteilt (Tab. 22). Die Fütterung erfolgte über einen Zeitraum von 38 Wochen. Die Dosierungen von technischem Toxaphen betragen 0 (Kontrollgruppe); 0,5; 1 und 5 mg/kg lufttrockenes Futter. Als Futter diente Legehennen-Alleinfutter aus Mariensee, das nicht in Silos gelagert worden war. Dem Futter wurde 1 Gew.-% Sojaöl zugemischt. Mit dem Sojaöl wurde das Camphechlor in unterschiedlichen Anteilen ins Futter eingebracht. Das Futter wurde ca. alle 4 Wochen neu gemischt. Berechnungsgrundlage war ein Futterbedarf von 0,13 kg pro Tier und Tag, dem 5% zugeschlagen wurden. Im Rahmen von Vorversuchen wurde abgesichert, dass das zur Herstellung der Vormischungen eingesetzte Sojaöl nicht mit Toxaphen verunreinigt war und dass PCB-Verbindungen nicht in relevantem Ausmaß über den Futtermischer in die Futtermischungen gelangten. Zum Herstellen der kontaminierten Futtermischungen wurden jeweils 1 kg Sojaöl mit 25 ml einer Camphechlor/Isooctan-Lösung (B-D) versetzt (Vormischung). Dann wurden jeweils 99 kg des Hühnerfutters mit 1 kg der entsprechenden Vormischung versetzt und gründlich homogenisiert.

Vormischung B: 50 mg techn. Toxaphen in 25ml Isooctan + 1 kg Sojaöl

Vormischung C: 100 mg techn. Toxaphen in 25ml Isooctan + 1 kg Sojaöl

Vormischung D: 500 mg techn. Toxaphen in 25ml Isooctan + 1 kg Sojaöl

##### A. Fütterungsphase

Gruppe A:	Futter (unkontaminiert)	9 Tiere
Gruppe B:	Futter (kontaminiert mit 0,5 ppm Camphechlor )	9 Tiere
Gruppe C:	Futter (kontaminiert mit 1 ppm Camphechlor )	9 Tiere
Gruppe D1:	Futter (kontaminiert mit 5 ppm Camphechlor )	9 Tiere

##### B. Abklingphase

Gruppe E:	Futter (unkontaminiert)	18 Tiere
Gruppe D2:	Fütterung mit 5 ppm Camphechlor für 38 Wochen und danach mit unkontaminierten Futter	18Tiere

Während der 38-wöchigen Applikationsphase wurden in definierten Abständen (18, 28 und 38 Wochen) je drei Tiere zur Analyse von Leber, Niere, Muskelfleisch, Haut, Fett und Blut geschlachtet bzw. Proben von Eiern (Dotter) entnommen. Danach wurden die restlichen Tiere der Gruppe mit der höchsten Dosierung noch weitere 16 Wochen lang mit unkontaminiertem Futter gefüttert und jeweils nach 1, 2, 3, 5, 8 und 16 Wochen wie vorher Proben entnommen. Die genauen Angaben dazu sind der Tab. 22 zu entnehmen. In dieser Periode gelegte Eier wurden wöchentlich gesammelt und zu Poolproben zusammengefasst. Die Proben wurden nach der Probenahme homogenisiert und tiefgefroren (-50 °C).

**Tab. 22:** Schlachtungszeitpunkte der Versuchstiere

Gruppeneinteilung	Gesamt Tiere	Fütterungsphase kontaminiertes Futter			Abklingphase nach 38 Wochen, unkontaminiertes Futter					
		Schlachttermine (Wochen)								
		18	28	38	39(1)	40(2)	41(3)	43(5)	46(8)	54(16)
A & E (Kontrolle)	27	3	3	3	3	3	3	3	3	3
B (0.5 ppm)	9	3	3	3						
C (1 ppm)	9	3	3	3						
D1 & D2 (5 ppm)	27	3	3	3	3	3	3	3	3	3

Die bisher erhaltenen und analysierten Probenmatrices waren:

- 1- Muskelfleisch: homogenisierte Muskelfleischprobe (Schenkel und Brust 1:1) von jeweils 3 Einzeltieren einer Versuchsgruppe
- 2- Fett: homogenisierte Fettgewebe (Bauch- und Eingeweidefett) von jeweils 3 Einzeltieren einer Versuchsgruppe
- 3- Leber: homogenisierte Leberprobe von jeweils 3 Einzeltieren einer Versuchsgruppe
- 4- Niere: homogenisierte Nierenprobe von jeweils 3 Einzeltieren einer Versuchsgruppe
- 5- Haut: homogenisierte Hautprobe von jeweils 3 Einzeltieren einer Versuchsgruppe
- 6- Eidotter: homogenisierte Eidotterprobe, jede Woche von jeweils 3 Einzeltieren einer Versuchsgruppe

## **2 Rückstandsanalytische Methoden**

### **2.1 Extraktion der Proben mit Soxhlet-Apparatur**

Annähernd 2,5 g Fleisch, 2,5 g Fett, 2 g Leber, 4 g Haut, 2 g Niere, 6g Blut und 4 g Eidotter wurden genommen, im Verhältnis 1:4 mit wasserfreiem Natriumsulfat gemischt, fein gemörsert und anschließend homogenisiert. Danach wurde die Proben durch vierstündige Soxhlet-Extraktion mit Cyclohexan und Dichlormethan (2:1) extrahiert. Zur Reinigung wurde die Soxhlet-Apparatur zuvor mit der leeren Extraktionshülse jeweils zwei Stunden mit Lösungsmittelgemisch ausgelaut. Zur Fettgehaltsbestimmung wurde der Proben-Extrakt am Rotationsverdampfer unter Vakuum im Wasserbad (40 °C) eingengt und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

### **2.2 Aufarbeitung der Proben**

#### **2.2.1. Schwefelsäure-Cleanup**

Die Matrixabtrennung bei den Proben erfolgte mittels Schwefelsäure-Cleanup nach der von Li Xu, 1994 vorgeschlagenen Methode [200]. Dazu wurde der Probenextrakt in 30 ml n-Hexan/1g Fett aufgenommen, mit 15 ml konzentrierter Schwefelsäure versetzt und ohne Schütteln bis zur vollständigen Phasentrennung stehen gelassen. Anschließend wurde die Säurephase abgetrennt. Dieser Vorgang wurde fünfmal wiederholt. Nach weiterem fünfmaligen Ausschütteln mit jeweils 15 ml konzentrierter Schwefelsäure, bis die untere Phase keine Verfärbung mehr zeigte, und jeweiliger Abtrennung der Säurephase nach erfolgter Phasentrennung wurde die Probe fünfmal mit je 15 ml destilliertem Wasser ausgeschüttelt, bis der pH-Wert neutral war. Schließlich wurde die Probe über 10 g wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet.

#### Säulenchromatographische Fraktionierung

Während der Probenaufarbeitung und Fettabtrennung wird das Toxaphen von der Matrix befreit und in n-Hexan aufgenommen. Aber wegen der Interferenzen anderer chlorierter Verbindungen ist eine weitere Abtrennung der Toxaphenrückstände erforderlich. Dieser Schritt erfolgte durch eine Säulenchromatographie an Kieselgel 60 (70-230 mesh), die im Prinzip von Müller [199] 1988 ausgearbeitet und beschrieben wurde.

Nach dem Abfiltrieren des Natriumsulfats wurde die Probe am Rotationsverdampfer unter Vakuum im Wasserbad bei 40 °C auf etwa 1 ml eingengt. Die Säule (30 cm lang x 1 cm Innendurchmesser) wurde mit 4,3 g Kieselgel (48 Stunden auf 140 °C erhitzt und mit 5 % Wasser deaktiviert) nass gefüllt und mit 20-30 ml n-Hexan voreluuiert. Nach der Aufgabe des eingengten Probenextraktes wurde das Gefäß zweimal mit je ca. 0,5 ml n-Hexan ausgespült und dieses ebenfalls auf die Säule aufgegeben. Das Elutionsmittel (n-Hexan) wurde nach 13 ml (inklusive 1 ml Probenextrakt) durch ein Gemisch aus n-Hexan /Dichlormethan (2 : 1) ersetzt (9 ml). Zusammen mit den 3 ml n-Hexan, die das Absorbens enthielt, ergab dies ein Elutionsvolumen von insgesamt 25 ml. Die Elutionsgeschwindigkeit betrug hierbei 7 ml/min, was einem N<sub>2</sub>-Überdruck von ca. 0,3 bar entspricht. Die Toxaphenkomponenten lagen dann in der Fraktion 18 - 25 ml vor.

Für jede Analyse wurden die Säulen neu gefüllt, um mögliche Kontaminationen der untersuchten Proben auszuschließen. Auch das Elutionsmittelgemisch aus n-Hexan/Dichlormethan wurde vor jeder Analyse neu hergestellt, um eventuell Änderungen in der Zusammensetzung durch Verdampfen zu vermeiden.

#### **2.2.2 Cleanup durch Gelpermeationschromatographie**

Zur quantitativen Bestimmung des Metabolismus des technischen Toxaphens mit GC-MS wird die Matrixabtrennung der Gesamtproben von Leber, Niere, Fleisch, Haut und Eidotter mittels Gelpermeation (GPC) nach der Methode von Specht und Tillkes [202] durchgeführt.

##### Bestimmung der Elutionsvolumina der Fett- und Toxaphenfraktion

Zur Bestimmung des Elutionsvolumens von Toxaphen wurde eine Standardlösung in Cyclohexan/Essigsäureethylester (1:1) hergestellt, die 29 µg/ml technisches Toxaphen enthielt. Davon wurden 5 ml auf die GPC-Säule aufgegeben. Toxaphen besitzt bei 280 nm nur eine sehr geringe Absorption und wird somit nicht vom UV-Detektor erfasst. Deswegen wurde das Eluat in mehreren Fraktionen gesammelt und die jeweiligen Konzentrationen gaschromatographisch bestimmt. Hieraus ergibt sich ein Elutionsbereich von 120-240 ml für Toxaphen.

##### Mini-Kieselgel-Säulenchromatographie

Das auf ca. 1 ml eingengte, in Isooctan aufgenommene GPC-Eluat wurde auf die mit 1 g Kieselgel 60 (5 Stunden bei 130 °C getrocknet und mit 1,5 % Wasser deaktiviert) gefüllte Säule, die erst mit ca. 10 ml n-Hexan voreluuiert wurde, aufgegeben. Der Kolben wurde noch

zweimal mit je 0,5 ml Isooctan gespült und das Lösungsmittel wiederum auf die Säule aufgegeben. Die Abtrennung der polychlorierten Biphenyle (PCBs) von den meisten Organchlorpestiziden erfolgte durch die vorausgehende Elution mit 8 ml n-Hexan (Eluat 0). Danach wurde mit 8 ml n-Hexan/Toluol (65:35) eluiert (Eluat 1) und anschließend mit 8 ml Toluol (Eluat 2). Da die Quantifizierung mittels GC-MS erfolgte, wurden die Eluate 1 und 2 vereinigt, am Rotationsverdampfer unter Wasserstrahlpumpenvakuum im Wasserbad (30 °C) eingengt und mit Toluol auf 10 ml aufgefüllt. Die noch verbleibenden Pestizide, wie z.B. Cyclodieninsektizide, störten die GC-MS-Messungen nicht.

#### **2.3 Bestimmung der Wiederfindungsraten von Toxaphen in den Legehühner-Proben**

Die Wiederfindungsrate ist eine Größe, die etwas über den Verlauf einer Analyse mit zugesetzten Wirkstoffmengen aussagt. Die Beurteilung, ob eine Methode für die Analyse der untersuchten Spurenstoffe angewendet werden kann oder nicht, sollte am sinnvollsten durch die Bestimmung der jeweiligen Wiederfindungsraten erfolgen. Um den Einfluss der Matrix bei der Analyse zu berücksichtigen, können die Wiederfindungsraten direkt aus den Realproben bestimmt werden. Zweckmäßigerweise versucht man bei den Experimenten, einen höheren Konzentrationsbereich abzudecken, wie er erwartungsgemäß in den zu untersuchenden Proben vorkommt.

Um die Wiederfindungsrate des Schwefelsäure-Cleanups zu bestimmen, wurde eine unbelastete, mit NaSO<sub>4</sub> vermischte Probe sowohl mit technischem Toxaphen in den Konzentrationen (0,5 µg/ml, 1 µg/ml, 5 µg/ml), als auch mit dem 22-Komponenten-Standard (0,1 µg/ml je Komponente) dotiert. Anschließend wurden die Proben 5 min in Ultraschallbad homogenisiert. Die Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben.

#### **2.4 Quantifizierung der Toxaphenrückstände mit GC-ECD-Analyse**

Die Quantifizierung mittels GC-ECD erfolgte durch den Vergleich der Peakflächen der Proben mit einem externen Standard (22-Komponenten-Standard). Für jede der 22 Einzelkomponenten wurde eine eigene Eichgerade (6, 12, 24, 48 und 96 ng/ml je Komponente) aufgestellt und zur Quantifizierung herangezogen. Der Responsefaktor der Toxapheneinzelkomponenten wurde ermittelt, jedoch bei der Quantifizierung nicht berücksichtigt. Jede Probe wurde dreimal eingespritzt und aus den Ergebnissen der Mittelwert und die Standardabweichung bestimmt.

## IV. Ergebnisse und Diskussion

### 1. Ergebnisse der HRGC-Analyse

#### 1.1 Recovery-Werte der Toxaphene

Die Auswertung der Recovery-Experimente mit Proben ergab eine gute Wiederfindungsrate sowohl für den Toxaphen-Standard als auch für technisches Toxaphen. **Tab. 23** zeigt die Wiederfindungsraten, die zwischen 88,9 und 96,92 % lagen. Die Ergebnisse zeigen eine tendenzielle Abnahme der Wiederfindungsrate mit steigender Toxaphenkonzentration. Dies könnte u.a. auf eine weniger effektive Extraktionsausbeute bei Vorliegen höherer Ausgangskonzentrationen zurückgeführt werden. Trotzdem erfordert die Schwefelsäure-Behandlung viel weniger Zeit und liefert eine bessere Matrixabtrennung. Ein weiteres wichtiges Argument für den Einsatz dieser Methode ist der geringere Lösungsmittelverbrauch und die damit verbundenen niedrigeren Kosten für deren Anschaffung und Beseitigung.

**Tab. 23:** Wiederfindungsraten für Technisches Toxaphen und den eingesetzten Toxaphen-Standard (22 Komponenten-Standard); HRGC-Analyse mit DB 5-Kapillare (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm, J&W Scientific)

Standard	Konzentration (µg/ml)	Wiederfindungsrate ± SD* [%]
Technisches Toxaphen	0,5	96,92 ± 2,52
	1,0	95,21 ± 0,87
	5,0	91,83 ± 2,98
22 Komponenten-Standard	0,1	88,85 ± 1,92

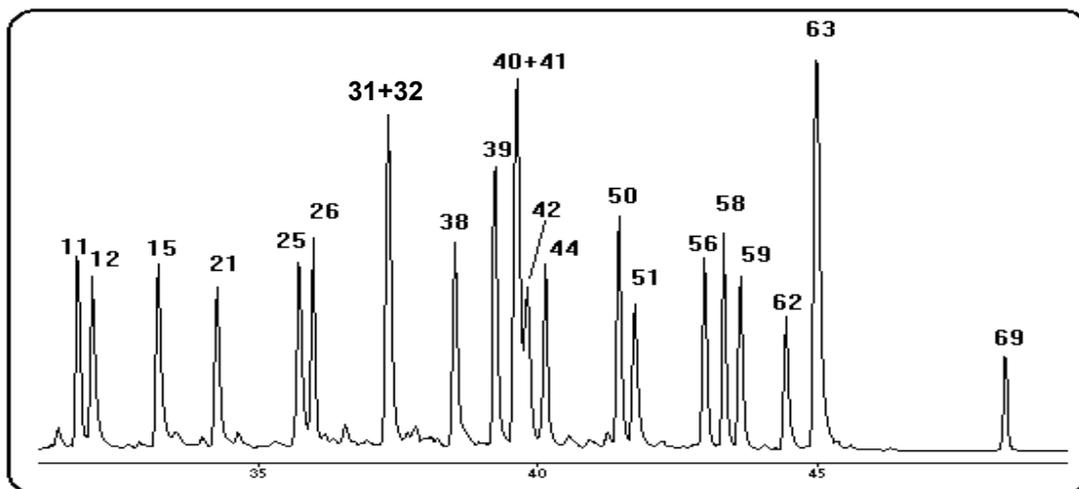
\* Standardabweichung

#### 1.2 Ermittlung der Responsefaktoren (RRF)

In **Tab. 24** sind die durch die Spektrenauswertung gewonnenen Ergebnisse zu den Fragmentierungen der verwendeten Toxaphenstandards aufgeführt. Die Quantifizierung der Toxaphenrückstände und die Ermittlung der Relativen Responsefaktoren (RRF) für die Toxaphenkongeneren des 22-Komponenten-Standards erfolgten mit den Arbeitsdaten der für HRGC-ECD- als auch HRGC-MS-Analyse eingesetzten Kapillarsäulen [235,236]. Eine Bestimmung der RRF war nötig, da die Werte je nach Gerät und Arbeitsbedingungen schwanken. Die Responsefaktoren wurden relativ zu Parlar #50 (B9-1679) errechnet, d. h. der RRF für #50 beträgt 1,0 (**vgl. Tab. 24, Abb. 9**).

**Tab. 24:** Fragmentierungen der verwendeten Toxaphenstandards sowie Relative Responsefaktoren (RRF) des 22-Komponenten-Standards (IS = Parlar #50 (B9-1679))

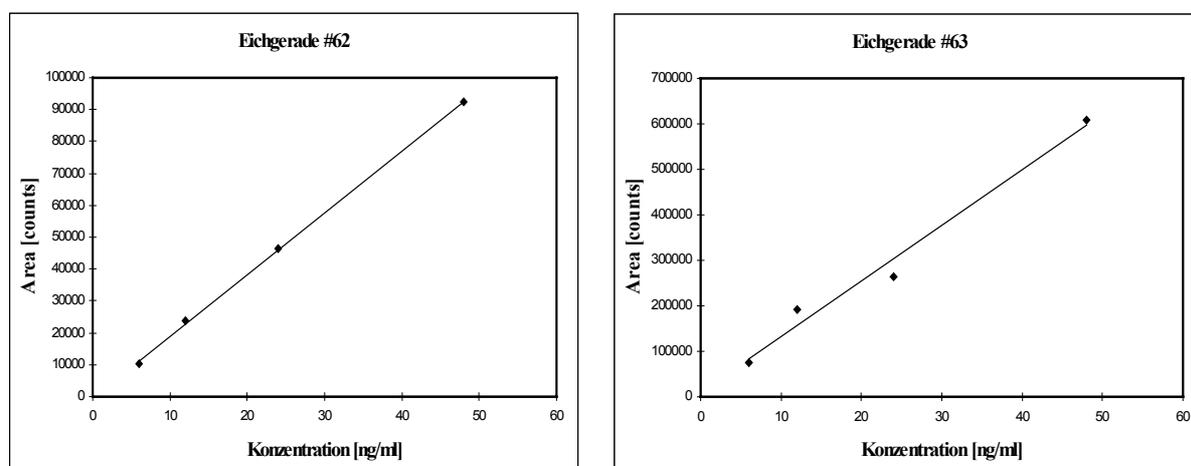
Parlar-Nummer (#)	HRGC-ECD	HRGC-MS (NCI-SIM)
11	0,79	0,90
12	0,97	1,00
15	0,98	1,31
21	0,82	0,95
25	0,95	1,15
26	1,01	1,10
31	1,92 (31+32)	1,29
32	-	0,81
38	1,22	0,90
39	1,40	1,49
40+41	1,55	3,09
42	1,35	0,75
44	1,23	0,94
<b>50</b>	<b>1,00</b>	<b>1,00</b>
51	1,10	1,58
56	0,92	0,69
58	0,96	0,78
59	0,92	0,53
62	0,72	0,47
63	2,49	3,49
69	0,45	0,30



**Abb. 9:** HRGC-ECD-Chromatogramm des 22-Komponenten-Standards zur Ermittlung der Responsefaktoren (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm DB 5, J&W Scientific)

### 1.3 Detektor-Eichgerade

Die Quantifizierung der Toxaphenrückstände mittels HRGC-ECD-Analyse erfolgte dagegen über den Vergleich der Peakflächen der Proben mit einem externen Standard (22 Komponenten-Standard). Der Konzentrationsbereich der Standardlösungen wurde so gewählt, dass er ungefähr dem der Proben entsprach. Für jede der 22 Komponenten wurde eine Eichgerade, bestehend aus vier bzw. fünf Meßpunkten (6 ng/ml, 12 ng/ml, 24 ng/ml, 48 ng/ml und 96 ng/ml), aufgestellt. Die Korrelationskoeffizienten der Eichgeraden lagen zwischen 0,9994 (Parlar #62) und 0,9808 (Parlar #63). In **Abb. 10** sind diese beiden Eichgeraden dargestellt.



**Abb.10:** Detektor-Eichgeraden zweier Toxaphenkomponenten

In **Tab. 25** sind die ermittelten Retentionszeiten der Toxaphenkomponenten auf der DB5-Kapillare aufgeführt. Desweiteren sind die relativen Retentionszeiten (RT) zu Parlar #26 (B8-1413) und #50 (B9-1679) sowie die relativen Retentionsindices (RRI) berechnet worden. Die Ermittlung dieser Werte relativ zu Parlar #26 und #50 ist insofern sinnvoll, da diese sehr persistenten Kongenere in allen bisher untersuchten Probenmatrices angereichert vorgefunden wurden, was auch für die eigenen Ergebnisse zutrifft. Dadurch wird eine Vergleichbarkeit der erzielten Untersuchungsergebnisse möglich, was insbesondere, wie bereits erwähnt, für die Beurteilung der Relevanz von unbekanntem Toxaphenkomponenten nicht unerheblich ist. Der relative Retentionsindex wird durch die Summe der beiden genannten Kongenere errechnet, wobei aufgrund der hohen Retentionszeiten von Parlar #26 und #50 die Werte mit 1,5 korrigiert werden, da sonst die RRI sehr klein werden [212].

$$RRI_X = \frac{RT_X}{(RT_{\text{Parlar \#26 (B8 - 1413)}}) + (RT_{\text{Parlar \#50 (B9 - 1679)}})} \times 1,5$$

**Tab. 25:** Retentionszeiten (RT) der verwendeten Toxaphenstandards auf der DB5-Kapillare sowie ihre berechneten RRT und RRI

Parlar-Nummer (#)	RT (min)	RRT Parlar #26	RRT Parlar #50	RRI $\Sigma$ Parlar #26 + #50
11	32,08	0,883	0,767	0,62
12	32,36	0,891	0,773	0,62
15	33,54	0,923	0,802	0,64
21	34,62	0,953	0,827	0,66
25	36,06	0,993	0,862	0,69
<b>26</b>	<b>36,33</b>	<b>1,000</b>	0,868	0,70
31+32	37,69	1,037	0,901	0,72
38	38,89	1,070	0,929	0,75
39	39,62	1,091	0,947	0,76
40+41	40,00	1,101	0,956	0,77
42	40,18	1,106	0,960	0,77
44	40,50	1,115	0,968	0,78
<b>50</b>	<b>41,84</b>	1,152	<b>1,000</b>	0,80
51	42,11	1,159	1,006	0,81
56	43,37	1,194	1,037	0,83
58	43,73	1,204	1,045	0,84
59	44,02	1,212	1,052	0,84
62	44,85	1,235	1,072	0,86
63	45,38	1,249	1,085	0,87
69	48,78	1,343	1,166	0,94

## 2. Komponentenspezifische Quantifizierung der Toxaphenrückstände

Die Ergebnisse zeigen ein für jedes Gewebe und Kongener spezifisches Anreicherungsmuster (**Abb. 11** und **12**). Beispielsweise ergab sich bei der Fütterungsdosis von 0,5 ppm für die Leber nach 18 Wochen eine abnehmende Rückstandsmenge in der Reihenfolge #44 > #62 > #39 > #50 > #26 > #51 > #21 > #40+41 > #42. Nach 38 Wochen war die Reihenfolge leicht verändert: #44 > #39 > #62 > #26 > #51 > #42 > #40+41 > #51 > #21. Dagegen war bei Eidotterproben bei gleicher Dosierung nach 28 Wochen #44 das am stärksten angereicherte Kongener, gefolgt von #50, #42, and #26; nach 36 Wochen war die Reihenfolge #44 > #50 > #26 > #62 > #42 > #69. Das Muster hing außerdem sehr stark von der Toxaphenkonzentration im Futter ab. Zum Beispiel waren die drei Hauptkomponenten in der Leber nach 38 Wochen bei 1 ppm Fütterungsdosis #44, #62 und #39, dagegen bei 5 ppm #44, #26, and #50. Der Spitzenwert des am stärksten angereicherten Kongeners lag bei 0,76-3,8  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  nach 38 Wochen je nach Dosis und Gewebeprobe. Das Hauptkongener war bei den beiden niedrigeren Dosierungen #44, während es bei 5 ppm, mit Ausnahme der Leber, entweder #26 oder #62 war.

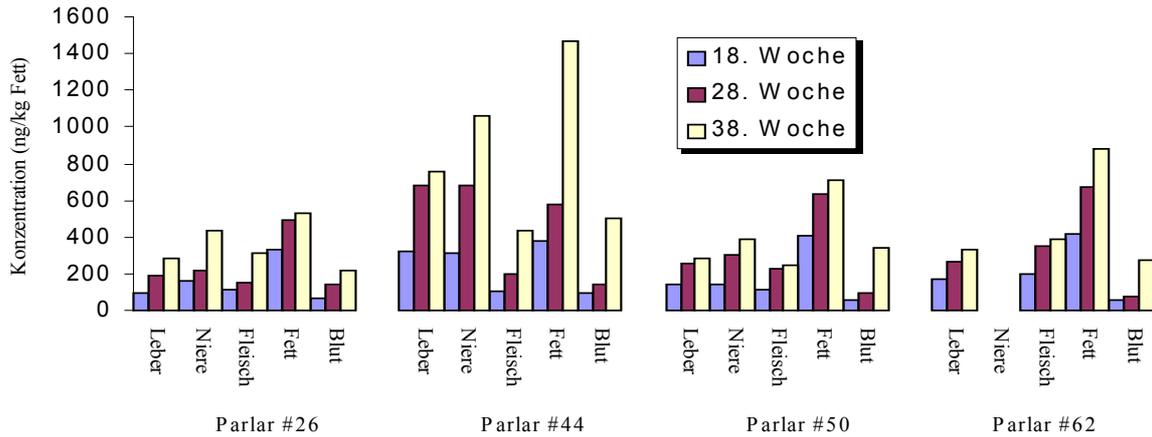
### 2.1 Proben der Fütterung mit 0,5 ppm Toxaphen

In den **Tab. 27-32** sind die Ergebnisse der GC-ECD-Analysen von Leber, Niere, Fleisch, Fett, Blut und Eidotter der gesamten Fütterungsphase zusammengestellt, wobei jeweils die Konzentrationen der einzelnen Toxaphenkomponenten und der Gesamtoxaphengehalt angegeben sind. Für Hautproben liegen bei dieser Konzentration keine Werte vor. In allen Proben wurden die Komponenten #26, #39, #40+41, #42, #44, #50 und #51 nachgewiesen (**Tab. 26**). Einige der Komponenten, z. B. Parlar #25 und #31+32, konnten nur in Fett und Eidotter nachgewiesen werden. Dagegen wurden in keiner der untersuchten Proben die Verbindungen #11, #12, #15, #38, #58 und #63 gefunden. Die Komponenten #21, #31+32, #59, #62 und #69 wurden außerdem in keiner Nierenprobe nachgewiesen (**Tab. 26**). Es wird deutlich, dass verschiedene Komponenten, z.B. #31+32, nur in Fett, Blut und Dotter und #59 nur in Fleisch und Fett nachgewiesen werden können. Die Gesamtkonzentration betrug nach 18 Wochen Fütterungsdauer 1138,94 ng/kg Fett und nach 28 Wochen 2011,88 ng/kg Fett, was einer Erhöhung um 76,64 % entspricht (**Abb. 26**).

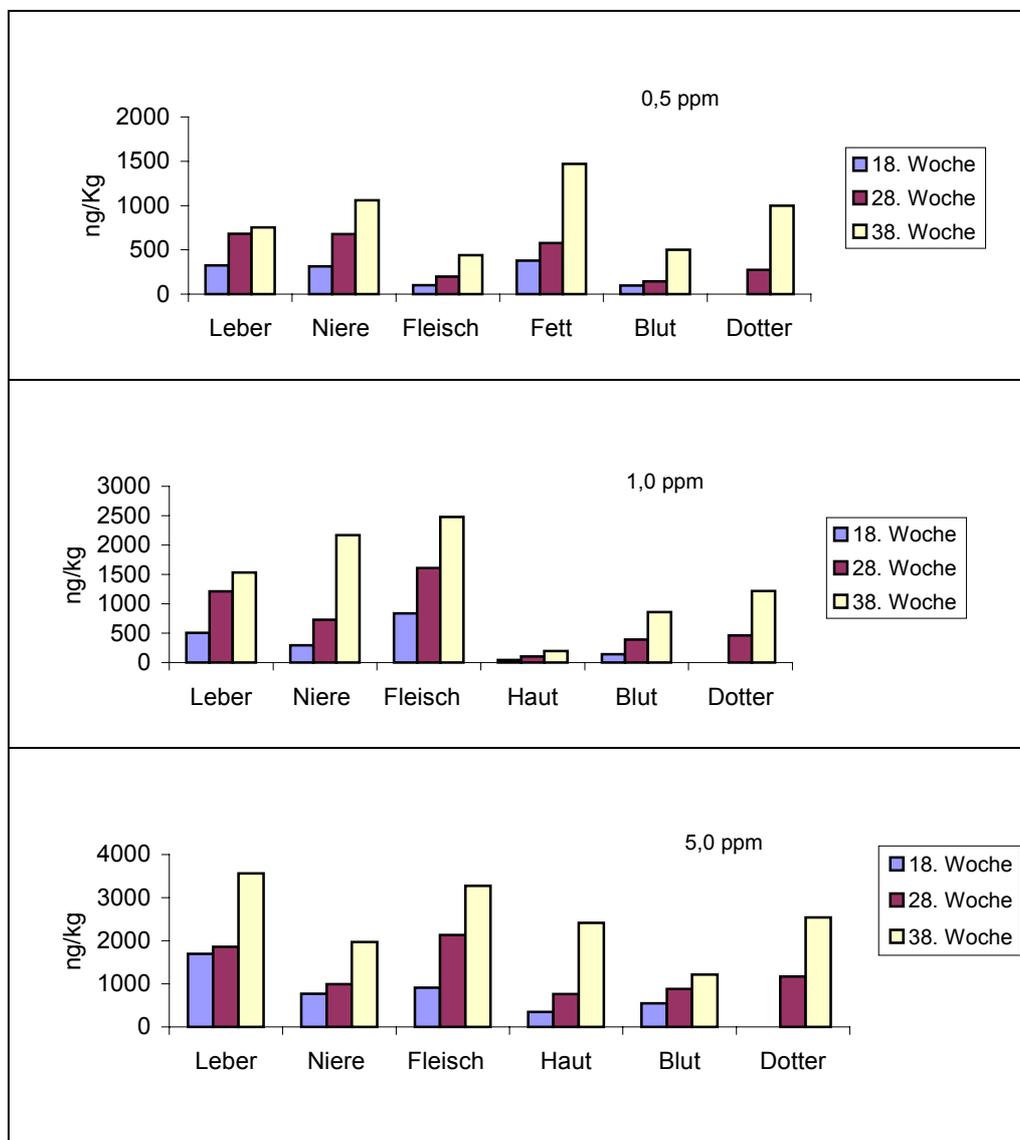
**Tab. 27** enthält die in den Leberproben während der Anreicherungsphase gefundenen Rückstände. Hohe Werte ergaben sich vor allem bei #44, #39, #62, #26 und #50 (**Abb. 11-14**). Die Konzentrationen stiegen zwar generell mit der Versuchsdauer an, aber bei den verschiedenen Komponenten unterschiedlich stark. **Abb. 11** zeigt dies für vier ausgewählte Komponenten. Die Gesamtkonzentration stieg zwischen der 18. und 28. Woche um 76,64 % und in der Folgezeit noch einmal um 29,3 % (**Abb. 13**). Der Anstieg des Toxaphengehaltes in der Leber war annähernd, wenn auch nicht völlig, linear ( $R^2 = 0,9823$ ), wobei die Abweichung möglicherweise weniger aufgrund eines Sättigungseffektes, sondern wahrscheinlich durch die unterschiedlichen Abbau-, Verteilungs- bzw. Ausscheidungsraten der einzelnen Komponenten erfolgt. Dabei scheint der Metabolismus in der Leber wohl den größten Einfluß zu haben. Auch die Unterschiede im Anreicherungsmuster der Einzelkomponenten sind wahrscheinlich hauptsächlich auf die unterschiedlichen Abbauraten zurückzuführen.

Die Nierenproben (**Tab. 28**) zeigen die höchsten Werte bei den Komponenten #44 und #26, gefolgt von #50, #39 und #25. Dass #25 und #56, die in der Leber nicht nachweisbar waren, hier im mittleren Konzentrationsbereich liegen, ist ein Hinweis auf deren relative Instabilität, eventuell aber auch auf die geringere metabolische Aktivität der Niere im Vergleich zur Leber.

#### IV. Ergebnisse und Diskussion



**Abb. 11:** Anreicherungsverlauf der vier dominierenden Toxaphenkomponenten (Parlar #26, #44, #50, #62) bei Applikation von 0,5 ppm Toxaphen



**Abb. 12:** Konzentrationen von #44 in Abhängigkeit von Zeitdauer der Fütterung, Probenart und Dosierung während der Akkumulationsphase bei Applikation von Toxaphen

Die Gesamtkonzentration in der Niere war anfangs geringer als in der Leber, am Schluss aber höher; sie betrug nach 18 Wochen 1162,23 ng/kg Fett, stieg dann bis zur 28. Woche auf 2081,80 ng/kg Fett, was einer Steigerung von 73,70 % entspricht, und bis zur 38. Woche auf 3466,07 ng/kg Fett (**Abb. 13**), was eine weitere Steigerungsrate von 66,49 % bedeutet. Die Abweichung von der Linearität war noch etwas deutlicher ( $R^2 = 0,9866$  und bei exponentiellem Auftrag  $R^2 = 0,9956$ ). In Fleischproben (**Tab. 29**) wiederum war die Reihenfolge der Hauptkomponenten anfangs #59>#62>#39>#42>#50, am Schluss dagegen #39>#59>#44>#62>#26. Auffällig war die hohe Konzentration der Komponente #59, die in Leber, Niere, Blut und Dotter bei dieser Dosierung völlig fehlte und bei Fett lediglich im mittleren Konzentrationsbereich lag.

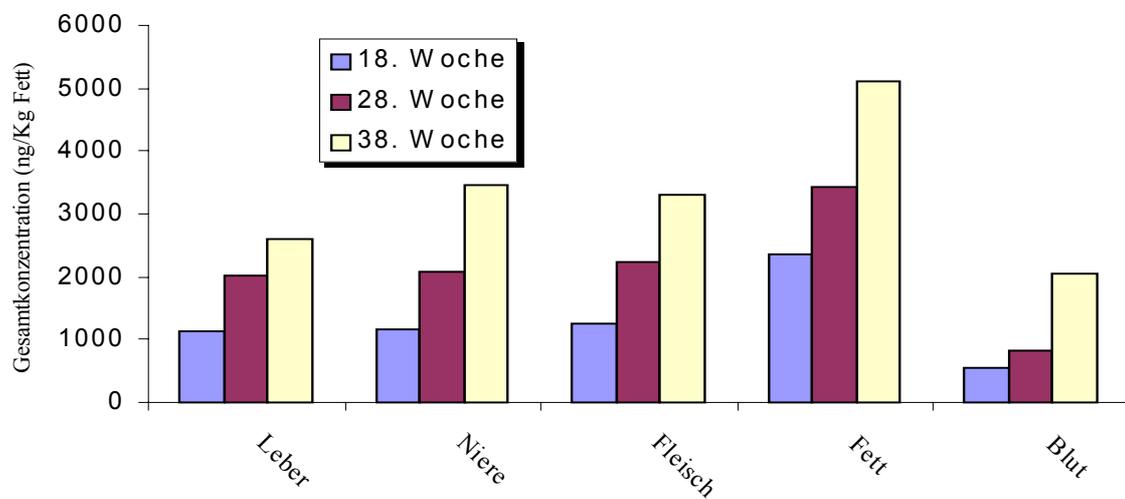
In den Fettproben (**Tab. 30**) waren nach 18 Wochen die Konzentrationen von #62 und #50 am höchsten, gefolgt von denen von #44 und #26. Nach 38 Wochen lag jedoch wieder #44 an der Spitze vor #62, #50 und #26. Die Gesamtkonzentration war hier im Vergleich zu den anderen Legehühnerproben am höchsten, betrug nach 18 Wochen 2362,41 ng/kg Fett und nach 28 Wochen 3418,03 ng/kg Fett (**Abb. 13**), was einer Erhöhung um 44,68 % entspricht. Nach 38 Wochen war sie auf 5113,32 ng/kg Fett angestiegen, also um weitere 49,59 %. Auch hier war der Anstieg wie in der Leber noch annähernd linear ( $R^2 = 0,9876$  und bei exponentiellem Auftrag  $R^2 = 0,9832$ ).

**Tab. 31** enthält die in den Blutproben während der Anreicherungsphase gefundenen Rückstände. Diese Tabelle zeigt die höchsten Werte bei den Komponenten #44, #50 und #62. Die Gesamtkonzentration stieg zwischen der 18. und 28. Woche um 50,48% und nach der 38. Woche betrug sie 2065,97 ng/kg Fett, d.h. die Konzentration ist um weitere 154,02% gestiegen. Der Regressionskoeffizient war allerdings deutlich höher (bei linearem Auftrag  $R^2 = 0,8791$  und bei exponentiellem Auftrag  $R^2 = 0,8680$ ).

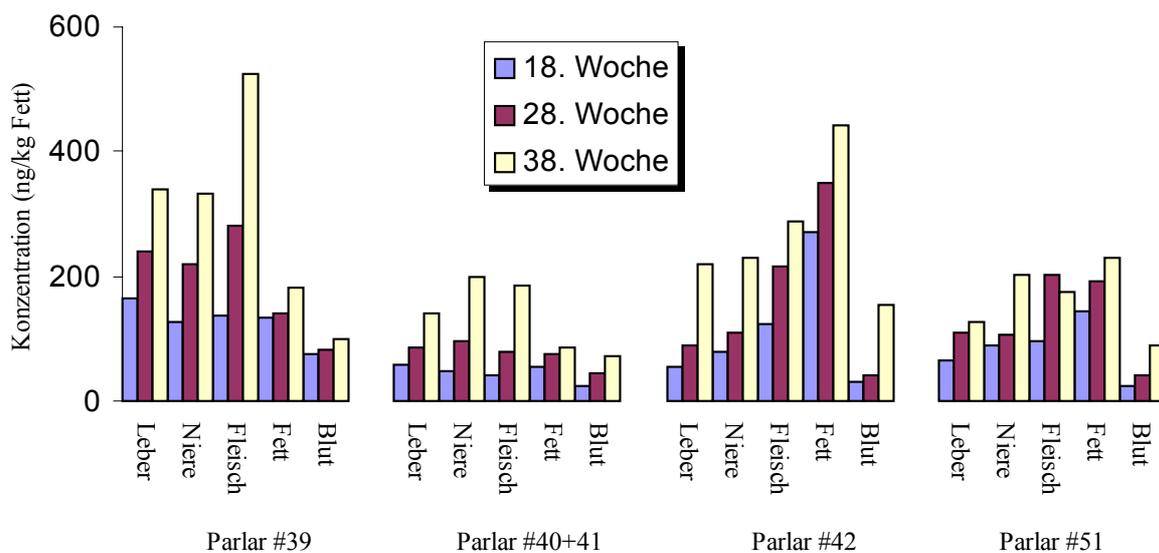
In Eidotter (**Tab. 32, Abb. 15**) wurden die Komponenten #44 und #50 am stärksten angereichert. Auffällig war hier die überproportionale Steigerung der Gesamtkonzentration zwischen der 28. und 38. Woche von 120,02 % im Gegensatz zu 64,75 % zwischen der 18. und 28. Woche (bei linearem Auftrag  $R^2 = 0,677$ ; bei exponentiellem Auftrag  $R^2 = 0,7332$ ). Der Übergang in Eidotter stellt einen möglichen Ausscheidungsweg für Toxaphenkomponenten dar. Außerdem weist Eidotter mit 32,6 % Lipid [238] einen sehr hohen Fettgehalt auf, was den Übergang der unpolaren Toxaphenkomponenten in den Dotter zusätzlich erleichtert. Trotzdem war aber die Gesamtkonzentration insgesamt am niedrigsten. Allerdings wurde hier die letzte Probe bereits nach der 36. Woche gezogen statt nach der 38. Woche.

**Tab. 26:** Übersicht über die in den Proben nachgewiesenen Toxapheneinzelkomponenten

#	11	12	15	21	25	26	31+32	38	39	40+41	42	44	50	51	56	58	59	62	63	69	
Organ																					
Leber	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	
Niere	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
Fleisch	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	
Fett	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	
Blut	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	
Dotter	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	



**Abb. 13:** Gesamtkonzentration von Toxaphen in Legehühnerproben bei Applikation von 0,5 ppm Toxaphen



**Abb. 14:** Anreicherungsverlauf der vier dominierenden Toxaphenkomponenten (Parlar #39, #40+41, #42, #51) bei Applikation von 0,5 ppm Toxaphen

#### IV. Ergebnisse und Diskussion

**Tab. 27:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) der Fütterungsversuche (0,5 ppm) in Legehühner-Leber mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse)

Toxaphen-komponente	18. Woche		28. Woche		38. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	62,76 ± 1,86 <sup>b</sup>	6,28	96,56 ± 1,23	12,07	116,56 ± 1,75	9,33
Parlar # 25	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 26	93,24 ± 0,49	9,32	186,48 ± 0,12	23,31	285,03 ± 1,05	22,80
Parlar#31+32	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 38	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 39	164,75 ± 2,92	16,48	239,64 ± 0,84	29,96	338,44 ± 0,82	27,08
Parlar#40+41	58,89 ± 0,65	5,89	87,24 ± 1,99	10,91	140,31 ± 2,48	11,23
Parlar # 42	55,25 ± 4,38	5,52	90,20 ± 1,89	11,28	218,88 ± 3,98	17,51
Parlar # 44	322,81 ± 2,25	32,28	679,60 ± 3,06	84,95	754,81 ± 4,28	60,39
Parlar # 50	143,87 ± 1,71	14,39	255,76 ± 2,68	31,97	284,31 ± 2,21	22,75
Parlar # 51	64,40 ± 4,84	6,44	110,80 ± 3,07	13,85	128,44 ± 1,025	10,28
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 62	172,97 ± 2,44	17,30	265,60 ± 0,87	33,20	334,75 ± 3,25	26,78
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
<b>Gesamt</b>	1138,94	113,89	2011,88	251,49	2601,50	208,12
<b>Fett/Probe(g)</b>	0,20		0,25		0,16	
<b>% Fett</b>	10,00		12,50		8,00	

**Tab. 28:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) der Fütterungsversuche (0,5 ppm) in Legehühner-Niere mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse)

Toxaphen-komponente	18. Woche		28. Woche		38. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 25	93,68 ± 3,38 <sup>b</sup>	10,31	167,28 ± 0,13	20,91	313,65 ± 2,24	31,37
Parlar # 26	163,32 ± 1,49	17,97	219,60 ± 3,37	27,45	439,20 ± 1,08	43,92
Parlar#31+32	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 38	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 39	125,73 ± 1,21	13,83	221,01 ± 3,83	27,63	331,50 ± 3,58	33,15
Parlar#40+41	47,55 ± 0,47	5,23	96,04 ± 1,34	12,01	199,28 ± 2,04	19,93
Parlar # 42	77,64 ± 1,14	8,54	110,20 ± 1,61	13,78	228,67 ± 2,34	22,87
Parlar # 44	311,82 ± 1,25	34,30	678,12 ± 2,06	84,77	1059,56 ± 5,68	105,96
Parlar # 50	139,82 ± 1,07	15,38	303,56 ± 2,13	37,95	389,80 ± 1,05	38,98
Parlar # 51	88,14 ± 0,53	9,70	107,08 ± 0,64	13,39	203,60 ± 2,08	20,36
Parlar # 56	114,55 ± 1,91	12,60	178,92 ± 0,50	22,37	300,81 ± 1,67	30,08
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 62	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
<b>Gesamt</b>	1162,23	127,85	2081,80	260,23	3466,07	346,61
<b>Fett/Probe(g)</b>	0,22		0,25		0,20	
<b>% Fett</b>	11,00		12,50		10,00	

n.n.= nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung

#### IV. Ergebnisse und Diskussion

**Tab. 29:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) der Fütterungsversuche (0,5 ppm) in Legehühnerfleischproben mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse)

Toxaphen- komponente	18. Woche		28. Woche		38. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	90,67 ± 1,82 <sup>b</sup>	4,35	167,38 ± 0,88	8,70	251,00 ± 2,38	10,04
Parlar # 25	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 26	109,89 ± 0,58	5,27	152,15 ± 0,17	7,91	312,38 ± 0,52	12,50
Parlar#31+32	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 38	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 39	138,64 ± 2,46	6,65	281,54 ± 1,96	14,64	524,13 ± 0,33	20,97
Parlar#40+41	40,12 ± 1,57	1,93	77,77 ± 0,12	4,04	185,75 ± 1,32	7,43
Parlar # 42	124,08 ± 0,27	5,96	217,62 ± 1,46	11,32	289,00 ± 1,74	11,56
Parlar # 44	102,35 ± 0,89	4,91	197,46 ± 0,72	10,27	439,05 ± 2,15	17,56
Parlar # 50	118,07 ± 1,08	5,67	231,38 ± 0,69	12,03	243,02 ± 0,53	9,72
Parlar # 51	94,95 ± 0,27	4,56	203,77 ± 2,51	10,60	174,03 ± 1,76	6,96
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	247,26 ± 0,54	11,87	360,62 ± 3,93	18,75	489,75 ± 0,50	19,59
Parlar # 62	200,47 ± 1,98	9,62	350,85 ± 0,91	18,24	386,25 ± 0,27	15,45
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
<b>Gesamt</b>	1266,48	60,79	2240,54	116,51	3294,35	131,77
<b>Fett/Probe(g)</b>	0,12		0,13		0,08	
<b>% Fett</b>	4,8		5,2		4,0	

**Tab. 30:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) der Fütterungsversuche (0,5 ppm) in Legehühner-Fett mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse)

Toxaphen- komponente	18. Woche		28. Woche		38. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	54,78 ± 1,28 <sup>b</sup>	42,73	65,96 ± 0,32	37,20	92,50 ± 0,16	42,18
Parlar # 25	87,76 ± 3,88	68,46	92,11 ± 2,35	51,95	130,81 ± 1,64	59,65
Parlar # 26	334,43 ± 2,46	260,86	491,40 ± 0,24	277,15	528,16 ± 4,84	240,84
Parlar#31+32	26,46 ± 0,04	20,64	38,05 ± 0,47	21,46	62,91 ± 5,64	28,69
Parlar # 38	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 39	132,06 ± 0,74	103,01	139,90 ± 3,20	78,90	183,10 ± 2,70	83,49
Parlar#40+41	55,06 ± 0,83	42,95	73,90 ± 2,76	41,68	86,95 ± 2,12	39,65
Parlar # 42	270,04 ± 7,60	210,63	350,52 ± 8,94	197,69	442,16 ± 1,31	201,62
Parlar # 44	379,80 ± 10,04	396,64	577,75 ± 1,12	325,85	1471,04 ± 2,48	670,79
Parlar # 50	409,79 ± 1,99	319,64	629,64 ± 1,40	355,12	709,40 ± 6,60	323,49
Parlar # 51	143,59 ± 1,07	112,00	193,59 ± 2,28	109,18	228,27 ± 3,62	104,09
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	56,62 ± 0,06	44,16	93,36 ± 1,58	52,66	297,32 ± 1,58	135,58
Parlar # 62	412,02 ± 0,39	321,36	671,85 ± 3,83	378,92	880,72 ± 2,32	401,61
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
<b>Gesamt</b>	2362,41	1842,68	3418,03	1927,77	5113,32	2331,68
<b>Fett/Probe(g)</b>	1,95		1,41		1,14	
<b>% Fett</b>	78,00		56,40		45,60	

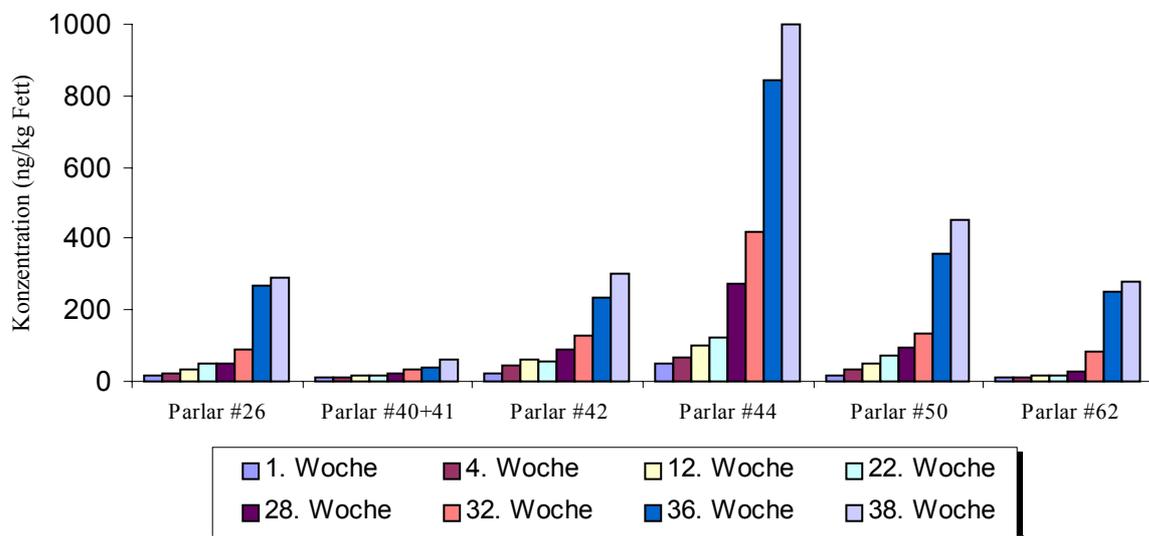
n.n.= nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung

#### IV. Ergebnisse und Diskussion

**Tab. 31:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) der Fütterungsversuche (0,5 ppm) in Blutproben von Legehühnern mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse).

Toxaphenkomponente	18. Woche		28. Woche		38. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 25	28,76 ± 1,27 <sup>b</sup>	0,80	50,58 ± 0,37	1,27	81,45 ± 0,25	2,16
Parlar # 26	69,85 ± 5,64	1,94	137,55 ± 4,50	3,44	214,39 ± 1,20	5,69
Parlar#31+32	32,47 ± 2,73	0,90	33,39 ± 0,83	0,84	88,87 ± 0,40	2,36
Parlar # 38	43,61 ± 2,31	1,21	74,81 ± 2,74	1,87	153,75 ± 3,26	7,50
Parlar # 39	75,39 ± 2,72	2,10	81,56 ± 2,01	2,04	100,12 ± 0,87	2,66
Parlar#40+41	23,56 ± 1,36	0,66	46,05 ± 0,06	1,15	72,18 ± 0,41	1,91
Parlar # 42	30,35 ± 1,56	0,84	40,65 ± 0,94	1,02	154,64 ± 2,97	4,10
Parlar # 44	97,06 ± 3,26	2,70	145,50 ± 2,53	3,64	502,26 ± 2,60	13,32
Parlar # 50	52,95 ± 3,46	1,47	90,23 ± 2,04	2,26	336,65 ± 5,01	8,93
Parlar # 51	25,18 ± 1,38	0,70	39,63 ± 0,09	0,99	90,28 ± 0,33	2,39
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 62	61,27 ± 2,36	1,71	73,39 ± 1,89	1,84	271,37 ± 1,84	7,20
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
<b>Gesamt</b>	540,47	15,04	813,32	20,35	2065,97	58,22
<b>Fett/Probe(g)</b>	0,21		0,31		0,31	
<b>% Fett</b>	1,89		2,50		2,50	

n.n.= nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung



**Abb. 15:** Konzentrationen verschiedener Toxaphenkomponenten in Legehühner-Eidotter während der Anreicherungsphase bei Applikation von 0,5 ppm Toxaphen; Quantifizierung mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse)

**Tab. 32:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) der Fütterungsversuche (0,5 ppm) in Legehühner-Eidotter mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse).

Toxaphen- komponente	1. Woche		4. Woche		12. Woche		22. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	2,44 ± 0,24 <sup>b</sup>	0,87	6,90 ± 1,87	2,34	12,60 ± 0,38	5,55	14,97 ± 2,14	7,10
Parlar # 25	n.n.	n.n.	18,49 ± 1,30	6,26	20,59 ± 2,24	9,08	21,02 ± 1,89	9,97
Parlar # 26	18,70 ± 1,26	6,66	20,69 ± 1,87	7,01	33,27 ± 1,54	14,67	48,72 ± 2,77	23,11
Parlar#31+32	5,17 ± 0,83	1,84	9,03 ± 0,72	3,06	11,10 ± 1,77	4,90	13,64 ± 1,53	6,47
Parlar # 38	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 39	13,93 ± 1,35	4,97	19,95 ± 1,21	6,76	30,93 ± 1,35	13,64	28,89 ± 1,19	13,70
Parlar#40+41	9,76 ± 0,55	3,48	12,11 ± 1,87	4,10	15,98 ± 1,69	7,05	18,08 ± 1,17	8,58
Parlar # 42	24,55 ± 2,92	8,75	43,37 ± 2,98	14,69	60,04 ± 2,35	26,48	54,32 ± 1,66	25,77
Parlar # 44	50,52 ± 2,03	18,01	66,32 ± 2,98	22,47	100,56 ± 2,80	44,35	121,34 ± 1,86	57,56
Parlar # 50	16,00 ± 1,48	5,70	34,48 ± 2,13	11,68	51,92 ± 3,72	22,89	70,99 ± 1,09	33,68
Parlar # 51	4,35 ± 0,48	1,55	5,56 ± 0,66	1,88	9,99 ± 0,48	4,41	19,34 ± 2,62	9,18
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 62	9,36 ± 1,64	3,34	11,04 ± 0,57	3,74	17,26 ± 1,23	7,61	19,32 ± 1,58	9,16
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	3,72 ± 0,83	1,33	9,77 ± 0,82	3,31	12,00 ± 1,04	5,29	18,37 ± 1,74	8,72
<b>Gesamt</b>	158,50	56,49	257,69	87,31	376,22	165,91	449,02	213,01
<b>Fett/Probe(g)</b>	2,06		1,85		2,84		3,89	
<b>% Fett</b>	35,64		33,88		44,10		47,44	

n.n.= nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung

Fortsetzung Tab. 32

Toxaphen- komponente	28. Woche		32. Woche		35. Woche		36. Woche		38. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	20,06±2,56 <sup>b</sup>	6,17	31,63 ± 2,20	10,28	35,33±1,57	8,83	53,02±1,52	10,60	63,73±1,52	15,77
Parlar # 25	23,57 ±1,59	7,25	44,59 ± 3,54	14,49	57,08±1,62	14,27	85,62±1,43	17,12	114,74±1,14	28,40
Parlar # 26	52,64 ±0,97	16,19	90,55 ± 1,87	29,43	177,88±0,16	44,47	266,82±2,98	53,36	287,82±2,54	71,24
Parlar#31+32	13,23 ±0,77	4,07	16,47 ± 0,61	5,35	21,78 ± 1,31	5,45	32,67 ± 0,79	6,53	72,08±4,69	17,84
Parlar # 38	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 39	36,93 ±0,33	11,36	56,36 ± 0,09	18,32	62,34 ± 2,35	15,59	93,51 ± 2,97	18,70	109,73±1,03	27,16
Parlar#40+41	20,03 ±1,53	6,16	32,68 ± 0,97	10,62	39,41 ± 3,86	9,85	59,12 ± 0,78	11,82	72,27±2,81	17,89
Parlar # 42	89,21 ±2,45	27,43	129,85±3,40	42,20	155,40±2,68	38,85	233,10±3,47	46,62	302,62±1,63	74,90
Parlar # 44	274,89±3,59	84,53	419,49±0,40	136,34	560,97±1,66	140,24	841,46±1,40	168,29	997,23±2,88	246,82
Parlar # 50	92,54 ±2,98	28,46	135,75±0,81	44,12	237,78±2,90	59,45	356,67±1,68	71,33	451,55±2,96	111,76
Parlar # 51	17,76 ± 1,27	5,46	27,05±1,78	8,79	57,81 ± 1,26	14,45	86,72 ± 2,95	17,34	109,07±2,76	27,00
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 62	26,43 ± 0,41	8,13	83,35±1,13	27,09	165,77±2,97	41,44	248,66±3,06	49,73	277,30±1,92	68,63
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	20,96 ± 0,76	6,44	66,10±2,09	21,48	125,99±2,08	31,50	137,44±1,59	27,49	210,15±1,29	52,01
<b>Gesamt</b>	688,24	211,63	1133,88	368,51	1697,54	424,39	2494,79	498,95	3068,31	759,42
<b>Fett/Probe(g)</b>	1,23		1,30		1,00		0,80		1,24	
<b>% Fett</b>	30,75		32,50		25,00		20,00		24,75	

n.n.= nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung

## 2.2 Proben der Fütterungsversuche mit 1 ppm Toxaphen

Die Ergebnisse dieser Analysen sind in den **Tab. 34-39** zusammengestellt; **Tab. 33** enthält eine qualitative Auflistung der in den verschiedenen Organproben gefundenen Toxaphenkomponenten. In der Leber (**Tab. 34**) waren wiederum #44 und #62 die Hauptkomponenten, an dritter Stelle kam erst #42 vor #39, #26 und #50 (**Abb. 16-17**). Dagegen lag die prozentuale Zunahme der Gesamtkonzentration in der Leber bei 165,62 % von der 18. bis zur 28. Woche und bei 55,33 % bis zur 38. Woche. Diese Zunahme verlief, ähnlich wie bei 0,5 ppm Dosierung, nicht ganz linear (Regressionskoeffizient mit  $R^2 = 0,9988$  sogar noch etwas niedriger). Das Gleiche gilt für die Niere ( $R^2 = 0,9407$ ); der Zuwachs betrug 132,22% zwischen 18. und 28. Woche und 144,57% bis zur 38. Woche, aber im Unterschied zur niedrigeren Dosierungsrate (0,5 ppm) lag sie sowohl am Anfang als auch am Ende unterhalb derjenigen in der Leber, wobei der Unterschied nach 18 Wochen am deutlichsten war. Die Hauptkomponenten waren insgesamt die gleichen wie bei der Applikation von 0,5 ppm, nur daß im mittleren Konzentrationsbereich #25 und #56 in der Reihenfolge vertauscht waren. #25, das vorher nicht nachgewiesen werden konnte, war hier, wenn auch in relativ niedriger Konzentration, vertreten. Für Fettproben liegen bei dieser Konzentration keine Werte vor. Im Fleisch (**Tab. 36**) war die Gesamtkonzentration höher als in Leber und Niere und die Anreicherungsrate lag bei 96,24 % nach 28 Wochen bzw. 48,91% nach 38 Wochen mit einem Regressionskoeffizienten von  $R^2 = 0,9998$ .

In Hautproben (**Tab 37**) waren #26, #62 und #50 die Hauptkomponenten. Die Gesamtkonzentration war hier von allen Komponenten am höchsten und betrug nach 18 Wochen 409,89 ng/kg Fett bzw. nach 28 Wochen 1175,32 ng/kg Fett (**Abb. 18**), was einer Erhöhung um 186,74% entspricht. Nach 38 Wochen war sie auf 2014,86 ng/kg Fett angestiegen, also um weitere 71,43%. Der Regressionskoeffizient war hier deutlich höher (bei linearem Auftrag  $R^2 = 0,9993$ ; bei exponentiellem Auftrag  $R^2 = 0,9988$ ). In Blut (**Tab. 38**) sind sehr hohe Konzentrationen für #44 und #26 (857,73 und 514,05 ng/kg Fett) nach 28 Wochen zu verzeichnen. Die Gesamtkonzentration (**Abb. 18**) stieg bis zur 28. Woche um 138,85% und 38. Woche um weitere 113,02%.

Im Eidotter (**Tab. 39, Abb. 19**) war die zweitstärkste Anreicherung bei #62 und nicht, wie vorher, bei #50 zu beobachten. Insgesamt waren die Hauptkomponenten die gleichen wie bei der niedrigeren Konzentration (0,5 ppm). Auch hier stieg die Gesamtkonzentration bis zur 22. Woche um 69,91 % und dann bis zur 38. Woche um 109,38 %, zeigte also einen ähnlich überproportionalen Zuwachs wie bei der Applikation von 0,5 ppm. Der Regressionskoeffizient

#### IV. Ergebnisse und Diskussion

war allerdings deutlich höher (bei linearem Auftrag  $R^2 = 0,8955$ , bei exponentiellem Auftrag  $R^2 = 0,9057$ ).

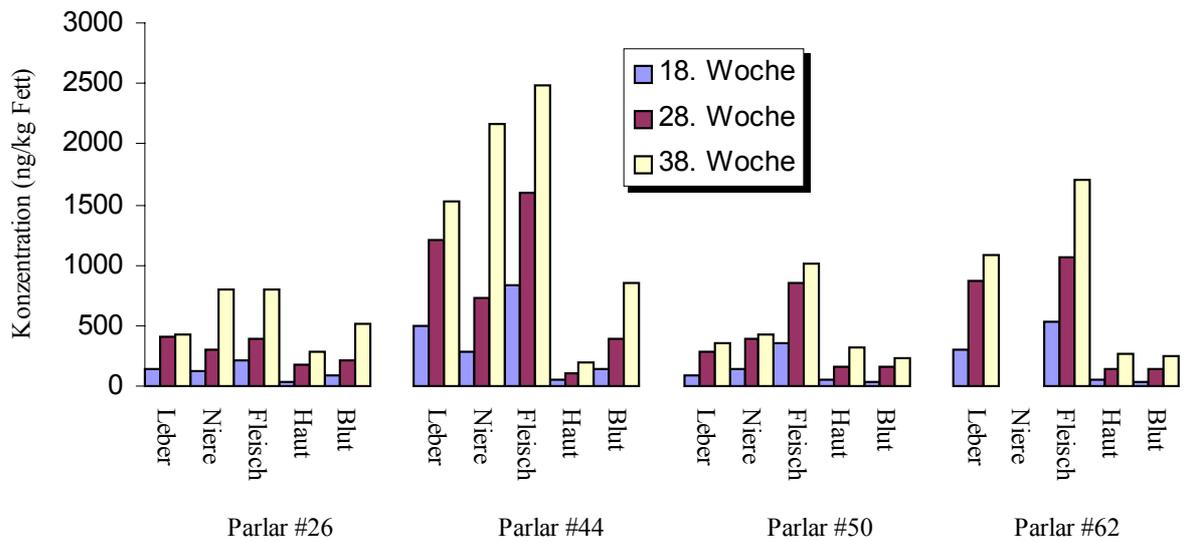
**Tab. 33:** Übersicht über die in den Proben nachgewiesenen Toxapheneinzelkomponenten bei Dosierung von 1 ppm.

# Organ	11	12	15	21	25	26	31+32	38	39	40+41	42	44	50	51	56	58	59	62	63	69
Leber	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-
Niere	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
Fleisch	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
Haut	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
Blut	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-
Eidotter	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+

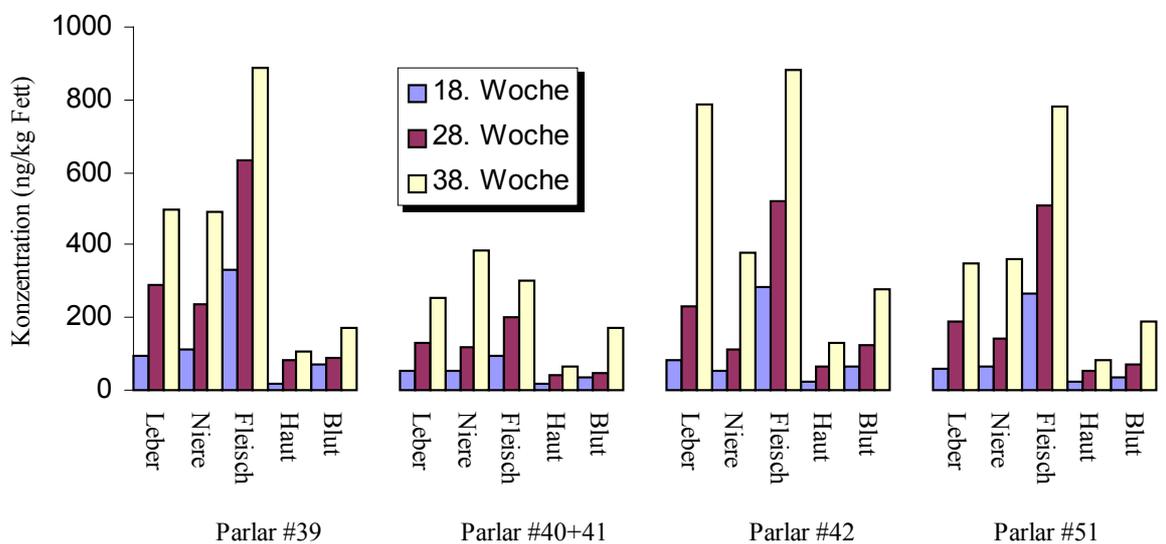
**Tab. 34:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) der Fütterungsversuche (1 ppm) in Legehühner-Leber mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse).

Toxaphen- komponente	18. Woche		28. Woche		38. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	62,66 ± 1,25 <sup>b</sup>	3,76	143,55 ± 1,94	7,90	218,30 ± 4,31	21,83
Parlar # 25	59,88 ± 0,72	3,59	130,64 ± 1,12	7,19	253,10 ± 2,21	25,31
Parlar # 26	146,70 ± 2,5	8,80	400,09 ± 1,41	22,01	434,10 ± 1,24	43,41
Parlar#31+32	57,01 ± 0,95	3,42	149,27 ± 1,53	8,21	477,40 ± 3,54	47,74
Parlar # 38	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 39	95,60 ± 1,53	5,74	292,00 ± 1,6	16,06	494,70 ± 2,64	49,47
Parlar#40+41	53,22 ± 1,02	3,19	127,73 ± 0,1	7,03	256,65 ± 2,25	25,67
Parlar # 42	80,71 ± 1,27	4,84	228,91 ± 2,71	12,59	786,80 ± 2,71	78,68
Parlar # 44	504,13 ± 1,55	30,25	1209,91 ± 1,15	66,55	1532,55 ± 1,24	153,26
Parlar # 50	90,15 ± 1,14	5,41	275,36 ± 4,81	15,15	354,92 ± 5,24	35,49
Parlar # 51	65,80 ± 0,26	3,95	186,64 ± 1,27	10,27	350,75 ± 2,84	35,08
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 62	295,28 ± 1,84	17,72	869,73 ± 2,73	47,84	1075,60 ± 9,32	107,56
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
<b>Gesamt</b>	1511,12	90,67	4013,82	220,76	6234,85	623,49
<b>Fett/Probe(g)</b>	0,12		0,11		0,20	
<b>% Fett</b>	6,00		5,50		10,00	

n.n.= nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung



**Abb. 16:** Anreicherungsverlauf der vier dominierenden Toxaphenkomponenten (Parlar #26, #44, #50, #62) bei Applikation von 1,0 ppm Toxaphen



**Abb. 17:** Anreicherungsverlauf der vier dominierenden Toxaphenkomponenten (Parlar #39, #40+41, #42, #51) bei Applikation von 1,0 ppm Toxaphen

#### IV. Ergebnisse und Diskussion

**Tab. 35:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) der Fütterungsversuche (1 ppm) in Legehühner-Niere mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse)

Toxaphen-komponente	18. Woche		28. Woche		38. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 25	88,15 ± 2,95 <sup>b</sup>	8,82	176,30 ± 1,55	17,63	386,58 ± 2,31	23,20
Parlar # 26	128,10 ± 0,72	12,81	307,45 ± 0,65	30,75	804,92 ± 5,69	48,30
Parlar#31+32	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 38	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 39	113,24 ± 1,24	11,32	237,80 ± 0,41	23,78	493,42 ± 3,24	29,61
Parlar#40+41	52,20 ± 0,73	5,22	120,05 ± 0,94	12,01	383,08 ± 2,35	22,99
Parlar # 42	55,13 ± 0,23	5,51	110,25 ± 3,07	11,03	377,08 ± 1,05	22,63
Parlar # 44	291,84 ± 3,41	29,18	729,60 ± 0,47	72,96	2168,17 ± 2,65	130,09
Parlar # 50	142,41 ± 1,48	14,24	384,50 ± 0,55	38,45	434,01 ± 3,58	26,04
Parlar # 51	66,64 ± 0,27	6,66	139,95 ± 0,14	14,00	362,42 ± 8,02	21,75
Parlar # 56	88,08 ± 1,93	8,81	176,15 ± 2,13	17,62	416,17 ± 6,32	24,97
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 62	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
<b>Gesamt</b>	1025,78	102,58	2382,05	238,21	5825,83	349,55
<b>Fett/Probe(g)</b>	0,20		0,20		0,12	
<b>% Fett</b>	10,00		10,00		6,00	

**Tab. 36:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) der Fütterungsversuche (1 ppm) in Legehühner-Fleisch mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse)

Toxaphen-komponente	18. Woche		28. Woche		38. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	133,40 ± 3,45 <sup>b</sup>	2,67	22,33 ± 0,14	5,34	353,75 ± 0,67	11,32
Parlar # 25	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 26	219,71 ± 0,8	4,40	384,83 ± 1,54	9,23	798,88 ± 2,5	25,56
Parlar#31+32	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 38	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 39	331,22 ± 1,03	6,62	634,83 ± 1,05	15,24	889,89 ± 3,99	28,48
Parlar#40+41	96,56 ± 2,37	1,93	201,17 ± 1,03	4,83	300,13 ± 0,76	9,60
Parlar # 42	282,79 ± 1,81	5,66	523,17 ± 1,56	12,56	882,13 ± 1,43	28,23
Parlar # 44	838,09 ± 1,43	16,76	1606,23 ± 1,43	38,55	2477,25 ± 2,82	79,27
Parlar # 50	361,57 ± 2,82	7,23	843,67 ± 2,81	20,25	1009,63 ± 2,94	32,31
Parlar # 51	264,43 ± 1,15	5,29	506,83 ± 1,20	12,16	780,40 ± 0,2	24,97
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	129,29 ± 1,88	2,58	271,50 ± 2,37	6,52	746,89 ± 2,31	23,90
Parlar # 62	529,17 ± 1,25	10,58	1058,33 ± 1,15	25,40	1702,01 ± 1,98	34,30
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
<b>Gesamt</b>	3186,20	63,72	6252,67	150,06	9310,92	297,95
<b>Fett/Probe(g)</b>	0,05		0,06		0,08	
<b>% Fett</b>	2,00		2,40		3,20	

n.n.= nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung

#### IV. Ergebnisse und Diskussion

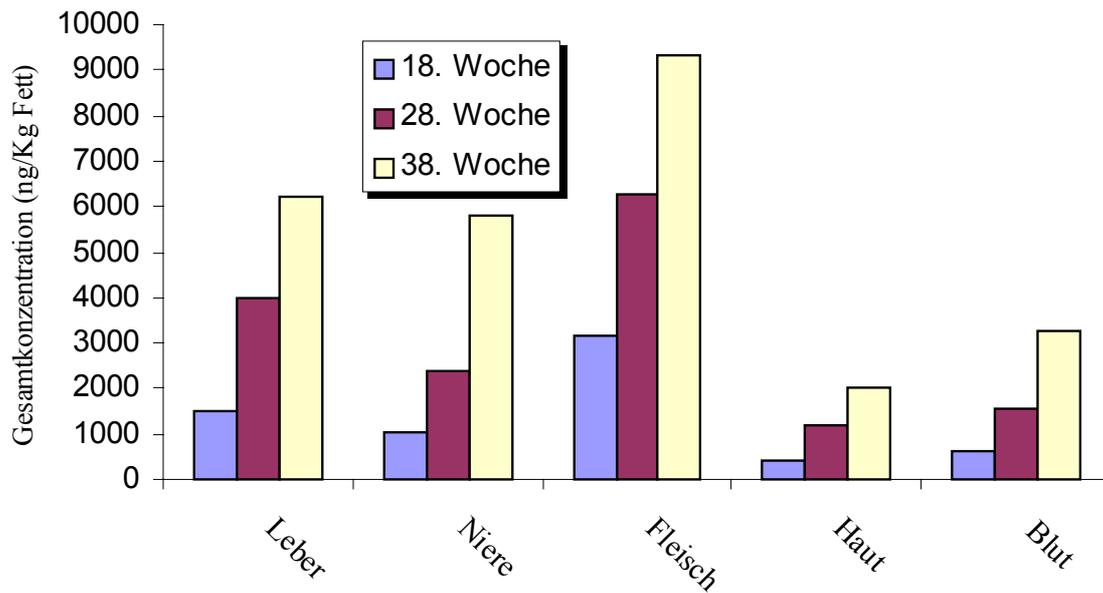
**Tab 37:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) der Fütterungsversuche (1 ppm) in Legehühner-Haut mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse).

Toxaphen-komponente	18. Woche		28. Woche		38. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	13,96 ± 1,65	4,97	38,81 ± 1,65	13,15	43,12 ± 4,73	19,01
Parlar # 25	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 26	35,57 ± 3,14	12,68	173,65 ± 1,08	58,84	292,45 ± 1,59	128,97
Parlar#31+32	19,57 ± 3,20	6,97	21,51 ± 0,59	7,29	39,16 ± 7,28	17,27
Parlar # 38	29,41 ± 1,72	10,48	42,01 ± 1,25	14,23	63,97 ± 2,50	28,21
Parlar # 39	18,77 ± 1,45	6,69	85,06 ± 0,36	28,82	108,33 ± 2,21	47,77
Parlar#40+41	16,16 ± 1,08	5,76	43,41 ± 1,59	14,71	65,19 ± 2,92	28,75
Parlar # 42	22,98 ± 1,06	8,19	167,95 ± 2,08	23,02	128,97 ± 2,93	56,87
Parlar # 44	45,56 ± 1,29	16,24	101,54 ± 1,59	34,40	197,57 ± 5,05	87,13
Parlar # 50	47,37 ± 1,75	16,88	152,30 ± 2,73	51,60	314,12 ± 2,15	138,53
Parlar # 51	22,41 ± 1,87	7,99	53,13 ± 1,58	18,00	80,01 ± 5,73	35,29
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	47,27 ± 1,14	16,85	69,65 ± 1,95	23,60	107,44 ± 6,09	47,38
Parlar # 59	28,82 ± 1,95	10,27	83,92 ± 1,12	28,43	168,13 ± 5,41	74,15
Parlar # 62	47,36 ± 1,28	16,88	146,63 ± 3,54	49,68	267,21 ± 1,55	117,84
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	14,68 ± 1,28	5,23	95,76 ± 1,38	32,45	139,17 ± 3,59	61,37
<b>Gesamt</b>	409,89	146,08	1175,32	398,23	2014,86	888,54
<b>Fett/Probe(g)</b>	2,06		1,85		2,84	
<b>% Fett</b>	35,64		33,88		44,10	

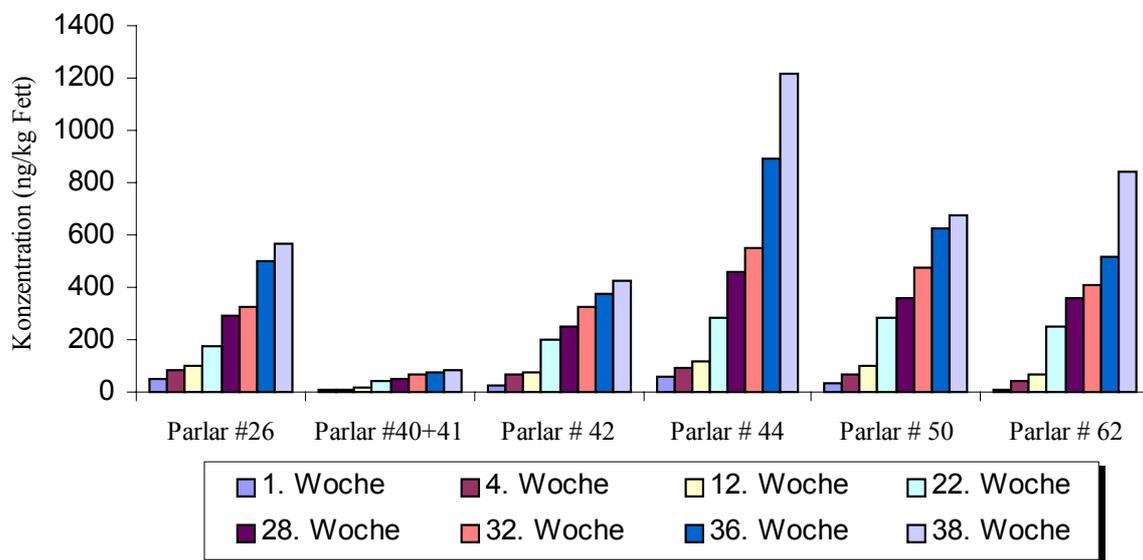
**Tab 38:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) der Fütterungsversuche (1 ppm) in Legehühner-Blut mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse).

Toxaphen-komponente	18. Woche		28. Woche		38. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 25	59,71 ± 3,89	1,44	99,00 ± 0,82	1,59	230,18 ± 2,32	3,78
Parlar # 26	82,22 ± 1,60	1,99	220,83 ± 2,89	3,55	514,05 ± 1,54	8,45
Parlar#31+32	55,28 ± 4,78	1,34	84,33 ± 4,81	1,36	239,64 ± 1,36	3,94
Parlar # 38	29,04 ± 2,52	0,70	96,70 ± 1,34	1,55	152,00 ± 1,76	2,50
Parlar # 39	68,47 ± 1,46	1,66	86,90 ± 2,71	1,40	171,18 ± 1,83	2,81
Parlar#40+41	34,73 ± 2,13	0,84	49,20 ± 0,54	0,79	173,32 ± 1,07	2,85
Parlar # 42	63,41 ± 1,36	1,53	126,70 ± 0,63	2,04	277,73 ± 1,55	4,56
Parlar # 44	142,76 ± 1,64	3,45	392,38 ± 5,46	6,31	857,73 ± 1,49	14,09
Parlar # 50	30,06 ± 2,35	0,73	161,90 ± 1,16	2,60	223,05 ± 2,53	3,66
Parlar # 51	36,11 ± 1,25	0,87	72,30 ± 2,37	1,16	187,64 ± 1,64	3,08
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 62	42,56 ± 1,25	1,03	148,83 ± 1,33	2,39	251,91 ± 1,83	4,14
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
<b>Gesamt</b>	644,35	15,59	1539,05	24,74	3278,41	53,86
<b>Fett/Probe(g)</b>	0,18		0,33		0,22	
<b>% Fett</b>	1,34		1,89		1,64	

n.n. = nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung



**Abb. 18:** Gesamtkonzentration von Toxaphenkomponenten in Legehühnern bei Applikation von 1,0 ppm Toxaphen



**Abb. 19:** Konzentrationen verschiedener Toxaphenkomponenten in Hühnchen-Eidotter während der Anreicherungsphase bei Applikation von 1,0 ppm Toxaphen; Quantifizierung mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse)

#### IV. Ergebnisse und Diskussion

**Tab. 39:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) der Fütterungsversuche (1 ppm) in Hühnchen-Eidotter mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse).

Toxaphen- komponente	1. Woche		4. Woche		12. Woche		20. Woche		22. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	15,13 ± 5,7 <sup>b</sup>	5,31	19,11 ± 2,39	9,09	26,22 ± 3,41	12,62	31,92 ± 4,95	13,88	37,70 ± 5,9	14,61
Parlar # 25	19,74 ± 4,37	6,92	30,01 ± 5,01	14,28	44,83 ± 7,02	21,57	55,80 ± 6,12	24,26	67,19 ± 6,0	26,04
Parlar # 26	47,78 ± 1,07	16,75	81,27 ± 3,31	38,67	104,04 ± 1,65	50,06	159,44 ± 7,62	69,31	172,88 ± 4,8	66,99
Parlar#31+32	10,29 ± 3,9	3,61	16,01 ± 1,78	7,62	20,31 ± 3,14	9,77	23,20 ± 0,59	10,08	24,79 ± 1,6	9,61
Parlar # 38	10,89 ± 1,73	3,82	15,69 ± 4,61	7,47	25,07 ± 6,46	12,07	36,83 ± 1,20	16,01	38,49 ± 8,6	14,92
Parlar # 39	14,54 ± 2,62	5,10	37,03 ± 1,75	17,62	58,23 ± 3,01	28,02	78,35 ± 1,08	34,06	97,39 ± 4,5	37,74
Parlar#40+41	6,25 ± 2,73	2,19	10,34 ± 2,86	4,92	19,31 ± 3,87	9,29	27,91 ± 3,16	12,13	39,08 ± 4,1	15,14
Parlar # 42	27,06 ± 6,31	9,49	62,81 ± 9,41	29,89	75,56 ± 6,16	36,36	109,91 ± 2,73	47,78	201,17 ± 2,8	77,95
Parlar # 44	54,83 ± 1,43	19,23	89,15 ± 2,87	42,42	117,82 ± 1,72	56,70	155,85 ± 6,51	67,75	286,85 ± 3,1	111,16
Parlar # 50	33,93 ± 3,12	11,90	62,94 ± 0,75	29,95	97,41 ± 3,60	46,88	140,98 ± 1,36	61,29	279,90 ± 2,3	108,46
Parlar # 51	11,33 ± 2,75	3,97	24,96 ± 0,34	11,88	34,21 ± 2,05	16,46	44,93 ± 5,82	19,53	79,95 ± 5,7	30,98
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	7,40 ± 1,29	2,59	20,13 ± 1,36	9,58	34,02 ± 0,31	16,37	38,26 ± 6,32	16,63	38,17 ± 0,4	14,79
Parlar # 62	12,15 ± 2,76	4,26	39,41 ± 3,15	18,75	70,21 ± 5,01	33,78	95,65 ± 4,09	41,58	252,03 ± 3,9	97,66
Parlar # 63	0,34 ± 0,04	0,12	1,33 ± 0,38	0,63	4,25 ± 1,08	2,05	10,41 ± 1,09	4,52	10,45 ± 1,48	4,05
Parlar # 69	16,71 ± 0,94	5,86	31,87 ± 3,20	15,17	87,10 ±	41,91	91,87 ± 1,59	39,94	114,68 ± 0,8	44,44
<b>Gesamt</b>	288,38	101,11	542,06	257,94	818,59	393,92	1101,31	478,75	1740,72	674,53
<b>Fett/Probe(g)</b>	1,96		2,66		2,69		2,43		1,55	
<b>% Fett</b>	35,06		37,46		43,32		35,95		38,75	

n.n.= nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung

Fortsetzung Tab. 39

Toxaphen- komponente	28. Woche		32. Woche		35. Woche		36. Woche		38. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe								
Parlar # 11	n.n.	n.n.								
Parlar # 12	n.n.	n.n.								
Parlar # 15	n.n.	n.n.								
Parlar # 21	45,73±0,24	14,06	53,56±5,1	17,48	60,19±0,38	15,05	71,46±1,83	14,29	106,83±1,14	34,72
Parlar # 25	73,67±6,11	22,65	91,72±3,8	29,81	92,99±3,30	23,25	109,09±1,2	21,82	130,79±6,49	42,51
Parlar # 26	291,15±1,58	89,53	323,17±3,5	105,03	413,85±2,2	103,46	496,04±0,9	99,21	565,70±9,19	183,85
Parlar#31+32	29,46±0,80	9,06	35,95±5,2	11,69	38,51±1,03	9,63	41,78±0,5	8,36	60,0±1,34	19,50
Parlar # 38	94,84±0,13	29,17	115,87±0,3	37,66	133,65±1,2	33,41	160,08±0,8	32,02	186,58±4,92	60,64
Parlar # 39	125,33±1,96	38,54	157,38±5,1	51,15	172,81±2,5	43,20	211,90±1,27	42,38	250,0±1,27	81,25
Parlar#40+41	48,89±1,76	15,04	62,83±3,2	20,42	69,47±1,1	17,37	76,85±0,76	15,32	82,24±0,81	26,73
Parlar # 42	252,0±8,50	77,49	328,99±2,7	106,92	337,38±1,5	84,35	371,85±1,5	74,37	425,53±1,64	138,30
Parlar # 44	461,73±7,1	141,98	552,32±8,8	179,50	707,83±3,6	176,96	891,56±0,87	178,31	1217,10±1,24	395,56
Parlar # 50	362,21±5,5	111,38	475,42±8,3	154,51	537,84±0,1	134,46	623,96±2,12	124,79	672,56±5,63	218,58
Parlar # 51	106,76±0,15	32,83	132,17±1,7	42,96	132,43±0,8	33,11	187,91±2,35	37,58	219,23±3,25	71,25
Parlar # 56	n.n.	n.n.								
Parlar # 58	n.n.	n.n.								
Parlar # 59	45,93±3,68	14,12	57,78±0,4	18,78	60,26±0,5	15,07	61,31±0,1	12,26	78,33±0,95	25,46
Parlar # 62	359,80±1,03	110,64	411,77±1,2	133,83	472,97±3,3	118,24	514,99±0,95	102,99	840,99±4,68	273,32
Parlar # 63	14,17±0,48	4,36	16,08±0,3	5,23	16,34±0,11	4,09	18,11±0,23	3,62	44,38±1,26	14,42
Parlar # 69	135,88±1,2	41,78	142,67±0,4	46,37	181,79±0,23	45,45	227,98±0,95	45,60	244,59±1,51	79,49
<b>Gesamt</b>	2447,58	752,63	2957,68	961,25	3428,31	857,08	4064,59	812,92	5124,83	1665,57
<b>Fett/Probe(g)</b>	1,23		1,3		1,00		0,8		1,3	
<b>% Fett</b>	30,75		32,50		25,00		20,00		32,50	

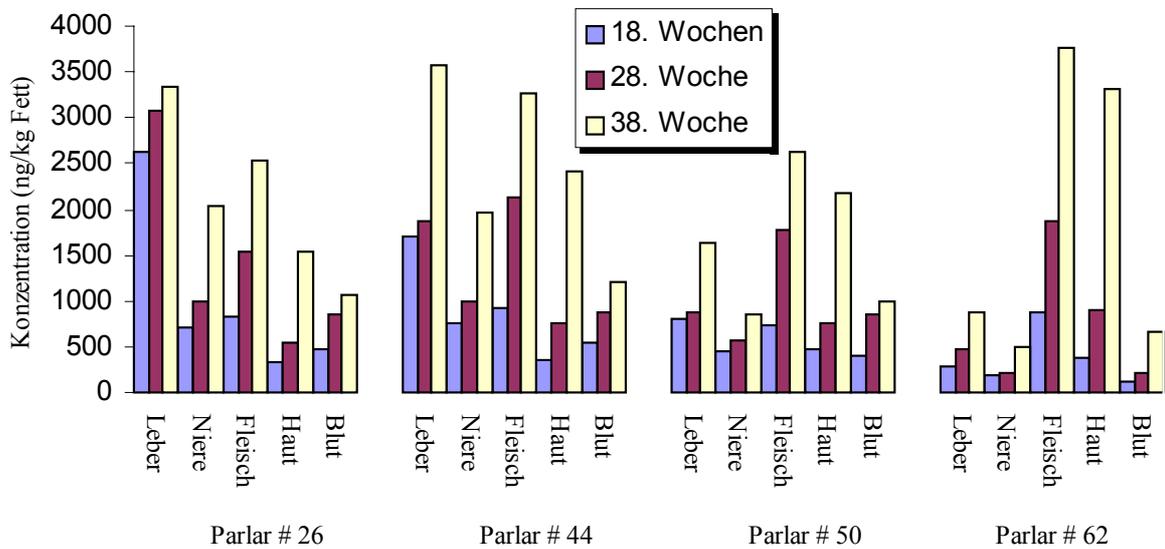
n.n.= nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung

### 2.3 Proben der Fütterungsversuche mit 5 ppm Toxaphen

Die Ergebnisse dieser Analysen finden sich in den **Tab. 41-46**. Die nachweisbaren Komponenten waren wieder die Kongenere #26, #39, #40+41, #42, #44, #50 #51 und #62, während #11, #12, #15 und #58 nicht gefunden wurden (**Tab. 40**). **Tab. 41** enthält die Werte der Leber-Proben. Die Reihenfolge der Hauptkomponenten war hier #44, #26, #50, #25 und #62 (**Abb. 20**); sie weicht von denen bei den beiden niedrigeren Dosierungen (0,5 und 1 ppm) ab. Von den bei Applikation von 0,5 ppm nicht in der Leber nachweisbaren Verbindungen (#11, #12, #15, #25, #31+32, #38, #56, #58, #59, #63 und #69) wurden bei der höchsten Dosierung drei (#25, #31+32 und #38) gefunden, davon #25 sogar an vierter Stelle stehend. In den Nierenproben (**Tab. 42**) waren dagegen #62 und #63 zusätzlich angereichert; #62 wurde bei niedriger Dosierung nicht gefunden und erreichte hier fast den mittleren Konzentrationsbereich. Für Fett liegen hier leider keine Vergleichswerte vor. Im Fleisch (**Tab. 43**) war die Reihenfolge der Hauptkomponenten #62, #44, #50, #42 und #26, während sie bei den niedrigeren Dosierungen #44, #62, #44, #39 und #42 gewesen war. Auch im Dotter war #62 (**Abb. 22**) am stärksten angereichert, gefolgt von #44, #50 und #42. Die Anreicherungsraten, bezogen auf die Gesamtkonzentrationen in den einzelnen Organen bei den verschiedenen Konzentrationen sind in **Abb. 23** zusammengefasst; die Regressionskoeffizienten für die unterschiedlichen Näherungsberechnungen sind **Tab. 47** zu entnehmen. Dagegen zeigt **Abb. 20** die Anreicherung ausgewählter Toxaphenkomponenten.

**Tab. 40:** Übersicht über die in den Proben nachgewiesenen Toxapheneinzelkomponenten (Dosierung 5 ppm)

#	11	12	15	21	25	26	31+32	38	39	40+41	42	44	50	51	56	58	59	62	63	69
Organ																				
Leber	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-
Niere	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-
Fleisch	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
Haut	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
Blut	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-
Eidotter	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+



**Abb. 20:** Anreicherungsverlauf der vier dominierenden Toxaphenkomponenten (Parlar #26, #44, #50, #62) bei Applikation von 5,0 ppm Toxaphen

**Tab. 41:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) der Fütterungsversuche (5 ppm) in Hühnchen-Leber mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse).

Toxaphenkomponente	18. Woche		28. Woche		38. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	245,13 ± 0,64 <sup>b</sup>	19,61	399,82 ± 3,01	33,99	465,96 ± 6,30	53,59
Parlar # 25	455,94 ± 0,59	36,48	532,24 ± 8,50	45,24	1108,48 ± 1,38	127,48
Parlar # 26	2629,94 ± 1,74	210,40	3071,00 ± 3,21	261,04	3342,52 ± 5,31	384,39
Parlar#31+32	455,50 ± 0,05	36,44	457,88 ± 4,72	38,92	352,37 ± 4,43	40,52
Parlar # 38	610,81 ± 2,52	48,87	608,76 ± 1,02	51,75	964,04 ± 1,51	110,87
Parlar # 39	390,75 ± 0,46	31,26	536,76 ± 9,05	45,63	610,06 ± 4,11	70,16
Parlar#40+41	366,25 ± 0,65	29,30	352,82 ± 0,81	29,99	526,83 ± 9,69	60,59
Parlar # 42	313,25 ± 0,43	25,06	680,76 ± 1,37	57,87	880,60 ± 0,35	101,27
Parlar # 44	1694,25 ± 5,20	135,54	1860,53 ± 2,26	158,15	3565,43 ± 7,23	410,03
Parlar # 50	795,69 ± 4,20	61,26	870,24 ± 6,01	73,97	1644,02 ± 6,55	189,065
Parlar # 51	388,69 ± 0,29	31,01	494,45 ± 0,49	42,03	577,93 ± 7,58	66,46
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 62	274,25 ± 2,29	21,94	462,12 ± 5,61	39,28	880,83 ± 3,94	101,30
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
<b>Gesamt</b>	8590,44	687,24	10327,41	877,83	14919,07	1715,69
<b>Fett/Probe(g)</b>	0,16		0,17		0,23	
<b>% Fett</b>	8,00		8,50		11,50	

#### IV. Ergebnisse und Diskussion

**Tab. 42:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) der Fütterungsversuche (5 ppm) in Hühnchen-Niere mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse).

Toxaphen-komponente	18. Woche		28. Woche		38. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 25	232,36 ± 0,78 <sup>b</sup>	29,05	398,45 ± 3,50	43,83	615,13 ± 10,06	70,74
Parlar # 26	701,08 ± 0,37	87,69	1005,00 ± 1,78	110,55	2039,65 ± 2,99	234,56
Parlar#31+32	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 38	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 39	194,08 ± 0,18	24,26	253,95 ± 2,36	27,94	403,78 ± 4,43	46,44
Parlar#40+41	161,12 ± 0,17	20,14	239,77 ± 0,83	26,38	495,74 ± 8,25	57,01
Parlar # 42	171,20 ± 2,09	21,40	204,27 ± 1,17	22,47	503,43 ± 1,89	57,90
Parlar # 44	767,12 ± 3,15	95,89	994,41 ± 5,66	109,39	1973,65 ± 1,38	226,97
Parlar # 50	461,08 ± 2,10	57,64	571,55 ± 4,08	62,87	853,87 ± 2,32	98,20
Parlar # 51	139,08 ± 0,59	17,39	207,86 ± 0,02	22,87	351,22 ± 1,77	40,39
Parlar # 56	117,20 ± 0,47	14,65	149,82 ± 1,60	16,48	295,13 ± 3,83	33,94
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 62	190,72 ± 0,20	23,84	220,95 ± 2,30	24,31	497,35 ± 4,62	55,13
Parlar # 63	21,04 ± 0,01	2,63	32,59 ± 0,96	3,59	54,35 ± 0,29	6,25
Parlar # 69	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
<b>Gesamt</b>	3156,48	394,56	4278,64	470,65	8065,30	927,51
<b>Fett/Probe(g)</b>	0,25		0,22		0,23	
<b>% Fett</b>	12,50		11,00		11,50	

**Tab. 43:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) der Fütterungsversuche (5 ppm) in Hühnchen-Fleisch mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse).

Toxaphen-komponente	18. Woche		28. Woche		38. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	144,04 ± 0,47 <sup>b</sup>	5,19	324,10 ± 1,69	12,96	534,46 ± 0,29	13,90
Parlar # 25	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 26	819,10 ± 3,86	29,49	1548,10 ± 1,23	61,92	2535,23 ± 0,25	65,92
Parlar#31+32	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 38	256,02 ± 0,82	9,22	553,00 ± 4,39	22,12	842,31 ± 1,32	21,90
Parlar # 39	320,62 ± 1,27	11,54	721,40 ± 3,91	28,86	1557,69 ± 2,21	40,50
Parlar#40+41	137,82 ± 0,28	4,96	347,30 ± 0,52	13,89	542,77 ± 1,32	14,11
Parlar # 42	523,08 ± 1,36	18,83	1224,00 ± 1,99	48,96	2342,46 ± 0,89	60,90
Parlar # 44	911,50 ± 5,09	32,81	2132,90 ± 2,05	48,96	3275,54 ± 1,25	85,16
Parlar # 50	731,40 ± 0,68	26,33	1777,30 ± 7,63	85,32	2622,31 ± 1,03	68,18
Parlar # 51	271,34 ± 3,59	9,77	708,20 ± 0,25	71,09	1354,46 ± 1,22	35,22
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	259,52 ± 0,08	9,34	537,20 ± 0,05	28,33	816,77 ± 0,28	21,24
Parlar # 62	869,91 ± 4,50	31,32	1879,00 ± 0,44	21,49	3771,85 ± 0,58	98,07
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
<b>Gesamt</b>	5244,34	188,80	11752,50	470,10	20195,85	525,09
<b>Fett/Probe(g)</b>	0,09		0,10		0,065	
<b>% Fett</b>	3,60		4,00		2,60	

n.n.= nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung

#### IV. Ergebnisse und Diskussion

**Tab. 44:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) der Fütterungsversuche (5 ppm) in Hühnchen-Haut mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse).

Toxaphen- komponente	18. Woche		28. Woche		38. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	74,75 ± 1,15 <sup>b</sup>	24,92	239,83 ± 3,28	102,91	292,48 ± 6,53	82,63
Parlar # 25	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 26	321,53 ± 2,89	107,18	537,03 ± 6,50	230,43	1533,33 ± 5,85	433,17
Parlar#31+32	76,49 ± 1,74	25,50	165,91 ± 2,04	71,19	260,23 ± 2,02	73,52
Parlar # 38	158,72 ± 1,55	52,91	265,68 ± 2,66	114,00	706,65 ± 5,47	199,63
Parlar # 39	167,57 ± 1,22	55,86	406,67 ± 3,93	174,50	980,93 ± 9,65	277,11
Parlar#40+41	139,39 ± 2,82	46,46	140,78 ± 3,72	60,41	395,58 ± 1,92	111,75
Parlar # 42	148,74 ± 3,71	49,58	405,14 ± 5,99	173,84	1855,54 ± 9,04	524,19
Parlar # 44	350,75 ± 2,95	116,92	763,77 ± 3,24	327,73	2412,58 ± 7,51	681,56
Parlar # 50	468,96 ± 1,84	156,32	761,49 ± 2,81	326,75	2186,64 ± 10,5	617,73
Parlar # 51	116,09 ± 3,39	38,70	368,49 ± 2,58	158,11	883,56 ± 6,68	249,61
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	214,12 ± 1,58	71,37	553,60 ± 1,01	237,55	1839,96 ± 9,57	519,79
Parlar # 59	254,34 ± 2,14	84,78	369,61 ± 8,26	158,60	682,16 ± 5,48	192,71
Parlar # 62	385,38 ± 5,61	128,46	888,86 ± 3,24	381,40	3317,65 ± 12,7	937,24
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	253,78 ± 4,67	84,59	558,58 ± 1,96	239,68	1006,39 ± 5,36	284,31
<b>Gesamt</b>	2876,83	990,63	5866,87	2643,10	18353,66	4985,28
<b>Fett/Probe(g)</b>	1,01		2,36		1,13	
<b>% Fett</b>	33,33		42,91		28,25	

**Tab. 45:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) der Fütterungsversuche (5 ppm) in Hühnchen-Blut mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse).

Toxaphene Komponente	18. Woche		28. Woche		38. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 25	173,90 ± 0,22 <sup>b</sup>	4,34	283,70 ± 0,99	10,06	470,00 ± 0,61	4,80
Parlar # 26	474,93 ± 2,45	11,86	852,48 ± 4,07	30,23	1073,82 ± 1,88	10,98
Parlar#31+32	158,45 ± 0,96	3,96	242,90 ± 0,98	8,61	481,73 ± 0,40	4,92
Parlar # 38	150,08 ± 1,28	3,75	203,04 ± 0,25	7,20	530,45 ± 0,85	5,42
Parlar # 39	173,63 ± 1,26	4,34	225,22 ± 2,26	7,99	292,00 ± 1,90	2,99
Parlar#40+41	92,80 ± 0,33	2,32	155,52 ± 0,10	5,51	245,18 ± 0,79	2,51
Parlar # 42	116,60 ± 0,68	2,91	406,24 ± 0,89	14,41	476,36 ± 2,03	4,87
Parlar # 44	545,48 ± 2,76	13,62	885,16 ± 3,76	31,39	1212,27 ± 1,59	12,39
Parlar # 50	413,65 ± 1,35	10,33	847,02 ± 6,35	30,04	998,27 ± 0,04	7,14
Parlar # 51	89,70 ± 1,42	2,24	177,24 ± 0,37	6,29	287,64 ± 0,74	2,94
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 62	112,88 ± 1,01	2,82	211,20 ± 5,66	7,49	655,27 ± 3,60	6,70
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
<b>Gesamt</b>	2502,08	62,47	4489,72	159,21	6723,00	65,66
<b>Fett/Probe(g)</b>	0,25		0,20		0,055	
<b>% Fett</b>	3,55		2,50		1,02	

n.n. = nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung

#### IV. Ergebnisse und Diskussion

**Tab. 46:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) der Fütterungsversuche (5 ppm) in Hühnchen-Eidotter mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD).

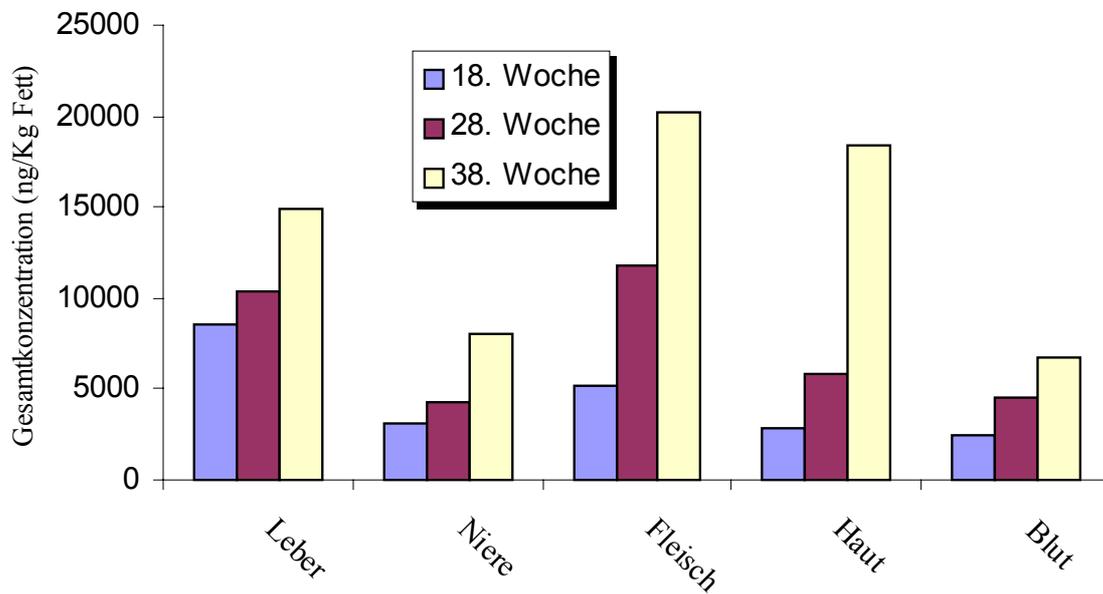
Toxaphen- komponente	1. Woche		4. Woche		12. Woche		20. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	29,71 ± 6,59 <sup>b</sup>	10,27	56,71 ± 10,58	19,83	136,30 ± 7,19	56,04	150,83 ± 5,76	51,06
Parlar # 25	72,65 ± 10,75	25,12	147,67 ± 3,60	51,64	222,75 ± 2,32	91,59	248,70 ± 5,54	84,20
Parlar # 26	107,21 ± 16,96	37,06	231,20 ± 5,61	80,85	300,31 ± 0,89	123,48	742,01 ± 5,72	251,21
Parlar#31+32	20,63 ± 3,01	7,13	40,04 ± 8,56	14,00	100,99 ± 0,49	41,53	112,28 ± 8,06	38,01
Parlar # 38	43,03 ± 7,64	14,88	92,30 ± 9,99	32,28	276,31 ± 12,38	113,61	291,14 ± 3,93	98,56
Parlar # 39	41,57 ± 7,69	14,37	89,35 ± 4,15	31,24	200,78 ± 23,58	82,56	231,77 ± 9,51	78,46
Parlar#40+41	26,84 ± 3,73	9,28	52,93 ± 1,13	18,51	141,34 ± 5,76	58,12	163,42 ± 8,65	55,33
Parlar # 42	120,69 ± 6,57	41,73	275,59 ± 5,68	96,37	636,22 ± 7,23	261,60	656,20 ± 5,95	222,15
Parlar # 44	107,85 ± 10,55	37,28	223,19 ± 6,73	78,05	505,09 ± 8,92	207,69	704,67 ± 2,80	238,56
Parlar # 50	94,77 ± 12,23	32,76	220,54 ± 7,98	77,12	526,27 ± 12,50	216,39	807,11 ± 2,86	273,24
Parlar # 51	53,91 ± 5,19	18,64	118,15 ± 5,79	41,32	262,43 ± 3,19	107,91	358,97 ± 3,36	121,53
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	23,51 ± 0,60	8,13	44,84 ± 7,15	15,68	138,60 ± 4,78	56,99	182,13 ± 5,54	61,66
Parlar # 62	47,72 ± 1,58	16,50	145,13 ± 2,60	50,75	446,28 ± 5,46	183,50	479,85 ± 1,72	162,45
Parlar # 63	1,58 ± 0,02	0,55	3,24 ± 0,21	1,13	7,09 ± 0,64	2,91	11,20 ± 0,59	3,79
Parlar # 69	22,44 ± 1,57	7,76	25,48 ± 4,84	8,91	92,74 ± 7,14	38,13	88,11 ± 0,35	29,83
<b>Gesamt</b>	814,09	281,45	1766,35	617,70	3993,48	1642,06	5228,38	1770,05
<b>Fett/Probe(g)</b>	2,79		2,35		2,5		3,86	
<b>% Fett</b>	34,57		34,97		41,12		33,85	

n.n.= nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung

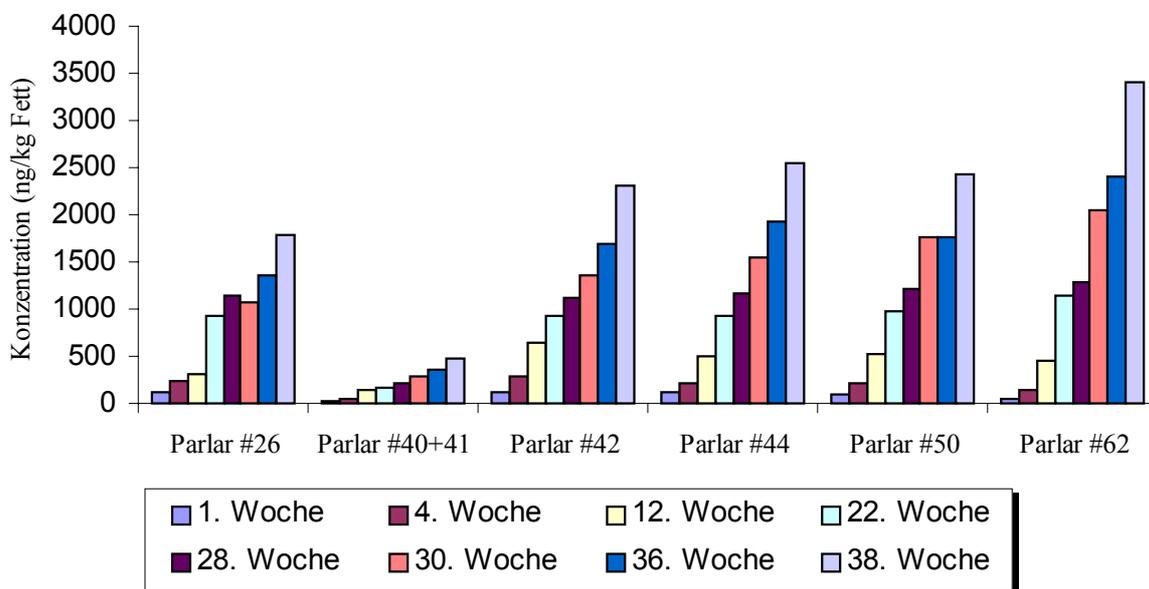
Fortsetzung Tab. 46

Toxaphen- komponente	22. Woche		28. Woche		30. Woche		36. Woche		38. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	169,05±1,33 <sup>b</sup>	62,13	215,38 ±4,85	74,84	191,44 ±8,89	54,56	245,84 ±3,60	69,45	349,04 ±1,09	109,08
Parlar # 25	288,72 ±0,92	106,11	373,90 ±9,17	129,93	513,35 ±6,19	146,30	785,88 ±2,64	222,01	851,06 ±1,66	265,96
Parlar # 26	925,71 ±3,14	340,20	1153,13±6,38	400,71	1065,61±1,95	303,70	1348,33±4,25	380,90	1782,04±1,97	556,89
Parlar#31+32	116,97 ±5,52	42,99	132,05 ±1,49	45,89	175,62 ±0,12	50,05	217,81 ±8,50	61,53	297,56±0,91	92,99
Parlar # 38	306,99 ±0,83	112,82	380,23 ±3,60	132,13	428,71 ±1,27	122,18	628,58 ±4,34	177,57	860,21 ±1,54	268,82
Parlar # 39	321,84 ±9,07	118,27	380,30 ±4,14	132,15	616,29 ±3,15	175,64	719,61 ±6,06	203,29	1018,04±1,01	318,14
Parlar#40+41	168,18 ±4,14	61,81	206,35 ±1,66	71,71	296,59 ±1,28	84,53	351,12 ±2,19	99,19	467,20 ±4,21	146,00
Parlar # 42	917,63 ±8,23	337,23	1114,95±3,54	387,45	1353,32±3,05	385,70	1682,92±8,01	457,42	2313,63±1,66	723,01
Parlar # 44	933,00 ±5,54	342,88	1167,11±5,54	405,57	1537,74±1,46	438,25	1927,11±3,42	544,41	2538,47±8,48	793,27
Parlar # 50	976,66 ±0,49	258,92	1204,58±7,51	418,59	1763,18±7,52	502,51	1763,87±6,58	498,29	2421,57±4,36	756,74
Parlar # 51	409,32 ±7,82	150,42	484,53 ± 9,67	168,37	704,19 ±2,88	200,69	815,69±0,54	230,43	1063,48±4,56	332,33
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	305,23 ±4,20	112,17	331,80 ±2,67	115,30	311,61 ±1,55	88,81	628,83 ±0,29	177,64	740,11 ±1,40	231,29
Parlar # 62	1148,07±4,27	421,92	1294,73±0,70	449,92	2054,49±2,60	585,53	2401,05±8,26	678,30	3415,24±8,64	1098,51
Parlar # 63	23,13 ±0,80	8,50	32,03 ±0,85	11,13	86,83 ±0,11	24,75	92,45 ± 0,54	26,12	139,21 ±0,30	43,50
Parlar # 69	112,12 ±2,17	41,20	151,31 ±1,43	52,58	286,64 ±5,02	81,69	390,73 ±4,01	110,38	443,83 ±1,05	138,70
<b>Gesamt</b>	7122,62	2617,56	8622,37	2996,28	11385,62	3244,89	13999,82	3954,95	18800,68	5875,22
<b>Fett/Probe(g)</b>	1,47		1,39		1,14		1,13		1,25	
<b>% Fett</b>	36,75		34,75		28,50		28,25		31,25	

n.n.= nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung

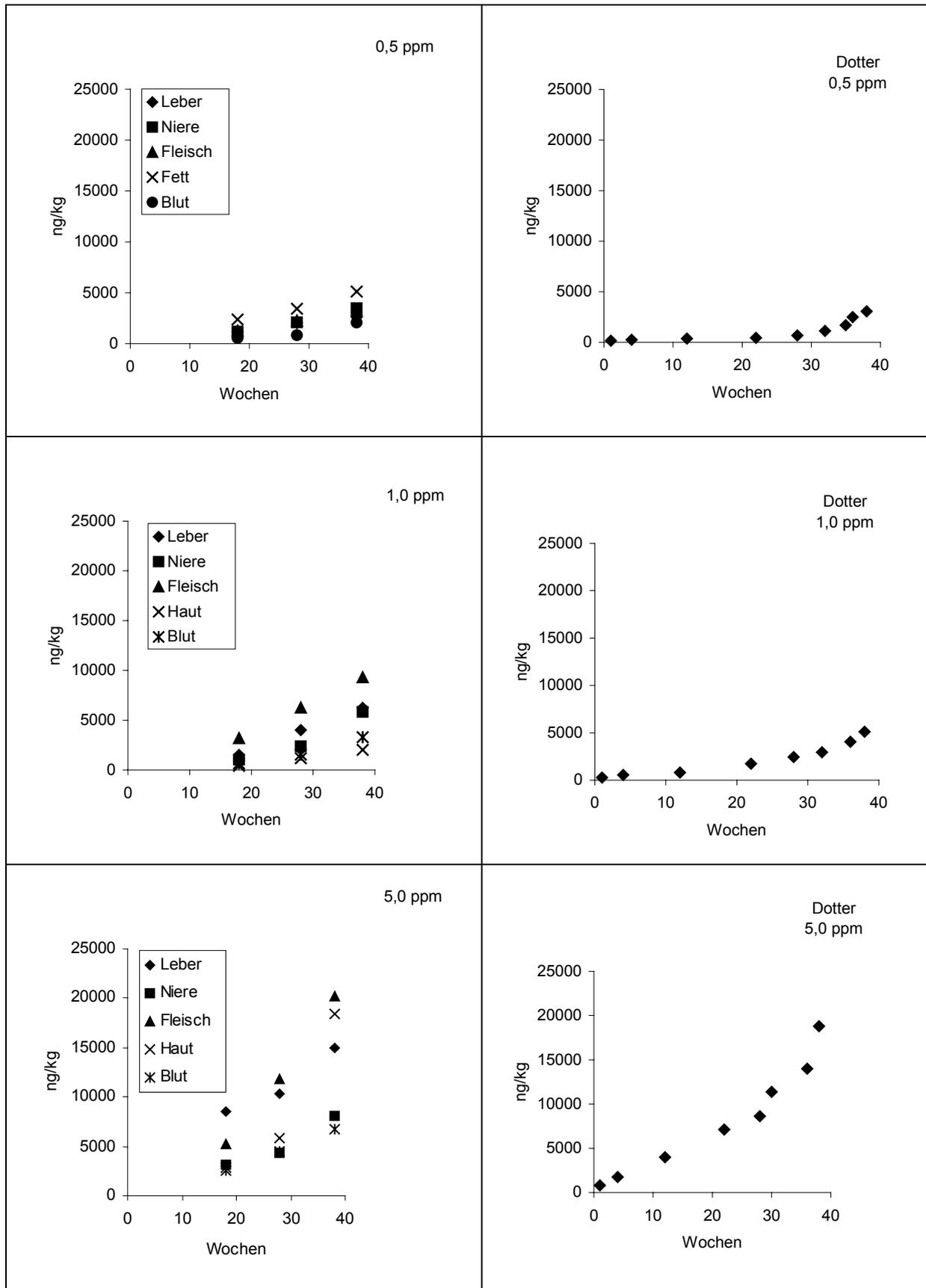


**Abb. 21:** Gesamtkonzentration von Toxaphenkomponenten in Hühnchen bei Applikation von 5,0 ppm Toxaphen



**Abb. 22:** Konzentrationen verschiedener Toxaphenkomponenten in Hühnchen-Eidotter während der Anreicherungsphase bei Applikation von 5,0 ppm Toxaphen; Quantifizierung mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse)

#### IV. Ergebnisse und Diskussion



**Abb. 22:** Anreicherungsrate von Toxaphen in Leber, Niere, Fleisch bzw. Fett und Dotter von Hühnchen in Abhängigkeit von der Dosierung

**Tab. 47:** Regressionskoeffizienten für die unterschiedlichen Näherungsberechnungen

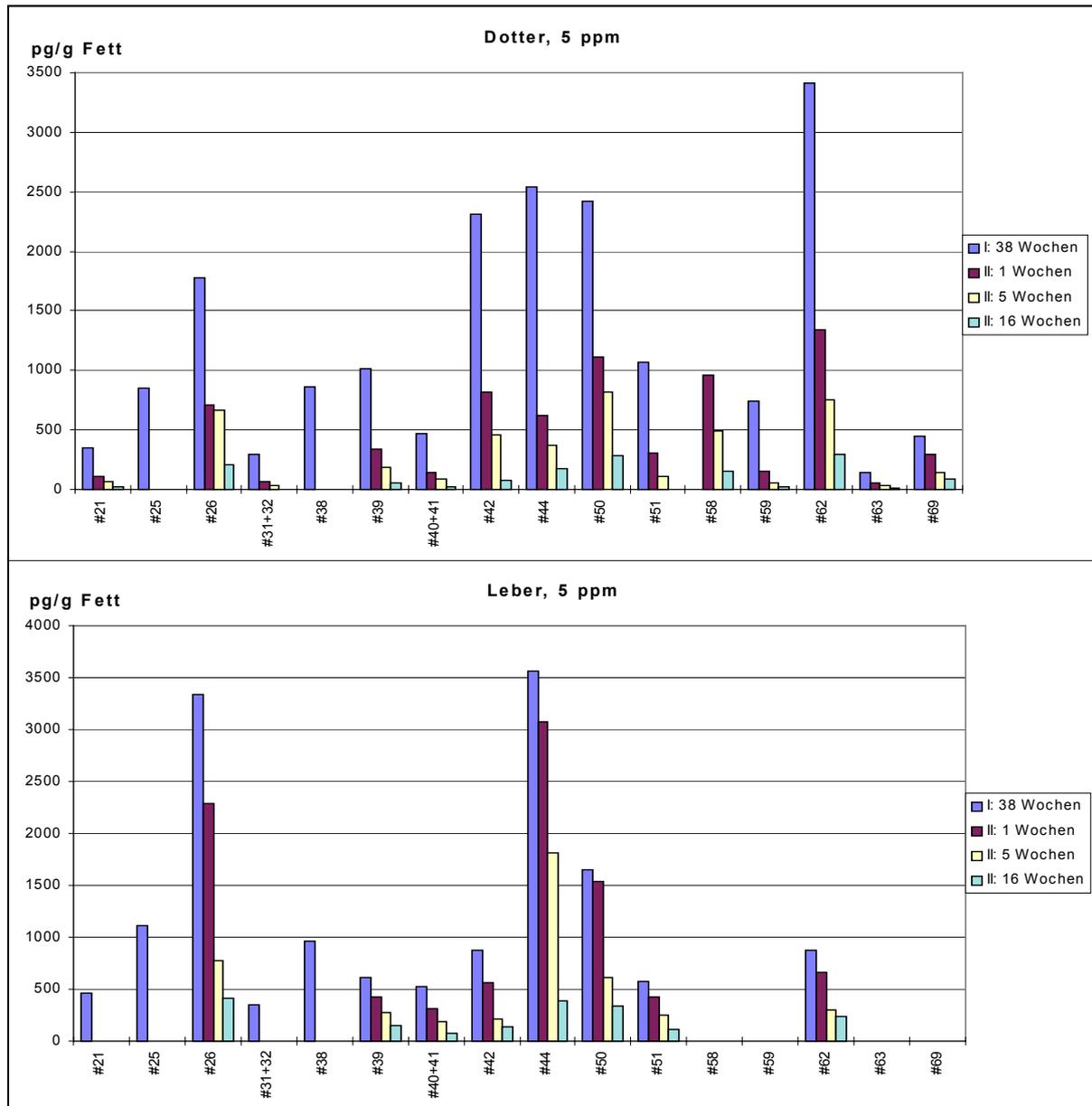
Organ	ppm	Lineare Regression (R <sup>2</sup> )	Potentielle Regression (R <sup>2</sup> )
Leber	0,5	0,9823	0,988
	1,0	0,9988	0,9958
	5,0	0,9365	0,8889
Niere	0,5	0,9866	0,9956
	1,0	0,9407	0,9723
	5,0	0,9106	0,8822
Fleisch	0,5	0,9995	1,000
	1,0	0,9998	1,000
	5,0	0,9944	0,9986
Blut	0,5	0,8791	0,8680
	1,0	0,9998	1,000
	5,0	0,9989	0,998
Dotter	0,5	0,677	0,7332
	1,0	0,8955	0,9057
	5,0	0,9157	0,9604
Haut	1,0	0,9993	0,9988
	5,0	0,8885	0,9223
Fett	0,5	0,9876	0,9832

#### 2.4 Konzentrationsverlauf in der Abklingphase der Fütterungsversuche

Während dieser Phase änderten sich die Verhältnisse der Komponenten zueinander erneut. Die Ergebnisse dieser Analysen finden sich in den **Tab. 48-53**. Die nachweisbaren Komponenten waren wieder #26, #39, #40+41, #42, #44, #50 #51 und #62, während #11, #12 und #15 nicht mehr gefunden wurden. Für Fettproben liegen bei dieser Konzentration keine Werte vor. **Abb. 24** zeigt den Konzentrationsverlauf am Beispiel der Dotterproben. Diese enthielten mehr Komponenten als die Leber, teils in Konzentrationen über 1500 ng/kg Fett. Vier der im Dotter nachgewiesenen Komponenten (#58, #59, #63 und #69) waren in der Leber überhaupt nicht zu finden, nicht einmal während der Expositionsphase, während andere (#21, #25, #31+32 und #38) in der Leber zwar im Verlauf der Exposition geringfügig akkumuliert wurden, hingegen nach Beendigung der Exposition schon im Verlauf der ersten Woche verschwanden. Ob dies durch Ausscheidung und/oder Abbau verursacht wurde, lässt sich ohne eingehendere Untersuchungen der Metabolite noch nicht entscheiden. Insgesamt waren die Konzentrationen in Leber und Dotter nach 16 Wochen stark gesunken, mit Spitzenwerten einzelner Kongenere von 413 ng/kg Fett in der Leber (#26) und 297 ng/kg Fett im Eidotter (#62).

In der Leber betrug die Gesamtkonzentration der Toxaphenkomponenten nach einer Woche 9288,88 ng/kg Fett und nach fünf Wochen 4429,71 ng/kg Fett. In der Leber nahm die Gesamtkonzentration um 52,31% ab (**Tab. 48**). In derselben Zeitspanne konnte eine

Erniedrigung in den Dotterproben um 39,18% gefunden werden. In der Niere nimmt die Gesamtkonzentration zwischen der 1. und 5. Woche um 24,45 % ab, und verringert sich um weitere 40,15 % zwischen 5. und 16. Woche der Abklingphase. Auffällig war im Blut die Erniedrigung der Gesamtkonzentration um 45,50% zwischen der 1. und 3. Woche. Sie sank in der Folgezeit um weitere 79,53% bis zur 16. Woche (**Tab. 52**). Eine mögliche Erklärung dafür ist der schnelle metabolische Abbau der Toxaphenkomponenten im Blut.



**Abb. 24:** Kongenerzusammensetzung in Dotter und Leber während der Akkumulationsphase (I: nach 38 Wochen) und der Dekontaminierungs-/Abklingphase (II: nach 1, 5 und 16 Wochen)

IV. Ergebnisse und Diskussion

**Tab. 48:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) in der Abklingphase in Hühnchen-Leber mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse).

Toxaphen- komponente	1. Woche		3. Woche		5. Woche		8. Woche		16. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 25	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 26	2293,5±2,80 <sup>b</sup>	366,96	983,45 ± 3,57	98,35	769,93± 1,58	107,79	448,58±8,28	53,83	412,81±3,07	63,99
Parlar#31+32	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 38	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 39	424,16± 3,11	67,87	365,70± 1,05	36,57	274,71± 0,31	38,46	190,08±2,81	22,81	154,48±0,04	23,95
Parlar#40+41	309,47± 0,34	49,52	300,20± 3,22	30,02	188,46± 0,06	26,39	100,75±0,95	12,09	74,00±0,63	11,47
Parlar # 42	557,69± 3,13	89,23	277,10± 3,14	27,71	212,07± 0,96	29,69	181,75±0,71	21,81	131,84±1,31	20,44
Parlar # 44	3079,59±7,56	492,74	2146,20±7,56	214,62	1815,8± 3,36	254,21	475,08±6,65	57,01	391,74±1,88	60,72
Parlar # 50	1540,75±2,66	246,52	735,20± 1,67	73,52	616,36± 7,18	86,29	348,25±0,62	41,79	332,77±1,78	51,58
Parlar # 51	424,50± 6,08	67,92	307,70± 1,53	30,77	251,32± 0,58	35,19	142,25±0,91	17,07	114,55±1,14	17,76
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 62	659,22± 2,59	105,48	439,95± 2,88	44,00	301,11± 1,23	42,16	263,38±0,84	31,61	240,13±0,04	37,22
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
<b>Gesamt</b>	9288,88	1486,22	5555,50	555,55	4429,71	620,16	2150,13	258,02	1852,32	287,11
<b>Fett/Probe(g)</b>	0,32		0,20		0,28		0,24		0,31	
<b>% Fett</b>	16,00		10,00		14,00		12,00		15,50	

n.n.= nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung

## IV. Ergebnisse und Diskussion

**Tab. 49:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) in der Abklingphase in Hühnchen-Niere mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse).

Toxaphene Komponente	1. Woche		2. Woche		3. Woche		5. Woche		8. Woche		16. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 25	337,45±1,76 <sup>b</sup>	37,12	329,50±4,05	32,95	222,08±1,05	32,20	191,25±2,62	19,13	128,26±1,73	16,03	36,93±0,01	6,28
Parlar # 26	822,7±5,90	90,50	805,05±0,02	80,51	778,72±4,28	112,91	691,3±4,20	69,13	492,76±3,01	61,60	325,9±3,24	55,40
Parlar#31+32	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 38	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 39	285,4±1,64	31,39	261,05±1,80	26,11	253,68±2,19	36,78	243,95±0,35	24,40	197,41±0,15	24,68	153,62±1,52	26,12
Parlar#40+41	262,25±1,11	28,85	212,41±1,02	21,24	199,84±1,81	28,98	181,25±0,28	18,13	158,88±2,46	19,86	88,90±1,18	15,11
Parlar # 42	196,85±0,30	21,65	170,68±1,74	17,07	162,08±0,36	23,50	156,55±0,42	15,66	118,38±2,44	14,80	80,05±1,25	13,61
Parlar # 44	1011,5±4,51	111,27	905,51±4,40	90,55	860,24±8,04	124,73	785,59±0,32	78,56	717,12±1,27	89,64	546,79±2,02	92,95
Parlar # 50	550,25±2,50	60,53	458,18±6,12	45,82	380,58±3,44	55,18	330,15±2,42	33,02	297,53±0,10	37,19	287,45±5,25	48,87
Parlar # 51	220,9±1,40	24,30	203,41±0,46	20,34	200,96±1,17	29,14	170,30±0,81	17,03	142,03±0,82	17,75	85,48±6,67	14,53
Parlar # 56	258,85±0,38	28,47	240,73±3,11	24,34	199,12±1,99	28,87	210,50±0,90	21,05	180,62±1,58	22,58	163,59±0,78	27,81
Parlar # 58	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 59	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 62	358,1±1,65	39,39	311,41±1,6	31,14	267,80±0,32	38,83	291,85±0,53	29,19	208,09±1,55	26,01	173,28±0,86	29,46
Parlar # 63	33,7±0,66	3,71	32,59±2,48	3,26	26,36±0,79	3,82	24,60±0,99	2,46	15,56±0,14	1,95	19,34±0,28	3,29
Parlar # 69	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
<b>Gesamt</b>	4337,95	477,17	3930,52	393,05	3551,46	514,96	3277,29	327,73	2656,64	332,08	1961,33	333,43
<b>Fett/Probe(g)</b>	0,22		0,20		0,29		0,20		0,25		0,34	
<b>% Fett</b>	11,00		10,00		14,50		10,00		12,50		17,00	

n.n.= nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung

#### IV. Ergebnisse und Diskussion

**Tab. 50:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) in der Abklingphase in Hühnchen-Fleisch mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse).

Toxaphen- komponente	1. Woche		2. Woche		5. Woche		8. Woche		16. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	408,50±3,11 <sup>b</sup>	13,07	279,89± 1,19	10,08	190,00± 1,69	6,08	161,57±0,30	4,52	67,88± 1,46	6,52
Parlar # 25	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 26	2083,63±3,92	66,68	1438,22±0,06	51,78	1223,75±7,30	39,16	236,86±0,89	6,63	236,29±4,16	22,68
Parlar#31+32	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 38	1212,75±2,53	38,81	713,56±0,24	25,69	1102,75±0,34	35,29	585,57±0,20	16,40	436,21±0,49	41,88
Parlar # 39	897,63±4,66	28,72	618,11±0,57	22,25	326,63±2,17	10,45	404,71±0,46	11,33	179,29±3,05	17,21
Parlar#40+41	407,38±3,16	13,04	325,00±0,39	11,70	200,50±1,02	6,42	124,71±0,09	3,49	59,38±1,80	5,70
Parlar # 42	1521,00±3,36	48,67	1501,44±0,61	54,05	751,38±4,10	24,04	329,00±0,20	9,21	180,83±1,93	17,36
Parlar # 44	3474,38±5,76	111,18	1889,00±0,75	68,00	1546,00±5,62	49,47	886,00±0,21	24,81	588,04±1,23	56,45
Parlar # 50	2651,88±1,95	84,86	2109,44±0,95	75,94	1294,50±3,75	41,42	575,57±0,6	16,12	361,67±2,27	34,72
Parlar # 51	821,00±7,68	26,27	691,22±0,65	24,88	343,25±0,71	10,98	255,86±0,32	7,16	128,42±0,56	12,33
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	1803,38±5,25	57,71	1451,33±3,05	52,25	878,25±6,12	28,10	377,71±2,37	10,58	94,42±0,29	9,06
Parlar # 59	549,63±6,13	17,59	352,00±0,28	12,67	252,25±0,34	8,07	203,29±0,96	5,69	56,04±3,73	5,38
Parlar # 62	2618,50±6,73	83,79	2616,22±8,48	94,18	1562,75±3,05	50,01	527,00±2,88	14,76	356,04±1,19	34,18
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
<b>Gesamt</b>	18449,63	590,39	13985,44	503,48	9672,00	309,50	4667,86	130,70	2744,50	263,47
<b>Fett/Probe(g)</b>	0,08		0,09		0,08		0,07		0,24	
<b>% Fett</b>	3,20		3,60		3,20		2,80		9,60	

n.n.= nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung

**Tab. 51:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) in der Abklingversuche in Hühnchen-Haut mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse).

Toxaphen- komponente	1. Woche		3. Woche		5. Woche		8. Woche		16. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	124,08±0,42 <sup>b</sup>	27,30	99,94±0,07	32,48	83,22 ±3,53	33,71	63,61 ± 4,8	21,47	21,27 ± 0,08	7,61
Parlar # 25	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 26	1169,35±5,15	257,26	768,56±7,72	249,78	626,86 ±6,0	253,88	643,43 ±7,2	217,16	313,97±1,86	112,24
Parlar#31+32	92,82 ± 5,05	20,42	70,40 ± 2,66	22,88	53,31 ±0,34	21,59	39,67 ±3,9	13,39	13,25 ± 0,27	4,74
Parlar # 38	557,61±11,71	122,68	448,78±7,19	145,85	270,81 ±9,7	109,68	227,19 ±3,2	76,68	114,12±5,11	40,80
Parlar # 39	539,42 ± 1,14	118,67	395,64±10,2	128,58	353,78 ±0,1	143,28	298,81 ±1,8	100,85	67,39 ± 0,04	24,09
Parlar#40+41	209,28 ± 3,26	46,04	172,45±12,55	56,05	155,69 ±2,5	63,05	118,55 ±1,9	40,01	44,29 ± 2,42	15,83
Parlar # 42	1163,36±2,74	255,94	861,13 ± 2,93	279,87	763,47 ±6,8	309,21	616,95 ±6,5	208,22	127,64±1,68	45,63
Parlar # 44	1102,38±9,66	242,52	782,21 ± 5,8	254,22	649,50	263,05	592,67 ±6,2	200,03	349,47±5,87	124,94
Parlar # 50	2002,33±8,07	440,52	1447,25 ± 2,1	470,36	1262,14±4,1	511,17	1200,46±4,9	405,16	568,25±1,15	203,15
Parlar # 51	388,34 ± 2,75	85,44	297,38 ± 3,13	96,65	263,85 ± 6,6	106,86	152,60 ± 0,8	51,50	95,15 ± 1,06	34,02
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	1638,24±4,64	360,41	1202,07 ± 6,8	390,67	1150,86±3,3	466,10	1074,12±3,8	362,52	393,23±2,86	140,58
Parlar # 59	237,93 ± 1,51	52,35	176,62 ± 6,91	57,40	160,70 ± 9,2	65,09	139,75 ± 2,8	47,17	122,87±1,40	43,93
Parlar # 62	2535,82±0,05	557,88	1890,86±6,08	614,53	1773,62±6,9	718,32	1523,94±2,6	514,33	733,78±7,10	262,33
Parlar # 63	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 69	894,23 ± 0,65	196,73	618,92 ± 0,68	201,15	583,41±2,03	236,28	477,85 ±5,5	161,28	283,06±3,41	101,20
<b>Gesamt</b>	12655,19	2784,14	9232,22	3000,47	8151,23	3301,25	7169,60	2419,74	3247,73	1161,07
<b>Fett/Probe(g)</b>	0,88		1,3		1,62		1,35		1,43	
<b>% Fett</b>	22,00		32,50		40,50		33,75		35,75	

n.n.= nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung

#### IV. Ergebnisse und Diskussion

**Tab. 52:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) in der Abklingphase in Hühnchen-Blut mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse).

Toxaphen- komponente	1. Woche		2. Woche		3. Woche		8. Woche		16. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe								
Parlar # 11	n.n.	n.n.								
Parlar # 12	n.n.	n.n.								
Parlar # 15	n.n.	n.n.								
Parlar # 21	n.n.	n.n.								
Parlar # 25	225,59 ± 4,90	5,23	223,24 ± 2,78	3,42	181,86±1,92	2,51	137,52±1,84	2,98	56,57 ± 1,42	2,09
Parlar # 26	798,88 ± 2,80	16,35	708,59 ± 2,72	10,86	393,32±2,13	5,44	328,14±3,39	7,12	75,00 ± 2,60	2,77
Parlar#31+32	249,84 ± 3,97	5,11	229,88 ± 2,44	3,52	175,63±1,17	2,43	141,21±2,07	3,06	44,15 ± 1,29	1,63
Parlar # 38	244,25 ± 3,08	5,00	183,37 ± 9,36	2,81	120,71±3,80	1,67	101,30±1,37	2,20	25,83 ± 3,53	0,95
Parlar # 39	289,38 ± 4,60	5,92	213,06 ± 7,18	3,26	197,98±2,43	2,74	138,60±1,83	3,01	28,23 ± 2,52	1,04
Parlar#40+41	195,22 ± 1,24	3,99	163,56 ± 3,96	2,51	115,95±1,52	1,60	88,60 ± 1,75	1,92	26,02 ± 1,27	0,96
Parlar # 42	420,97 ± 2,36	8,61	381,28 ± 2,71	5,84	287,57±1,08	3,97	221,22±2,54	4,80	56,83 ± 5,53	2,10
Parlar # 44	1121,88 ± 4,9	22,95	1060,25 ± 3,1	16,24	639,57±3,06	8,84	495,30±2,45	10,75	83,51 ± 3,07	3,09
Parlar # 50	886,41± 2,82	18,14	761,43 ± 4,78	11,67	332,38±1,39	4,59	234,79±1,39	5,10	45,69 ± 2,46	1,69
Parlar # 51	269,00 ±3,04	5,50	238,65 ± 1,26	3,66	194,25±2,41	2,68	125,94±2,78	2,73	73,99 ± 1,07	2,73
Parlar # 56	n.n.	n.n.								
Parlar # 58	n.n.	n.n.								
Parlar # 59	n.n.	n.n.								
Parlar # 62	490,06 ± 2,41	10,03	331,08 ± 2,09	5,07	206,46±1,81	2,85	162,43±1,56	3,53	66,71 ± 5,55	2,46
Parlar # 63	n.n.	n.n.								
Parlar # 69	n.n.	n.n.								
<b>Gesamt</b>	5221,47	106,83	4494,41	68,86	2845,68	39,33	2175,04	47,20	582,52	21,52
<b>Fett/Probe(g)</b>	0,16		0,20		0,14		0,07		0,08	
<b>% Fett</b>	2,05		1,11		1,38		0,79		0,99	

n.n.= nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung

#### IV. Ergebnisse und Diskussion

**Tab. 53:** Quantifizierung der Toxaphenrückstände (ng/kg) in der Abklingphase in Hühnchen-Eidotter mit dem 22 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse).

Toxaphen- komponente	1. Woche		3. Woche		4. Woche		5. Woche		6. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe	ng/kg Fett	ng/kg Probe
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	104,47±1,19 <sup>b</sup>	33,43	81,10±1,38	26,76	75,26±1,59	27,09	63,26±1,23	21,19	41,80±0,65	14,84
Parlar # 25	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 26	707,72±8,59	226,47	626,69±4,68	207,80	543,18±2,97	195,55	665,75±2,98	223,03	433,34±1,14	153,84
Parlar#31+32	70,09±0,21	22,43	44,37±3,40	14,64	42,39±5,05	15,26	32,49±2,17	10,88	19,48±3,83	6,92
Parlar # 38	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 39	337,37±2,93	107,96	248,03±9,65	81,85	210,36±2,84	75,73	188,72±2,96	63,22	128,33±1,05	45,56
Parlar#40+41	144,02±8,06	46,09	111,21±0,72	36,70	90,74±1,92	32,67	87,18±1,71	29,21	52,01±5,53	18,47
Parlar # 42	823,05±0,88	263,38	604,23±1,98	199,40	543,92±6,90	195,81	457,58±4,83	153,29	254,48±2,03	90,34
Parlar # 44	616,46±2,55	197,27	539,55±1,12	178,05	412,17±4,23	148,38	374,04±4,20	125,30	293,52±1,78	104,20
Parlar # 50	1107,75±1,23	354,48	912,99±1,29	301,29	749,81±6,99	269,93	812,47±2,88	272,18	518,22±1,39	183,97
Parlar # 51	306,17±8,22	97,98	184,92±6,66	61,02	168,93±3,33	60,82	113,19±1,38	37,92	74,86±1,03	26,58
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	955,64±4,87	305,81	707,04±1,31	233,32	576,43±9,80	207,52	494,53±1,75	165,67	304,01±0,50	107,92
Parlar # 59	155,36±2,79	49,72	99,83±8,58	32,95	89,70±8,25	32,29	53,84±3,50	18,04	40,21±3,61	14,28
Parlar # 62	1341,58±1,91	429,31	1022,34±1,82	337,37	837,78±8,46	301,60	757,05±1,24	253,61	487,54±4,42	173,08
Parlar # 63	52,13±1,05	16,68	39,09±0,52	12,90	30,28±3,08	10,90	27,54±1,32	9,23	17,53±0,47	6,22
Parlar # 69	290,22±1,51	92,87	207,58±1,24	68,50	174,08±1,78	62,67	137,20±0,48	45,96	108,68±2,39	38,58
<b>Gesamt</b>	7012,03	2243,85	5431,98	1792,55	4545,02	1636,21	4264,84	1428,72	2774,01	984,77
<b>Fett/Probe(g)</b>	1,28		1,32		1,44		1,34		1,42	
<b>% Fett</b>	32,00		33,00		36,00		33,50		35,50	

n.n.= nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung

Fortsetzung Tab. 53

Toxaphen- komponente	8. Woche		10. Woche		12. Woche		16. Woche	
	ng/kg Fett	ng/kg Probe						
Parlar # 11	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 12	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 15	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 21	41,79 ± 1,46	13,79	23,95 ± 0,52	8,26	26,41 ± 1,46	9,18	19,96 ± 0,58	6,89
Parlar # 25	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 26	418,39 ± 6,80	138,07	267,59 ± 3,69	92,32	232,86 ± 5,91	80,92	208,10 ± 5,68	71,80
Parlar#31+32	14,70 ± 1,70	4,85	13,22 ± 5,13	4,56	10,42 ± 0,20	3,62	n.n.	n.n.
Parlar # 38	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 39	129,15 ± 2,55	42,62	80,62±6,09	27,81	64,92 ± 0,92	22,56	53,40 ± 8,01	18,42
Parlar#40+41	51,96 ± 1,39	17,15	31,86 ± 0,12	10,99	26,71 ± 0,40	9,28	25,34 ± 1,65	8,74
Parlar # 42	241,12 ± 6,54	79,57	129,13 ± 6,81	44,55	109,80 ± 2,05	38,16	75,22 ± 1,81	25,95
Parlar # 44	256,50 ± 2,84	84,65	178,73 ± 2,47	61,66	188,60 ± ,72	65,54	177,45 ± 3,5	61,22
Parlar # 50	516,89 ± 2,16	170,58	340,86 ± 7,92	117,60	283,21 ± 0,47	98,42	278,05 ± 1,13	95,93
Parlar # 51	78,25 ± 1,05	25,82	41,45 ± 4,74	14,30	48,93 ± 0,69	17,00	n.n.	n.n.
Parlar # 56	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
Parlar # 58	343,43 ± 9,06	113,33	201,74 ± 6,72	69,60	181,44 ± 0,35	63,05	152,37 ± 1,59	52,57
Parlar # 59	43,35 ± 0,30	14,31	25,75± 1,76	8,88	26,94 ± 1,23	9,36	17,91 ± 1,22	6,18
Parlar # 62	516,24 ± 2,08	170,36	307,78 ± 4,79	106,19	288,05 ± 4,45	100,10	296,93 ± 3,25	102,44
Parlar # 63	18,39 ± 1,91	6,07	10,60 ± 0,44	3,66	11,19 ± 0,17	3,89	10,50 ± 0,70	3,62
Parlar # 69	114,83 ± 0,95	37,89	90,62 ± 1,59	31,26	90,45 ± 0,06	31,43	85,07 ± 3,46	29,35
<b>Gesamt</b>	2758,00	919,05	1743,88	601,64	1589,93	552,50	1400,29	483,10
<b>Fett/Probe(g)</b>	1,32		1,38		1,39		1,38	
<b>% Fett</b>	33,00		34,50		34,75		34,50	

n.n. = nicht nachgewiesen , b = Standardabweichung

### 3. Halbwertszeiten der Toxaphenkomponenten in Legehennen.

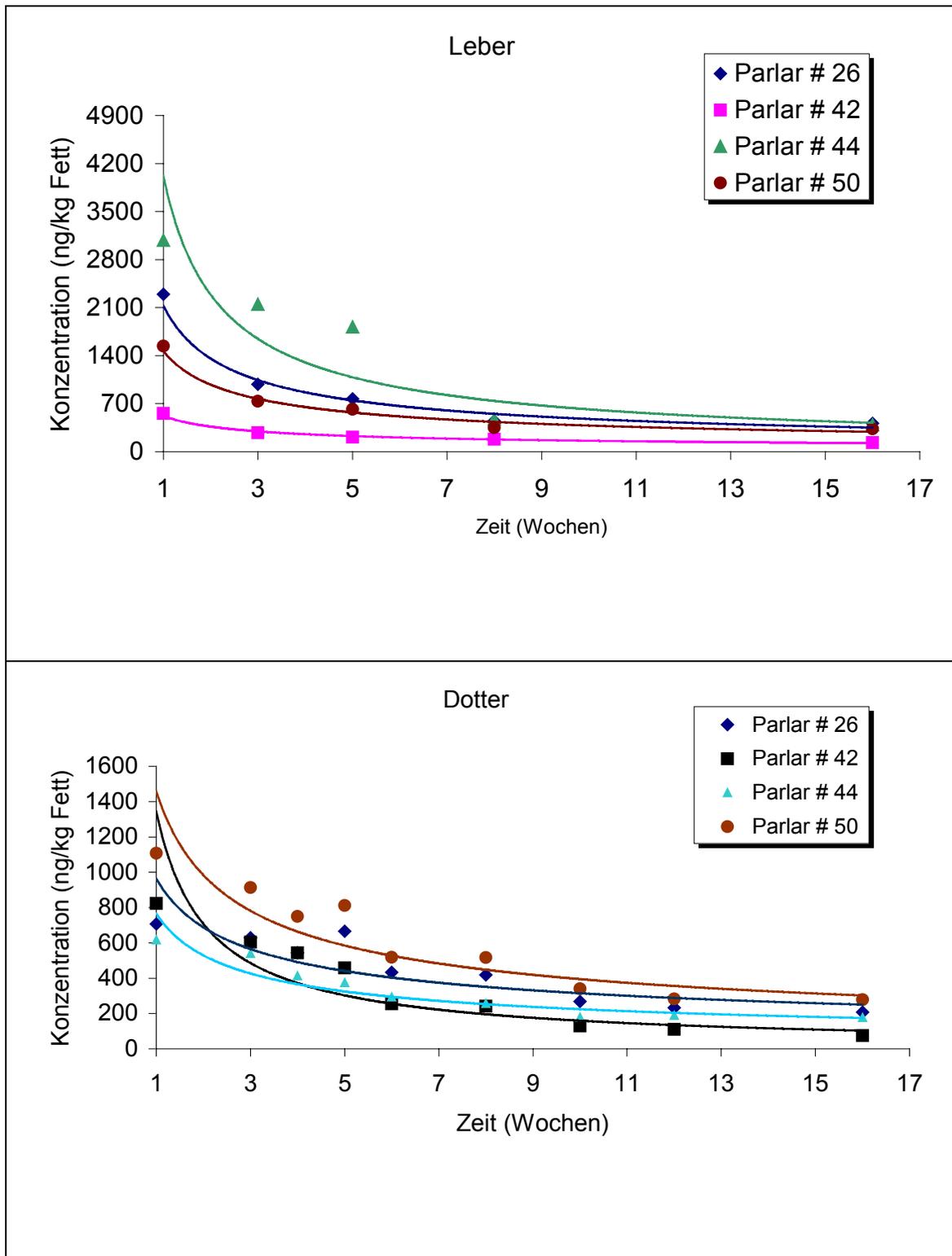
In der Abklingphase wurden 18 Hennen mit 5 ppm für die Dauer von 38 Wochen (266 Tage) gefüttert. Danach wurden die Hühner mit unkontaminiertem Futter genährt (vgl. Kap. II., 1.4.2). In Tab. 55 sind die Halbwertszeiten der ermittelten Toxaphenkomponenten in der Abklingphase (112 Tage) in den untersuchten Organen gezeigt. Wie schon erwähnt, konnten die Komponenten #26, #39, #40+41, #42, #44, #50 #51 und #62 in allen Legehühnerproben gefunden werden, während #21, #58 und #59 nur in Fleisch, Haut und Dotter, sowie #11, #12, #15 und #56 überhaupt nicht nachgewiesen wurden (vgl. Kap. IV., 2.4).

Die Halbwertszeiten von #26 sind von Probenart zu Probenart unterschiedlich; beispielsweise betragen sie in der Leber 49 Tage, aber im Blut nur 8 Tage. In den Nierenproben sind sie am längsten, am kürzesten im Blut. Die Halbwertszeiten von #50 sind in den Nieren und in Haut jeweils 130 und 63 Tage, aber in Leber und Blut jeweils 54 und 10 Tage. Abb. 24 zeigt die Biodegradation für vier ausgewählte Komponenten in der Leber und im Eidotter. #63 wurde ausschließlich in Nieren- und Dotterproben gefunden, mit Halbwertszeiten von 120 und 41 Tagen. Ähnliches gilt auch für #69, nur in Haut und Dotter mit Halbwertszeiten von jeweils 69 und 61 Tagen nachgewiesen. Da das Blut viele Enzyme enthält, betragen die Halbwertszeiten hier lediglich wenige Tage im Vergleich zu den anderen.

**Tab. 55:** Halbwertszeiten ( $T_{1/2}$ ) für den 22 Komponenten-Toxaphenstandard in verschiedenen Legehühner-Proben

Toxaphenkomponente	Leber	Niere	Fleisch	Blut	Haut	Dotter
Parlar # 21	n.n.	n.n.	44,11	n.n.	41,36	40,88
Parlar # 25	n.n.	32,90	n.n.	4,79	n.n.	n.n.
Parlar # 26	48,91	74,08	32,03	7,97	62,29	51,56
Parlar # 31+32	n.n.	n.n.	n.n.	5,80	37,82	26,97
Parlar # 38	n.n.	n.n.	91,55	7,38	46,79	n.n.
Parlar # 39	70,94	119,51	51,51	7,53	35,81	37,50
Parlar # 40+41	47,15	73,63	38,30	6,78	46,79	37,73
Parlar # 42	60,20	83,80	32,24	6,68	33,44	28,10
Parlar # 44	33,53	127,35	45,69	8,71	69,41	52,34
Parlar # 50	53,85	130,43	36,02	10,28	62,53	46,79
Parlar # 51	56,22	76,65	39,80	4,73	51,40	27,17
Parlar # 58	n.n.	n.n.	24,42	n.n.	54,03	37,64
Parlar # 59	n.n.	n.n.	34,44	n.n.	126,68	34,31
Parlar # 62	82,52	106,87	33,55	6,76	61,97	43,52
Parlar # 63	n.n.	120,40	n.n.	n.n.	n.n.	41,33
Parlar # 69	n.n.	n.n.	n.n.	n.n.	68,73	61,34

n.n. = nicht nachgewiesen,  $T_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda}$



**Abb. 24:** Abnahme der Toxaphenrückstände (Parlar #26, #42, #44, #50) in Hühnchenleber und Eidotter im Verlauf der Zeit nach der Fütterung.

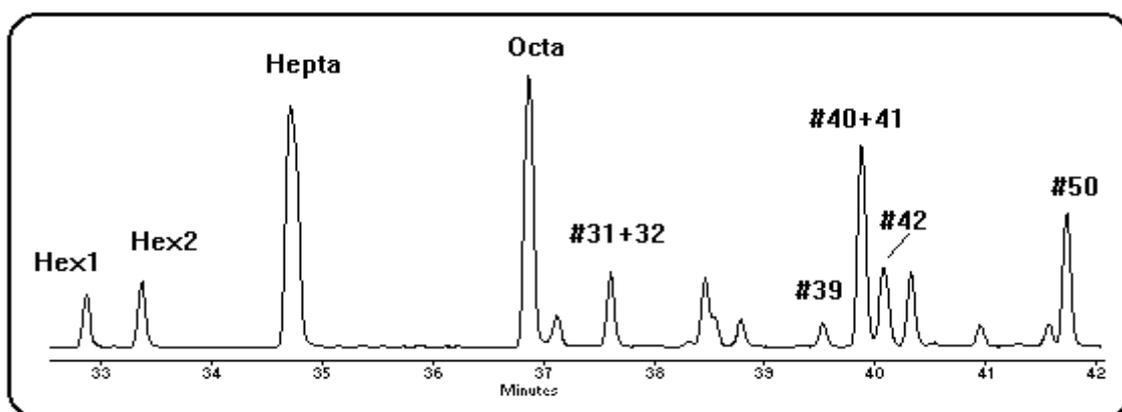
#### 4. Quantifizierung einzelner Toxaphenkomponenten in Organ-, Gewebe-, Blut- und Eidotter-Proben von Legehühnern durch Vergleich mit dem Toxaphenmuster eines 9 Komponenten-Standards

Der 9 Komponenten-Standard besteht aus 2 Hexachlor- (M1 und M2), einem Heptachlor-, einem Octachlortoxaphen (B8-1412) sowie #31+32 (Summenpeak), #39, #40+41 (Summenpeak), #42, und #50 (Abb. 25). In Tab. 56 sind die quantitativen Ergebnisse der GC-ECD-Analysen verschiedener Legehühnerproben (Leber, Niere, Fleisch, Fett, Haut, Blut und Eidotter), die mit Hilfe dieses Standards erzielt wurden, aufgelistet.

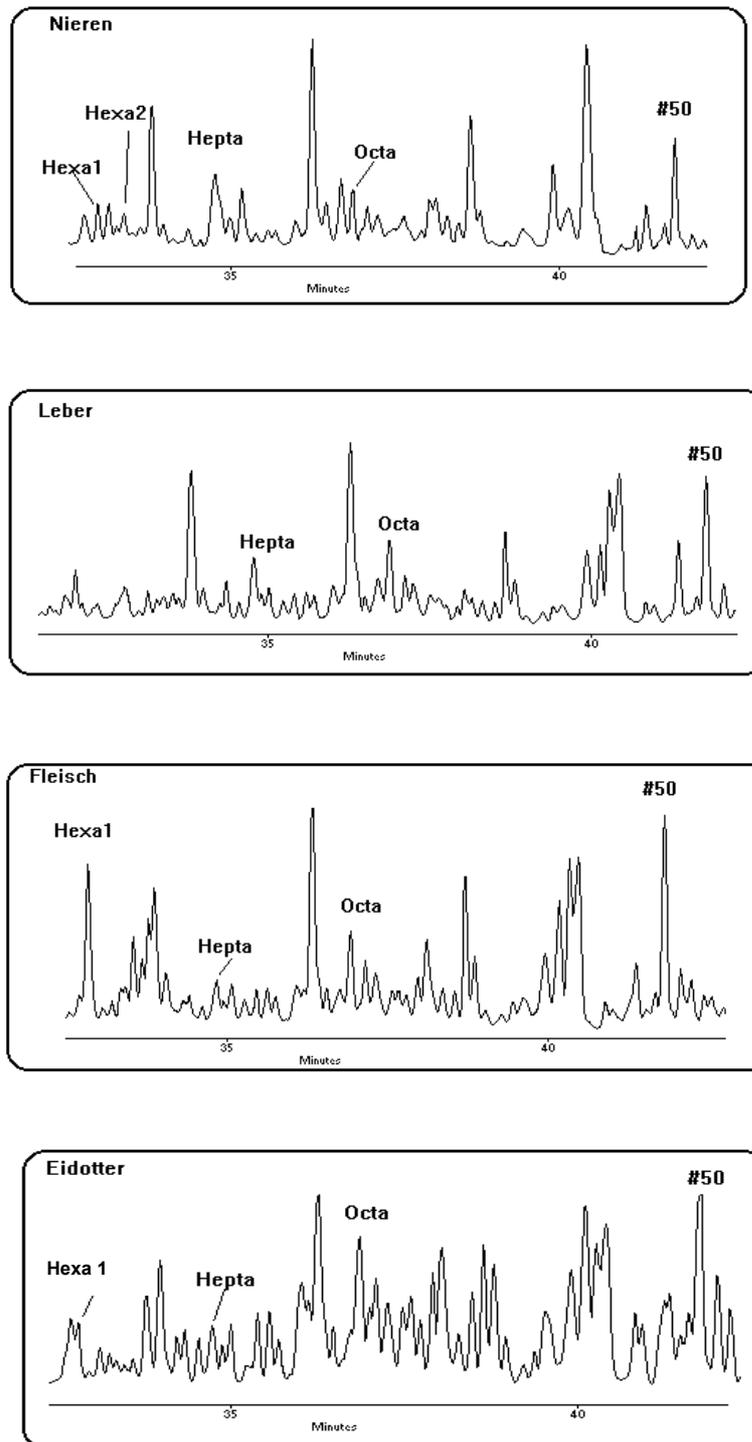
**Tab. 56:** Quantifizierung von Toxaphenrückständen ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ ) mit dem 9 Komponenten-Standard (HRGC-ECD-Analyse).

Toxaphenkomponente	Leber	Niere	Fleisch	Dotter	Haut	Fett	Blut
Hexachlor- (M1)	1,4168	2,6720	0,9748	1,5368	n.n.	1,1354	0,5359
Hexachlor- (M2)	5,4909	3,1196	8,5744	4,7145	n.n.	1,1530	n.n.
Heptachlor	0,7348	0,8787	0,5667	0,9051	0,0970	0,1441	n.n.
Octachlor- (B8-1412)	1,0618	0,5057	7,6161	3,4348	0,3137	0,5904	0,3255
Parlar # 31+32	0,1871	0,2983	0,1029	0,7128	0,0252	0,1272	0,0858
Parlar # 39	0,3229	0,2716	0,1386	0,1232	0,0951	0,1816	0,0581
Parlar # 40+41	0,3183	0,2388	0,2540	0,6375	0,0618	0,1417	0,0632
Parlar # 42	0,8618	0,4616	0,7456	0,2279	0,2503	0,5952	0,2683
Parlar # 50	0,1411	0,4951	0,1280	0,3126	0,5466	0,1043	0,2133

n.n. = nicht nachgewiesen.



**Abb. 25:** HRGC-ECD-Referenzchromatogramm des 9 Komponenten-Standards (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$  DB 5, J&W Scientific) zur Ermittlung der Responsefaktoren.



**Abb 26:** GC/ECD-Chromatogramm von Hexa-, Hepta-, Octachlortoxaphen in Nieren-, Leber-, Fleisch- und Eidotter-Proben von Legehennen.

## 5. Qualitative Bestimmung von Toxaphenkongeneren in Legehühnerproben

### 5.1 Allgemeine Anmerkungen

Die während der Anfertigung dieser Arbeit gemachten Erfahrungen führten zu der Erkenntnis, dass die anfängliche Herangehensweise an die Untersuchung eines derart komplexen Gemisches, wie das des Toxaphens, mittels GC/ECD-Analyse völlig unzureichend war. Das traf insbesondere deshalb zu, weil keine Vergleichsdaten aus der Literatur für die entsprechende Spezies vorlagen und es völlig unklar war, ob die zu bestimmende Substanzklasse in der zu untersuchenden Probenmatrix überhaupt angereichert wird. Dieses lässt sich auf alle noch nicht erfassten Substanzklassen, insbesondere auf komplexe chlororganische Gemische übertragen. Die durch HRGC/MS-Analyse erzielten und abgesicherten Ergebnisse der erstmalig umfassenden Bestimmung von Toxaphenkongeneren in Seevogeleiern wurden als Grundlage für jegliche weitere Zielrichtung herangezogen, wobei zunächst die Verwendbarkeit des oben genannten Detektionssystems zu prüfen war.

### 5.2 Charakterisierung bisher mittels HRGC/ECD-Analyse detektierter Toxaphenkongenerer in den verschiedenen Tierkörper- und Eidotter-Proben von Legehühnern und Absicherung durch HRGC/MS-Analyse

Zur Charakterisierung und Quantifizierung der nachgewiesenen Toxaphenkongenerer wurden Gesamtproben von Leber, Niere, Fleisch, Haut und Eidotter von Legehühnern eingesetzt.

#### 5.2.1 Hexachlortoxaphene

Die von Swackhamer et al. [218] vorgeschlagenen Massen zur Erfassung der Hexachlortoxaphene (vgl. Kap. 5.3, Tab. 19) erwiesen sich als wenig sinnvoll, da nicht alle Hexachlortoxaphene ausschließlich ein  $[M]^-$ -Cluster bilden (Tab. 57). Durch eine breitere Auswahl der Massen wurden die Hexachlortoxaphene erfasst, die ein  $[M-Cl]^-$ - oder auch  $[M-HCl]^-$ -Cluster bilden, zumal bekannt war, dass die drei im 22-Komponenten-Standard enthaltenen Hexachlorcamphene Parlar #11, #12 und #15 sich ähnlich verhalten.

Tab. 56 zeigt 13 Hexachlortoxaphenkomponenten in verschiedenen Organen, von denen 5 als Komponenten des Technischen Toxaphens bekannt sind. Parlar #11 wurde ausschließlich in Leber, Niere und Eidotter nachgewiesen. Die Leber- und Nieren-Proben wiesen die höchste Anzahl (insgesamt 11 Komponenten) an hexachlorierten Toxaphenen auf. Die Hexachlortoxaphene wurden außerdem in keiner der Hühnerfleischproben nachgewiesen. In der Leber,

der Niere und der Haut wurden lediglich zwei Hexachlortoxaphenkomponenten mit den RRI-Werten 0,4389 und 0,5040 nachgewiesen. Diese Komponenten sind aber nicht im Technischen Toxaphen (Comphechlor) nachzuweisen (**Tab. 57**).

Das Kongener Nr. 13 zeigt unter ECNI-Bedingungen ein [M-Cl]<sup>-</sup>-Cluster als Hauptfragment. Entscheidende Hinweise aus der Literatur (Fingerling, 1995 [191]) erhärten die Vermutung, dass es sich um das Enantiomer des Toxaphenkongeners Parlar M<sub>1</sub> handelt, ein dead-end-Metabolit, der in Lebertranproben [200], nach Fütterungsversuchen in den Fäzes von Säugern und Hühnern mit höheren Anteilen bei Hühnern (vgl. **Kap. 4.2.1.1, Tab. 17**), in Wasserproben (vgl. **Kap. 4.1.2, Tab. 13**), in Luftproben (vgl. **Kap. 4.1.1**) und nach experimentellen Studien in Böden als Hauptmetabolit des technischen Toxaphens, aber auch von Einzelkongeneren [177] nachgewiesen wurde.

**Tab. 57:** Hexachlortoxaphene in Leber-, Niere-, Dotter-, Haut- und Fleisch-Proben von Legehühnern (HRGC/MS-Analyse)

Nr	Retentionszeiten	#	Fragmentierung	Leber	Niere	Dotter	Haut	Fleisch	RRI	TG
1	20,55		[M] <sup>-</sup>	x	-	x	-	-	0,4070	-
2	22,16		[M] <sup>-</sup> , [M-HCl] <sup>-</sup>	x	x	-	x	-	0,4389	-
3	22,59		[M] <sup>-</sup> , [M-HCl] <sup>-</sup>	-	x	-	-	-	0,4474	-
4	23,18		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	-	-	-	0,4591	x
5	25,08		[M] <sup>-</sup>	x	-	-	x	-	0,4967	x
6	25,45		[M] <sup>-</sup> , [M-HCl] <sup>-</sup>	x	x	-	x	-	0,5040	-
7	25,54		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	-	-	-	0,5058	-
8	26,26		[M] <sup>-</sup> , [M-HCl] <sup>-</sup>	x	x	x	-	-	0,5201	x
9	27,09		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	-	x	-	-	-	0,5365	-
10	27,57		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	-	-	0,5460	x
11	28,36	#11	[M] <sup>-</sup> , [M-HCl] <sup>-</sup>	x	x	x	-	-	0,5617	x
12	30,40		[M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	-	-	-	0,6021	-
13	30,49	M <sub>1</sub>	[M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	-	-	-	0,6038	-

# = Nummerierung nach Parlar, x = nachweisbar, - = nicht nachweisbar, TG = technisches Toxaphengemisch (Camphechlor)

Die Anteile an Hexachlortoxaphenen in untersuchten Fisch- und Wasserproben sind entweder unbedeutend oder dort nicht nachzuweisen, da sie unter atmosphärischen Bedingungen einer schnelleren Degradation unterliegen [122,111]. Das konnte insbesondere in umfangreichen Untersuchungen bei Heringen, die eine der Hauptnahrungsquelle für Flußseeschwalben darstellen, bestätigt werden [22]. In allen 37 untersuchten Heringsproben waren die Hexachlorcamphene des 22-Komponenten-Standards nicht nachzuweisen, wobei andere Hexachlortoxaphene nicht erwähnt werden. Auch in weiteren 28 untersuchten Fischprodukten (Lebertrane, Fischöle, Haiöle) waren Parlar #11, #12 und #15 nur sehr selten bzw. meistens nicht nachweisbar [22].

### 5.2.2 Heptachlortoxaphene

**Tab. 58** zeigt die 17 Heptachlortoxaphenkomponenten (12 davon bekannt als Komponenten in Technischem Toxaphen), die in Legehühnerproben identifiziert wurden. Von den drei Heptachlortoxaphenen des 22-Komponenten-Standards konnten die Kongenere Parlar #21 und #25 in allen Hühnerproben eindeutig nachgewiesen werden. Lediglich Parlar #32 (2,2,5-endo,6-exo,8,9,10-Heptachlorbornan) war in keiner Probe zu finden.

In der Literatur wird dieses Heptachlorbornan auch als Indikatorkongener für eine erst kurzfristig stattgefundene Kontamination diskutiert, da das Molekül aufgrund seiner vicinalen Chlorsubstitution in C2- und C6- zur C1-Position unter Spannung steht, und daher als nicht stabil angesehen wird. Die Komponenten werden mit geminalen Dichlorgruppen im Ring (vgl. Kap. 4.2.1.3, Abb. 6), denen ein weiteres Chloratom in exo- oder endo-Stellung benachbart ist, leicht abgebaut. Diese hatten beispielsweise in Versuchen mit Bodenproben eine Halbwertszeit von nur wenigen Wochen. Befindet sich allerdings im Ring in der C2-Position eine geminale Dichlorgruppe, der kein weiteres Chloratom benachbart ist, so sind diese Komponenten relativ stabil [177,239].

**Tab. 58:** Heptachlortoxaphene in Leber-, Nieren-, Dotter-, Haut- und Fleisch-Proben von Legehühnern (HRGC/MS-Analyse)

Nr.	Retentionszeiten	#	Fragmentierung	Leber	Niere	Dotter	Haut	Fleisch	RRI	TG
1	25,25		[M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,5001	-
2	25,35		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	x	x	-	-	0,5020	-
3	25,40		[M] <sup>-</sup> , [M-HCl] <sup>-</sup>	-	-	-	x	-	0,5030	x
4	26,28		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	-	x	x	0,5205	-
5	26,50		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,5248	x
6	27,38		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	-	x	-	0,5422	-
7	29,34		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,5811	x
8	29,46		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,5834	x
9	30,11		[M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,5963	x
10	30,29		[M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	-	0,5999	-
11	31,00		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,6139	x
12	31,38		[M] <sup>-</sup> , [M-HCl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,6215	x
13	32,11		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	-	-	0,6359	-
14	32,17		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	-	x	-	0,6371	-
15	32,25	#21	[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,6387	x
16	33,30		[M] <sup>-</sup> , [M-HCl] <sup>-</sup>	x	x	-	x	x	0,6595	x
17	33,55	#25	[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,6644	x

# = Nummerierung nach Parlar, TG = technisches Toxaphengemisch (Camphechlor),  
x = nachweisbar, - = nicht nachweisbar.

### 5.2.3 Octachlortoxaphene

Ähnlich wie bei der Erfassung der Heptachlortoxaphene, wurden in den Legehühnerproben sehr viele Octachlortoxaphene nachgewiesen, wovon der Anteil bei den Hautproben mit 23 Octachlorkomponenten am höchsten war. Die Octachlortoxaphene Parlar #26, #31, #40, #41 und #44 des 22-Komponenten-Standards wurden in allen Proben gefunden. **Tab. 59** zeigt die Auflistung der insgesamt 25 in Hühnerproben gefundenen Octachlortoxaphenkomponenten, von denen 14 ebenfalls Bestandteil des Technischen Toxaphens sind.

**Tab. 59:** Octachlortoxaphene in Leber-, Nieren-, Dotter-, Haut- und Fleisch-Proben von Legehühnern (HRGC/MS-Analyse)

Nr.	Retentionszeiten	#	Fragmentierung	Leber	Niere	Dotter	Haut	Fleisch	RRI	TG
1	31,11		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	x	-	0,6161	-
2	33,59		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	-	x	x	x	-	0,6652	-
3	34,15	#26	[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,6763	x
4	34,27		[M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,6787	x
5	35,02		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,6936	-
6	35,22		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	x	-	0,6975	-
7	36,08	#31	[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,7145	x
8	36,24		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	-	-	0,7177	-
9	36,32		[M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	-	x	-	0,7193	-
10	36,45		[M] <sup>-</sup> , [M-HCl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,7219	-
11	36,59		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	-	x	x	-	0,7247	x
12	37,01		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	-	x	x	0,7330	-
13	37,23		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	-	x	x	x	-	0,7373	x
14	37,39		[M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,7405	x
15	37,48		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	-	0,7423	-
16	38,52		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	x	-	0,7629	x
17	39,29	#40+41	[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,7781	x
18	39,47		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	-	x	x	0,7817	x
19	40,04	#42	[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,7930	x
20	40,16		[M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,7954	x
21	40,25	#44	[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,7971	x
22	41,28		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	-	-	x	0,8175	x
23	41,48		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,8215	-
24	42,42		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	x	x	0,8401	x
25	42,59		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,8435	-

# = Nummerierung nach Parlar, TG = technisches Toxaphengemisch (Camphechlor),  
x = nachweisbar, - = nicht nachweisbar.

### 5.2.4 Nona- und Decachlortoxaphene

Das persistente Verhalten von Parlar #50 (B9-1679; 2-endo,3-exo,5-endo,6-exo,8,8,9,10,10-Nonachlorbornan) kann ähnlich wie für B8-1412 und #26 (B8-1413) durch die bereits erwähnten Untersuchungen an Seevögeln nur unterstrichen werden. **Tab. 60** zeigt 24 Nona- und 3 Decachlortoxaphenkomponenten in verschiedenen Legehühnerproben. 18 davon sind auch im Technischen Toxaphen vorhanden. In allen Proben wurden die Komponenten #50, #58, #62 und #63 nachgewiesen.

**Tab. 60:** Nona- und Decachlortoxaphene in Legehühnerproben (HRGC/MS-Analyse)

Nr.	Retentionszeiten	#	Fragmentierung	Leber	Niere	Dotter	Haut	Fleisch	RRI	TG
1	40,48		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	-	x	-	0,8017	-
2	41,09		[M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,8138	x
3	41,23		[M-Cl] <sup>-</sup>	x	-	-	-	-	0,8165	x
4	41,29		[M-Cl] <sup>-</sup>	x	-	x	x	x	0,8177	-
5	41,59	#50	[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,8237	x
6	42,16		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	x	x	0,8350	x
7	42,42		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	x	-	0,8401	-
8	43,07		[M-Cl] <sup>-</sup>	x	-	x	x	x	0,8530	x
9	43,31		[M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,8577	-
10	44,11		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	x	-	0,8736	x
11	44,21		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	x	-	0,8756	x
12	44,36		[M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,8785	x
13	44,53		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	x	x	0,8819	x
14	45,08	#58	[M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,8928	x
15	45,31		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	x	-	0,8973	x
16	46,12		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	x	-	0,9134	-
17	46,32		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	x	-	0,9173	x
18	46,45		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	-	-	x	0,9199	x
19	46,49	#62	[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	x	-	x	x	x	0,9296	x
20	47,14	#63	[M-Cl] <sup>-</sup>	x	x	x	x	x	0,9336	x
21	47,56		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	x	x	0,9419	x
22	48,16		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	x	x	0,9538	-
23	48,32		[M-Cl] <sup>-</sup>	x	-	x	x	x	0,9570	x
24	50,30		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	x	-	0,9962	-
Decachlortoxaphene										
Nr	Retentionszeiten	#	Fragmentierung	Leber	Niere	Dotter	Haut	Fleisch	RRI	TG
1	49,23		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	x	-	0,9750	-
2	51,33		[M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	x	-	1,0166	x
3	52,51		[M] <sup>-</sup> , [M-Cl] <sup>-</sup>	-	-	x	x	-	1,0399	-

# = Nummerierung nach Parlar, TG = technisches Toxaphengemisch (Camphechlor),  
x = nachweisbar, - = nicht nachweisbar.

In den von Kaltenecker et al. [211] und Schwind et al. [240] durchgeführten Untersuchungen konnte die Anreicherung von Parlar #58 in den Gewebeproben von Hühnern nach Verfütterung des 22-Komponenten-Standard ebenfalls beobachtet werden. Das Anrei-

cherungspotential von Parlar #58, aber auch #62, lag besonders in den Fett- und Dotterproben der Hühner in ähnlichen Bereichen wie für die persistenteren Kongenere Parlar #26, #40 und #50, aber auch #44 [240]. In den untersuchten Heringen wurde Parlar #58 nicht nachgewiesen [103], so dass an dieser Stelle über eine Entstehung von #58 durch Metabolisierung aus einem höher chlorierten Toxaphenkongener diskutiert werden kann.

## V. Zusammenfassung

Die kongenerspezifische Bestimmung und Quantifizierung des Insektizids Toxaphen wurde mit Hilfe der HRGC/ECD- und HRGC/ECNI-SIM-MS-Analyse nach der Fütterung von Legehennen in Leber-, Nieren-, Fleisch-, Haut-, Fett-, Blut- und Eidotter-Proben zeitabhängig durchgeführt. Obwohl Toxaphen ein kompliziertes Gemisch ist, das aus ca. 180 – 200 Hauptkomponenten besteht, wurde festgestellt, dass ein Großteil der Kongenere abgebaut und nicht gespeichert wird. Nur wenige Verbindungen, deren Stabilität in anderen Umweltkomponenten bereits unter Beweis gestellt wurde, reichern sich in den verschiedenen Organen und Eiern der Legehennen an. Die meisten davon konnten mit dem 22-Komponenten-Standard nach Parlar eindeutig identifiziert werden.

In der Reihe der Hexachlorbornane wurden 13 Verbindungen analysiert, von denen 5 als Komponenten des technischen Toxaphens bekannt sind. Parlar #11, ein Dihydrocamphen, konnte nur in Leber, Niere und Eidotter nachgewiesen werden. Hexachlorbornane konnten in keiner der Hühnerfleischproben detektiert werden. Ferner wurden in Niere und Haut lediglich zwei Hexachlortoxaphene registriert, die jedoch nicht im technischen Gemisch vorkommen. Diese Verbindungen konnten anhand der Massenspektren nicht eindeutig in ihren Strukturen aufgeklärt werden. Nur Kongener #13, das in einer früheren Arbeit am Lehrstuhl für Chemisch-Technische Analyse und Chemische Lebensmitteltechnologie der Technischen Universität München als „dead-end“-Metabolit bereits identifiziert worden war, konnte eindeutig zugeordnet werden.

Desweiteren wurden 17 Heptachlorbornane gaschromatographisch erfasst. Davon kommen 10 im technischen Toxaphengemisch vor. Die Kongenere #21 und #25 wurden in allen Proben nachgewiesen. Erstaunlicherweise konnte das Kongener #32 (2,2,5-endo,6-exo,8,9,10-Heptachlorbornan) in keiner der analysierten Proben identifiziert werden.

Die Arbeit zeigt, dass sich Octachlortoxaphene in allen Organen und auch Eiern sehr stark anreichern. Insgesamt 25 Komponenten konnten hier analysiert werden, wobei die Hauptkomponenten als Parlar #26, #31, #40, #41, #42 und #44 eindeutig zugeordnet werden konnten.

Nona- und Decachlorbornane sind nach der Fütterung vereinzelt in allen Proben detektiert worden. Insgesamt 25 Kongenere wurden dabei festgestellt und 4 davon – nämlich #50, #58, #62 und #63 – wurden mit Hilfe der Standards identifiziert.

Betrachtet man die Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen, so stellt man fest, dass für jedes Gewebe und Kongener ein spezifisches Anwendungsmuster existiert. Beispielsweise ergab sich bei der Fütterung von 0,5 ppm Toxaphen für die Leber nach 18 Wochen eine abnehmende Rückstandsmenge in der Reihenfolge #44 > #62 > #39 > #50 > #26 > #51 > #21 > #40+41 > #42. Nach 28 Wochen Fütterungsdauer war diese Reihenfolge nur leicht verändert. Bei Eidotterproben dagegen war Kongener #44 eindeutig die dominierende Komponente, gefolgt von #62 und #39.

Erhöht man den Toxaphengehalt im Futter auf 5 ppm, so stellt man fest, dass die Hauptkomponenten #44, #26 und #50 waren. Hierbei wurde ein Spitzenwert für #44 erreicht, nämlich bis zu 3,8 µg/kg.

Berücksichtigt man Parlar #44 als Modellverbindung, so lassen sich folgende Schlussfolgerungen ableiten:

1. Je höher der Toxaphengehalt im Futter und je länger die Fütterungsdauer ist, desto mehr Toxaphen wird angereichert.
2. Bei Konzentrationen von 0,5 ppm finden sich in der Niere und im Fett der Legehennen die relativ höchsten Toxaphenrückstände. Bei weiterer Erhöhung der Toxaphenkonzentrationen im Futter (1,0 und 5 ppm) wurden dagegen die Spitzenwerte in der Leber gefunden, gefolgt vom Fleisch.
3. Der Anreicherungsverlauf deutet darauf hin, dass Kongener #44 die vorherrschende Verbindung in Fleisch und Leber ist.
4. Bei Eidottern dominiert die Verbindung #62 als Mengenkongener. Hierbei wurden Konzentrationen bis zu 3500 pg/g Fett erreicht, wenn das Futter mit 5 ppm Toxaphen belastet war. Die Kongenere #44, #42, #50, #26 und #39 sind weitere Verbindungen, die sich in Eidottern anreichern.

Die Ergebnisse dieser Arbeit geben einen Überblick über das Anreicherungsverhalten aller Toxaphenkomponenten. Die wichtigsten Verbindungen konnten eindeutig identifiziert und gewichtet werden. Die Daten dieser Arbeit werden in der zukünftigen Rückstandsanalytik und Toxikologie von Toxaphen bei Legehennen und deren Eiern besondere Berücksichtigung finden.

## VI. Summary

The congeners of the insecticide toxaphene have been specifically and time-dependently determined by HRGC/ECD and HRGC/ECNI-SIM-MS analysis in cleaned-up liver, kidney, meat, fat, blood and egg yolk samples of laying hens fed with toxaphene-spiked food. Toxaphene is an extremely complex mixture of hexa- to decachlorinated bornanes, bornenes, camphenes and camphedienes. In technical toxaphene much less congeners (180 to 200 main components) have been detected thus far and a relative high percentage of them is biodegraded and not deposited. Only some of them, that have been already postulated to be persistent in various environmental compartments, were enriched in the different organ tissues and the eggs of the laying hens. A great part could be undoubtedly identified with the so-called 22 component standard mixture (named after Parlar).

Within the group of hexachlorobornanes thirteen congeners could be determined and five of them are well-known as constituents of technical toxaphene. Parlar #11, a dihydrocamphene, was only found in the tissue of liver and kidney, but also in egg yolk. It is worth to note that hexachlorobornanes could not be detected in any of the numerous meat samples. Two of the hexachlorotoxaphenes were deposited in kidney and skin. These congeners are definitely not constituents of technical toxaphene, but it was not possible to identify their chemical structure completely using different mass spectrometry techniques. Only congener #13, which has been formerly identified in a research study of the “Institute of Chemical Analysis and Chemical Food Technology” at the Technical University of Munich as “dead-end”-metabolite, could be significantly characterized by means of its fragmentation.

Furthermore, seventeen heptachlorobornanes were determined by HRGC/ECD analysis, but only ten of this fraction are constituents of technical toxaphene. The congeners #21 and #25 were found in all body tissue and egg samples and, surprisingly, Parlar #32 (2,2,5-endo,6-exo,8,9,10-heptachlorobornane) in none of the samples analyzed.

The thesis also demonstrates that especially octachlorotoxaphenes are enriched in all organs and in eggs. Twenty five components belonging to this group of toxaphenes were analyzed and Parlar #26, #31, #40, #41, #42 and #44 as main constituents.

Also some nona- and decachlorobornanes (24 congeners) could be detected by HRGC/ECD analysis using a DB5 capillary column. Four of them, Parlar #50, #58, #62 and #63, were identified by means of the standards and identification was additionally affirmed by HRGC/ECNI-SIM-MS analysis.

An overview of all results impressively shows that the distribution pattern of congeners is specific and characteristic for every tissue sample. For example, in the liver tissue of laying

hens, which have been fed with 0.5 ppm toxaphene as additive for eighteen weeks, the following congeners were accumulated in decreasing concentration order: #44 > #62 > #39 > #50 > #26 > #51 > #21 > #40+41 > #42. Ten weeks later, which means after a feeding period of seven months, the sequence of congeners was only slightly disordered. In egg yolk samples Parlar #44 was found to be dominating followed by #62 and #39, but in the series of feeding experiments with a ten-fold quantity of toxaphene (5 ppm) high amounts of Parlar #44, #26 and #50 were found. Congener #44 showed a maximum accumulation concentration of  $3.8 \mu\text{g kg}^{-1}$ .

When considering Parlar #44 as a model component, the following conclusions can be drawn:

1. Generally the accumulation in body tissue, blood, fat and egg yolk samples increases with increasing toxaphene content in the feed and feeding period of the laying hens.
2. Spiking with 0.5 ppm toxaphene causes the highest congener residues in kidney and fat samples of the hens. Two-fold (1 ppm) and ten-fold (5 ppm) concentration of technical toxaphene leads to maximum enrichment in liver followed by meat samples.
3. The toxaphene enrichment in fodder directly correlates with the accumulation of Parlar #44 as main compound in meat and liver samples.
4. In egg yolk Parlar #62 is found in the highest concentrations reaching values up to  $3.5 \mu\text{g g}^{-1}$  fat when the feed was spiked with 5 ppm toxaphene. The congeners #44, #42, #50, #26 and #39 are also deposited in considerable amounts.

The spectacular results of this thesis reflect an overview of the enrichment behaviour of all toxaphene components. The most important congeners could be identified and their impact estimated by interpreting the enantiomeric ratios determined. The data of these experiments will help to elucidate both the role of single toxaphene congeners in the residue analysis of laying hens and eggs and their toxicological effects.

## VII. Abkürzungsverzeichnis

#	Nummerierung nach Parlar
µg	Mikrogramm
2,4-D	2,4-Dichlorphenoxyessigsäure
22-Komp.-Standard	22-Komponenten-Standard (Numerierung nach Parlar.)
ACh	Acetylcholin
ADI	acceptable daily intake (duldbare Menge einer Substanz, die ein Mensch während seiner gesamten Lebenszeit täglich ohne gesundheitliche Folgen aufnehmen kann)
Ah-Rezeptor	aromatic-hydrocarbon-(Rezeptor)
ATP	Adenosintriphosphat
CB-Standard	Campechlor bestrahlt, d. h. technisches Toxaphen 2 h bei 254 nm bestrahlt
CHBs	chlorinated bornanes
CKW	Chlorkohlenwasserstoffe
CYP	Cytochrom P450
E.	Ehrenstorfer
ECD	Electron Capture Detector (Elektroneneinfangdetektor)
ECNI	electron capture negative ionization
EF	Enantiomerenfraktion
EI	Elektronenstoßionisation
EPA	Environmental Protection Agency
GABA	γ-Aminobuttersäure
GC/ECNI-MS	gaschromatographic electron capture negative ionisation-mass spectrometry
GPC	Gelpermeationschromatographie
Hp-Sed	Heptachlorbornan im Sediment (Boden)
Hx-Sed	Hexachlorbornan im Sediment (Boden)
LC <sub>50</sub>	Letale Konzentration im Wasser, bei der 50 % der Individuen eines Kollektivs sterben
LD <sub>50</sub>	Letale Konzentration, bei der 50 % der Individuen eines Kollektivs Sterben
LDL	low density lipoprotein
Lit.	Literatur(nachweis.)
LMBG	Lebensmittel- und Bedarfsgegenstandesgesetz
log K <sub>OW</sub>	n-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient
mRNA	messenger ribonucleic acid
MS	Massenspektrometer
NADPH	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat
NCB	Nonachlorbornan
NCI	Negative Chemical Ionization (Chemische Ionisation mit Nachweis negativer Ionen)
RRF	relativer Responsefaktor
RRI	relative Retentionsindices
RRT	relative Retentionszeit
RT S	Retentionszeit
SIM	selected ion monitoring (MS mit Zeitfenstern)
Tox A	Toxicant A (Tox A1 u. A2, Parlar #42a/b, B8-806/9)
Tox Ac	Toxicant Ac (Parlar #50, B9-1679, TOX9, T 12)
Tox B	Toxicant B (Parlar #32, B7-515)

Tox C	Toxicant C (B9-1327)
TOX7	Toxaphen 7 (B7-1453)
TOX8	Toxaphen 8 (Parlar #26, B8-1413, T 2)

## VIII. Literaturverzeichnis

- [1] Vetter, W.; Oehme, M.; (1999). in: Handbook of Environmental Chemistry Vol. 3, Part K, Hutzinger, O., Ed.; Springer: Berlin,
- [2] Muir, D., Stern, G. und H. Karlsson (1999): Congener and enantiomer specific studies on the environmental fate of toxaphene. *Organohalogen Compd.* 41: 565-568
- [3] Stern, G., Muir, D. C. G., Ford, C. A., Grift, N. P., Dewailly, E., Bidleman, T. F. und M. D. Walla (1992): Isolation and identification of two major recalcitrant toxaphene congeners in aquatic biota. *Environ. Sci. Technol.* 26: 1838-1840
- [4] Alder, L., Beck, H., Khandker, S., Karl, H. und K. Lehmann (1997): Levels of toxaphene indicator compounds in fish. *Chemosphere* 34: 1389-1400
- [5] Forth, W.; Henschler, D.; Rummel, W. (1990): Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 5. Aufl., BI Wissenschaftsverlag, Mannheim.
- [6] Voldner, E. C. und Li, Y. F. (1993): Global usage of toxaphene. *Chemosphere* 27: 2073-2078
- [7] Korte, R., Scheuner, I. und Parlar H. (1979): Toxaphene (Camphechlor): A special report. *Pure Appl. Chem.* 51: 1583-1601
- [8] Johnson, W. W. und M. T. Finley (1980): Handbook of acute toxicity of chemicals to fish and aquatic invertebrates. US fish and wildlife service; Resource Publication 137, Washington, DC
- [9] Vetter, W., Luckas, B. und M. Oehme (1992): Isolation and purification of the two main toxaphene congeners in marine organisms. *Chemosphere* 25: 1643-1652
- [10] Burhenne, J. (1993): Darstellung ökotoxikologisch relevanter Chlorbornane als Referenzsubstanzen für die rückstandsanalytische Bestimmung des Insektizides Toxaphen. Dissertation, Gh Kassel
- [11] Khalifa, S., Mon, T. R., Engel, J. L. und J. E. Casida (1974): Isolation of 2,2,3-endo,6-exo,8,9,10-heptachlorobornane and an octachloro toxicant from technical toxaphene. *J. Agric. Food Chem.* 22: 653-657
- [12] Turner, W. V., Khalifa, S. und J. E. Casida (1975): Toxaphene Toxicant A: Mixture of 2,2,5-endo, 6-exo,8,8,9,10-octachlorobornane and 2,2,5-endo, 6-exo, 8,9,9,10-octachlorobornane. *J. Agric. Food Chem.* 23: 991-994
- [13] Anagnostopoulos, M. L. und H. Parlar (1974): Isolierung, Identifizierung und Toxikologie einiger Toxaphenkomponenten. *Chemosphere* 3: 65-70
- [14] Chandurkar, P. und F. Matsumura (1979): Metabolism of toxaphene in rats. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 8: 1-24

- [15] Saleh, M. A. (1983): Capillary gas chromatography-electron impact and chemical ionization mass spectroscopy of toxaphene. *J. Agric. Food Chem.* 31: 748-751
- [16] Parlar, H., Michna, A., Korte, F. und D. Kotzias (1983): Ökochemische Bewertung des Insektizids Toxaphen. *Chemosphere* 12: 913-934 u. 1443-1458
- [17] Parlar, H. (1985): Analysis of toxaphene. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 20: 141-158
- [18] Chandurkar, P. und F. Matsumura (1979): Metabolism of toxicant B and toxicant C of toxaphene in rats. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 21: 539-547
- [19] U.S. PAT. 2546174 (04.08.1945/27.03.1951), Hercules Powder CO./W. Stonecipher, U.S.
- [20] U.S. PAT. 2545471 (06.09.1947/28.08.1951), Hercules Powder CO./G. A. Buntin, U.S.
- [21] Holmstead, R. S., Kalifa S. und J. E. Casida (1974): Toxaphene composition analyzed by combined gas chromatography-chemical ionization mass spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.* 24: 620-624
- [22] Zhu, J., Mulvihill, M. J. und R. J. Norstrom (1994): Characterization of technicaltoxaphene using combined high-performance liquid chromatography-gas chromatography-electron capture negative ionization mass spectrometry techniques. *J. Chromtogr. A* 669: 103-117
- [23] Jansson, B. und U. Wideqvist (1983): Analysis of toxaphene (PCC) and chlordane in biological samples by NCI mass spectrometry. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 13: 309-321
- [24] IARC - International Agency for Research on Cancer (1979): Toxaphene (polychlorinated camphenes). IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans 20: 327-348, IARC, Lyon, Frankreich
- [25] Metcalf, R. L. (1976): Organochlorine insecticides: survey and prospects. In: Metcalf, R. L. and J. J. McKelvey, (eds.), *Future for insecticide: needs and prospects. Advances in the environmental science and technology*, Vol. 6
- [26] O'Brien, R. (1967): *Insecticides action and metabolism*. Academic Press, New York, S 332.
- [27] Sanborn, J. R., Metcalf, R. L., Bruce, W. N. und P. Y. Lu (1976): The fate of chlordane and toxaphene in a terrestrial aquatic model ecosystem. *Environ. Entmol.* 5: 533-538
- [28] Merck Index (1989): *An encyclopedia of chemicals, drugs, and biological*: 11. Aufl., Merck & Co., Rahway, New Jersey, USA
- [29] Parlar, H., Nitz, S., Michna, A. und F. Korte (1978): Ein Beitrag zur Zusammensetzung des Insektizides „Toxaphen“. *Gaschromatographischmassen-spektrometrische*

- Charakterisierung eines öligen und eines kristallinen Anteils des technischen Toxaphens und dessen insektizide Wirkung. *Z. Naturforschung* 33b: 915-923
- [30] Hainzl, D., Burhenne, J. und H. Parlar (1994): Isolierung von Einzelsubstanzen für die Toxaphenanalytik. *GIT-Labor-Fachzeitschrift* 4: 285-294
- [31] Matsumura, F. (1985): *Toxicology of insecticides*. 2. Aufl., Plenum Press, New York, USA
- [32] Maier-Bode, H. (1965): *Pflanzenschutzmittel-Rückstände*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart
- [33] Canada, (1978): Department of National Health and Welfare: Guidelines for Canadian drinking water quality. Department of National Health and Welfare, Ottawa
- [34] Metcalf, R. L. (1955): *Organic Insecticides*. Interscience, New York
- [35] Brooks, G.T.(1974): *Chlorinated Insecticides*. Vol. 1: Technology and Applications. CRC Press, Cleveland, Ohio
- [36] Murphy, T., Mullin, M. D. und J. A. Meyer (1987): Equilibration of polychlorinated biphenyls and toxaphene with air and water. *Environ. Sci. Technol.* 21: 155-162
- [37] Bidleman, T. F., Wideqvist, U., Jansson, B. und R. Soderlund (1987): Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in the atmosphere of Southern Sweden. *Atmos. Environ.* 21: 641-654
- [38] Isnard, P. und S. Lambert (1989): Aqueous solubility and n-octanol/water partition coefficient correlations. *Chemosphere* 18: 1837-1857
- [39] Guyer, G. E.; Adkisson, P. L.; Dubals, K.; Menzie, C.; Nicholson, H.P.; Zweig, G. (1971): Toxaphen status report: Special report to Hazardous Materials Advisory Committee, U.S.EPA, PB-251 57615Sy. 171pp
- [40] Sergeant, D. B. und F. I. Onuska (1989): Analysis of toxaphene in environmental samples. In: Afghan, B. K. und A. S. Y. Chou (Hrsg.), *Analysis of traces organics in the aquatic environment* 3: 69-118, CRC Press Inc., Florida, USA
- [41] Paris, D. F., Lewis, D. L. und J. T. Barnett (1977): Bioconcentration of toxaphene by microorganisms. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 17: 564-572
- [42] Magnuson, V., Harris, D., Maanum, W. und M. Fulton (1979): ISHOW user's manual. Information system for hazardous organics in water. Department of Chemistry, Univ. of Minnesota, Duluth, USA
- [43] U.S.EPA: United States Environmental Protection Agency (1987): Health effects assessment for toxaphene. Environmental Criteria and Assessment Office, Cincinnati, OH. EPA-600/8-88/056

- [44] Jennings, B. H. und G. H. Herschlach (1965): The chlorination of camphene. *J. Org. Chem.* 30: 3902
- [45] Richey, H. G., Grant, J. E., Garbacik, T. J. und D. L. Dull (1965): Chlorination products of camphene. *J. Org. Chem.* 30: 3909
- [46] Krock, B., Vetter, W. und B. Luckas (1996): Structure elucidation of a main heptachloro congener of toxaphene in marine organisms after isolation from Melipax.. *Chemosphere* 33: 1005-1019
- [47] Krock, B. (1996): Zur Isolierung und Charakterisierung von TOX7, einem Toxaphen-Kongeneren in technischen Gemischen und Umweltproben; Dissertation, Friedrich-Schiller-Universität Jena
- [48] Hainzl, D. (1994): Isolierung und Identifizierung von C<sub>10</sub>-Chlorterpenen aus dem Insektizid Toxaphen. Dissertation, GH Kassel
- [49] Landrum, P. F., Pollock, G., Seiber, J., Hope, H. und L. Swanson. (1976): Toxaphene insecticide: Identification and toxicity of a dihydrocamphen component. *Chemosphere* 2: 63-69
- [50] Turner, W. V., Engel, J. L. und J. E. Casida (1977): Toxaphene components and related compounds: Preparation and toxicity of some hepta-, octa- and nonachlorobornanes, hexa- and heptachlorobornenes, and a hexachlorobornadiene. *J. Agric. Food Chem.* 25: 1394-1401
- [51] Burhenne, J., Hainzl, D., Xu, L., Vieth, B., Alder, L. und H. Parlar (1993): Preparation and structure of high-chlorinated bornane derivates for the quantification of toxaphene residues in environmental samples. *Fresenius J. Anal. Chem.* 346: 779-785
- [52] Nikiforov, V. A.; Tribulovich, V. G.; Bolshakov, S. (1996): Posterbeitrag, 1 st European Pesticide Residue workshop, Alkmaar, the Netherlands
- [53] Hainzl, D., Burhenne, J. und H. Parlar (1993): Isolation and characterization of environmental relevant single toxaphene components. *Chemosphere* 27: 1857-1863
- [54] Casida, J. E., Holmstead, R. L., Khalifa, S., Palmer, K. J., Knox, J. R., Oshawa, T. und R. Y. Wong (1974): Toxaphene insecticide: A complex biodegradable mixture. *Science* 183: 520-521
- [55] Saleh, M. A., Turner, W. V. und J. E. Casida (1977): Polychlorobornane components of toxaphene, structure toxicity relations and metabolic reductive dechlorination. *Science* 198: 1256-1258

- [56] Stern, G., Muir, D. C. G., Ford, C. A., Grift, N. P., Dewailly, E., Bidleman, T. F. und M. D. Walla (1992): Isolation and identification of two major recalcitrant toxaphene congeners in aquatic biota. *Environ. Sci. Technol.* 26: 1838-1840
- [57] Vetter, W., Scherer, G., Schlabach, M., Luckas, B. und M. Oehme (1994): An unequivocal <sup>1</sup>H-NMR structural assignment of TOX8 and TOX9, the most abundant toxaphene congeners in marine mammals. *Fresenius J. Anal. Chem.* 347: 552-558
- [58] Vetter, W. (1993): Zur Isolierung und Charakterisierung von Einzelstandards für die Bestimmung von Rückständen polychlorierter Multikomponentengemische; Dissertation, Universität Hohenheim
- [59] Vetter, W., Klobes, U., Krock, B., Luckas, B., Glotz, D. und G. Scherer (1997): Isolation, structure elucidation and identification of a further major toxaphene compound in environmental samples. *Environ. Sci. Technol.* 31: 3023-3028
- [60] Alawi, M., Barlas, H., Hainzl, D., Burhenne, J., Coelhan, M. und H. Parlar (1994): A contribution to the HRGC-MS and HRGC-ECD response factors of the environmental relevant toxaphene congeners. *Fresenius Environ. Bull.* 3: 350-357
- [61] Alder, L., Palavinskas, R., Nikiforov, V. A. und V. G. Tribulovich (1996): Relative response factors for toxaphene components using different detectors. *Organohalogen Compd.* 28: 423-428
- [62] Chandurkar, P. S., Matsumara, F. und T. Ikeda (1978): Identification and toxicity of toxicant Ac, a toxic component of toxaphene. *Chemosphere* 7: 123-130
- [63] Lach, G. und H. Parlar (1990): Quantification of toxaphene residues in fish and fish products using a new analytical standard. *Chemosphere* 21: 29-34
- [64] Hainzl, D., Burhenne, J., Barlas, H. und H. Parlar (1995): Spectroscopic characterization of environmentally relevant C<sub>10</sub>-chloroterpenes from a photochemically modified toxaphene standard. *Fresenius J. Anal. Chem.* 351: 271-285
- [65] Vetter, W., Klobes, U. und B. Luckas (1999): GC/MS analysis of 5-exo,6-exo,8,10-Tetrachlorodihydrocamphene and a heptachloro isolate from Melipax. *Organohalogen Compd.* 41: 621-624
- [66] Nikiforov, V. A., Tribulovich, V. G. und V. S. Karavan (1995): On the nomenclature of toxaphene congeners. *Organohalogen Compd.* 26: 393-396
- [67] Nikiforov, V. A., Tribulovich, V. G. und V. S. Karavan (1995): Experience in isolation and identification of toxaphene congeners and prospects of congener-specific analysis of environmental samples. *Organohalogen Compd.* 26: 379-382

- [68] Tribulovich, V. G., Nikiforov, V. A. und V. S. Karavan (1995): Use of chlorobornanes as analytical standards for toxaphene analysis. *Organohalogen Compd.* 26: 389-392
- [69] Vetter, W. (1998): Beiträge zur kongenerspezifischen und enantioselektiven Bestimmung von Rückständen des Organochlorpestizides Toxaphen in marinen Organismen. Habilitationsschrift, Biologisch-Pharmazeutische Fakultät, Friedrich-Schiller-Universität Jena
- [70] Gooch, J. W. und F. Matsumura (1985): Evaluation of the toxic components of toxaphene in Lake Michigan lake trout. *J. Agric. Food Chem.* 33: 844-848
- [71] Henschler, D. (1994): Toxikologie chlororganischer Verbindungen. VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo, ISBN 3-527-29262-4
- [72] Saleh, M. A. (1991): Toxaphene: chemistry, biochemistry, toxicity and environmental fate. *Rev. Environ. Cont. Toxicol.* 118: 1-85
- [73] U.S. Department of and human services (1996): Toxicological profile for toxaphene. ATSDR (Agency for toxic substances and disease registry), Atlanta, Georgia
- [74] U.S. Environmental Protection Agency (1988): Toxaphene. *Rev. Environ. Cont. Toxicol.* 104: 203-213
- [75] Jones, T. D. (1995): Toxicological potency of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-pdioxin relative to 100 other compounds: A relative potency analysis of in vitro and in vivo test data. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 29: 77-85
- [76] de Geus, H. -J., Besselink, H., Brouwer, A., Klungsøyr, J., McHugh, B., Nixon, E., Rimkus, G. G., Wester, P. G. und J. de Boer (1999): Environmental occurrence, analysis, and toxicology of toxaphene compounds. *Environ. Health Perspect.* 107: 115-144
- [77] Rao, K. S., Prasada, T. C., Morrow, W. und D. Desai (1986): Toxaphene inhibition of calmodulin-dependent calcium ATPase activity in the rat brain synaptosomes. *Fundam. Appl. Toxicol.* 6: 648-653
- [78] Chandra, J. und G. Durairaj (1992): Toxicity of toxaphene on histopathology of vital organs in guinea pig, *Cavia procellus*. *J. Environ. Biol.* 13: 315-322
- [79] Chu, I., Villeneuve, D. C., Sun, C. W., Secours, V., Procter, B., Arnold, E., Clegg, D., Reynolds, L. und V. E. Valli (1986): Toxicity of toxaphene in the rat and beagle dog. *Fundam. Appl. Toxicol.* 7: 7406-7418
- [80] Trottmann, C. und D. Desai (1980): Induction of rat hepatic microsomal enzymes by toxaphene pretreatment. *J. Environ. Sci. Health B.* 15: 121-134

- [81] Kavlock, R. J., Chernoff, N., Rogers, E., Whitehouse, D., Carver, B. und J. Gray (1982): An analysis of fetotoxicity using biochemical endpoints of organ differentiation. *Teratology* 26: 183-194
- [82] Chernoff, N. und B. D. Carver (1976): Fetal toxicity of toxaphene in rats and mice. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 15: 660-664
- [83] Marquardt, H. und S. G. Schäfer (1994): *Lehrbuch der Toxikologie*. BIWissenschaftsverlag; Mannheim; Leipzig; Wien; Zürich; ISBN 3-411-16321-6
- [84] Löscher, W., Ungemach, F. R. und R. Kroker (1991): *Grundlagen der Pharmakotherapie bei Haus- und Nutztieren*. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, ISBN 3-489-57416-8
- [85] Saleh, M. A. und J. N. Blancato (1993): Gamma aminobutyric acid radioreceptor assay: A confirmatory quantitative assay for toxaphene in environmental and biological samples. *Chemosphere* 27: 1907-1914
- [86] Lawrence, J. E. und J. E. Casida (1984): Interaction of lindane, toxaphene and cyclodienes with brain-specific t-butylbicyclophosphoro receptor. *Life Sci.* 35: 171-178
- [87] Matsumura, F. und K. Tanaka (1984): *Molecular basis of neuroexcitatory actions of cyclodiene-type insecticides*. Cell Mol. Neurotoxicol. New York, NY: Raven Press 225-240
- [88] Tanaka, K., Scott, J. G. und F. Matsumura (1984): Picrotoxinin receptor in the central nervous system of the American cockroach: its role in the action of cyclodiene-type insecticides. *Pestic. Biochem. Physiol.* 22: 117-127
- [89] Whitson, R. S. und L. A. Crowder (1979): Ion movement in the nervous system of the American cockroach, *Periplaneta americana* (L.), influenced by toxaphene. *J. Environ. Sci. Health Part B* 14: 545-562
- [90] Moorthy, K., Trottman, C., Spann, C. und D. Desai (1987): In vivo effects of toxaphene on calmodulin-regulated calcium-pump activity in rat brain. *J. Toxicol. Environ. Health* 11: 61-69
- [91] Trottman, C. und D. Desai (1979): Adenosine triphosphatase activities in brain, kidney, and liver of mice treated with toxaphene. *J. Environ. Sci. Health B* 14: 393-404
- [92] Fattah, K. M. und L. A. Crowder (1980): Plasma membrane ATPase from various tissues of the cockroach, *Periplaneta americana*, and mouse influenced by toxaphene. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 24: 356-363

- [93] U.S.EPA: United States Environmental Protection Agency (1980): Toxaphene: Ambient water quality criteria for toxaphene. Office of Water Regulations and Standards. EPA-440/5-80-076
- [94] Eisler, R. und J. Jacknow (1985): Toxaphene hazards to fish, wildlife, and invertebrates: A synoptic review. Biological report 85 (1.4), US Fish Wildl. Serv.
- [95] Johnson, D. W. (1968): Pesticides and fishes – A review of selected literature. Trans. Am. Fish Soc. 97: 398
- [96] Pollock, G. A. und W. W. Kilgore (1978): Toxaphene. Res. Rev. 50: 87-140
- [97] Bahadir, M., Parlar, H. und M. Spiteller (Hrsg.) (1995): Springer Umweltlexikon. Springer Verlag Heidelberg; ISBN 3-540-54003-2
- [98] Chandra, J. und G. Durairaj (1995): Toxicity of toxaphene on the lipid profile in the vital organs of guinea pig, *Cavia procellus*. J. Environ. Biol. 16: 75-81
- [99] Van Oostdam, J., Gilman, A., Dewailly, E., Usher, P., Wheatley, B., Kuhnlein, H., Neve, S., Walker, J., Tracy, B., Feeley, M., Jerome, V. und B. Kwavnick (1999): Human health implications of environmental contaminants in Arctic Canada: a review. Sci. Total Environ. 230: 1-82
- [100] CD Römpf Chemie Lexikon (1995): Version 1.0, G. Thieme Verlag, Stuttgart
- [101] U.S.EPA: United States Environmental Protection Agency (1976): Criteria document for toxaphene. Fed. Reg. 440/9-76-014
- [102] Verordnung über Höchstmengen an Rückständen von Pflanzenschutz- und Schädlingsbekämpfungsmitteln, Düngemitteln und sonstigen Mitteln in oder auf Lebensmitteln und Tabakerzeugnissen (Rückstands-Höchstmengenverordnung-RHmV), vom 1. 9. 1994, 3. Änd.- VO vom 26. 9. 1997 (BGBl. I S. 2366)
- [103] Kimmel, L. (1999): Charakterisierung von technischem Toxaphen und rückstandsanalytische Erfassung von relevanten Toxaphenkomponenten in Fischprodukten. Dissertation, TU München
- [104] Switzer, B., Lewin, V. und F. H. Wolfe (1973): DDE and reproductive success in some Alberta common terns. Can. J. Zool. 51: 1081-1086
- [105] Brumm-Scholz, M., Fioroni, P., Ide, I., Liebe, S., Stroben, E., Oehlmann, J. und B. Watermann (1994): Durch Organozinnverbindungen (TBT) aus Unterwasseranstrichen hervorgerufene Schäden bei der Strandschnecke (*Littorina littorea*).- In Lozan, J. L. et al. (Hrsg.), Warnsignale aus dem Wattenmeer. Blackwell Wissenschaftsverlag, Berlin: 159-163

- [106] Samosh, L. V. (1974): Chromosome aberration and character of satellite associations under casual action of polychlorocamphene on the human organism. *Tsitol. Genet.* 8: 24-27
- [107] Hurst, J. G., Newcomer, W. S. und J. A. Morrison (1974): Effects of DDT, toxaphene, and polychlorinated biphenyl on thyroid function in bobwhite quail. *Poult. Sci.* 53: 125-133
- [108] Bush, P. B., Kiker, J. T., Page, R. K., Booth, N. H. und O. J. Fletcher (1977): Effects of graded levels of toxaphene on poultry residue accumulation, egg production, shell quality, and hatchability in white leghorns. *J. Agric. Food Chem.* 25: 928-932
- [109] Haegele M. A. und R. K. Tucker (1974): Effects of 15 common environmental pollutants on eggshell thickness in mallards and coturnix. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 11: 98-102
- [110] Kuntz, D. J., Rao, N. G. S., Berg, I. E., Khattree, R. und A. K. Chaturvedu (1990): Toxicity of mixtures of parathion, toxaphene, and/or 2,4-D in mice. *J. Appl. Toxicol.* 10: 257-266
- [111] Calciu, C., Chan, H. M. und S. Kubow (1997): Toxaphene congeners differ from toxaphene mixtures in their dysmorphogenic effects on cultured rat embryos. *Toxicology* 26: 153-162
- [112] Reuber, M. D. (1979): Carcinogenicity of toxaphene: a review. *J. Toxicol. Environ. Health* 5: 729-748
- [113] Triolo, A. J., Lang, W. R., Coon, J. M., Lindstrom, D. und L. H. Daniel (1982): Effect of the insecticide toxaphene and carbaryl on induction of lung tumors by benzo[a]pyrene in the mouse. *J. Toxicol. Environ. Health* 9: 637-649
- [114] Hooper, N. K., Ames, B. N., Saleh, M. A. und J. E. Casida (1979): Toxaphene, a complex mixture of polychloroterpenes and a major insecticide, is mutagenic. *Science* 205: 591-593
- [115] Boon, J. P., Sleiderink, H. M., Helle, M. S., Dekker, M., van Schanke, A., Roex, E., Hillebrand, M. T. J., Klamer, H. J. C., Govers, B., Pastor, D., Morse, D., Wester, P. G. und J. de Boer (1998): The use of a microsomal in vitro assay to study phase I biotransformation of chlorobornanes (toxaphene®) in marine mammals and birds. *Comp. Biochem. Physiol. C* 121: 385-403
- [116] NCI (National Cancer Institute) (1977): Bioassay of toxaphene for possible carcinogenicity. Bethesda, M. D.: National Cancer Institute, Division of Cancer Cause

- and Prevention, Carcinogenesis Testing Program. DHEW/PUB/NIH-79-837; NCI-CG-TR-37; PB-292290
- [117] Waritz, R. S., Steinberg, M., Kinoshita, F. K., Kelly, C. M. und W. R. Richter (1996): Thyroid function and thyroid tumors in toxaphene-treated rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 24: 184-192
- [118] Steinel, H. H., Arlauskas, A. und R. S. U. Baker (1990): SCE induction and cellcycle delay by toxaphene. *Mutat. Res.* 230: 29-33
- [119] Kang, K. -S., Wilson, M. R., Hayashi, T., Chang, C. -C. und J. E. Trosko (1996): Inhibition of gap junctional intercellular communication in normal human breast epithelial cells after treatment with pesticides, PCBs, and PBBs, alone or in mixture. *Environ. Health Perspect.* 104: 192-201
- [120] Moser, G. J. und R. C. Smart (1989): Hepatic tumor-promoting chlorinated hydrocarbons stimulate protein kinase C activity. *Carcinogenesis* 10: 851-856
- [121] Sonnenschein, C. und A. M. Soto (1998): An updated review of environmental estrogen and androgen mimics and antagonists. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 65: 143-150
- [122] Schäfer, W. R., Zahradnik, H. P., Frijus-Plessen, N. und K. Schneider (1996): Anthropogene Substanzen mit unerwünschter Östrogenwirkung. *Umweltmed. Forsch. Prax.* 1: 35-42
- [123] Vonier, P. M, Crain, D. A., McLachlan, J. A., Guillette, L. J. Jr. und S. F. Arnold (1996): Interaction of environmental chemicals with the estrogen and progesterone receptors from the oviduct of the American alligator. *Environ. Health Perspect.* 104: 1318-1322
- [124] Knudsen, F. R. und T. G. Pottinger (1999): Interaction of endocrine disrupting chemicals, singly and in combination, with estrogen-, androgen-, and corticosteroid-binding sites in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology* 44: 159-170
- [125] Soto, A. M., Chung, K. L. und C. Sonnenschein (1994): The pesticides endosulfan, toxaphene, and dieldrin have estrogenic effects on human estrogen-sensitive cells. *Environ. Health Perspect.* 102: 380-383
- [126] Arnold, S. T., Klotz, D. M., Collins, B. M., Vonier, P. M., Guillette, L. J. und J. A. McLachlan (1996): Synergistic activation of estrogen receptor with combinations of environmental chemicals. *Science* 272: 1489-1492
- [127] Ramamoorthy K., Wang, F., Chen, I. C., Norris, J. D., McDonnell, D. P., Leonard, L. S., Gaido, K. W., Bocchinfuso, W. P., Korach, K. S. und S. Safe (1997): Estrogenic

- activity of a dieldrin/toxaphene mixture in the mouse uterus, MCF-7 human breast cancer cells, and yeast-based estrogen receptor assays: no apparent synergism. *Endocrinology* 138: 1520-1527
- [128] McLachlan, J. A. (1997): Synergistic effect of environmental estrogens: Report withdrawn. *Science* 277: 462-463
- [129] Collins, B. M., McLachlan, J. A. und S. T. Arnold (1997): The estrogenic and antiestrogenic activities of phytochemicals with the human estrogen receptor expressed in yeast. *Steroids* 62: 365-372
- [130] Arnold, S. T., Bergeron, J. M., Tran, D. Q., Collins, B. M., Vonier, P. M., Crews, D., Toscano, W. A. und J. A. McLachlan (1997): Synergistic responses of steroidal estrogens in vitro (yeast) and in vivo (turtles). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 18: 336-342
- [131] Bonefeld-Jørgenson, E. C., Autrup, H. und J. C. Hansen (1997): Effect of toxaphene on estrogen receptor functions in human breast cancer cells. *Carcinogenesis* 18: 1651-1654
- [132] Ratnasabapathy, R., Tom, M. und C. Post (1997): Modulation of the hepatic expression of the estrogen-regulated mRNA stabilizing factor by estrogenic and antiestrogenic nonsteroidal xenobiotics. *Biochem. Pharmacol.* 53: 1425-1434
- [133] Lundholm, C. E. (1991): Influence of chlorinated hydrocarbons, mercury and methylmercury on steroid hormone receptors from eggshell gland mucosa of domestic fowls and ducks. *Arch. Toxicol.* 65: 220-227
- [134] Soto, A. M., Sonnenschein, C., Chung, K. L., Fernandez, M. F., Olea, N. und F. O. Serrano (1995): E-screen assay as a tool to identify estrogens: An update on estrogenic environmental pollutants. *Environ. Health Perspect.* 103: 113-122
- [135] Parlar, H. (1991): Chlorierte Bornan-Derivate – eine neue Klasse umweltrelevanter Chemikalien. *Nachr. Chem. Tech. Lab.* 39: 26-37
- [136] Oehme, M., Schlabach, M., Kallenborn, R. und J. E. Haugen (1996): Sources and pathways of persistent polychlorinated pollutants to remote areas of the North Atlantic and levels in the marine food chain: A research update. *Sci. Total Environ.* 186: 13-24
- [137] Wania, F. und D. Mackay (1995): A global distribution model for persistent organic chemicals. *Sci. Total Environ.* 160/161: 211-232
- [138] Hargrave, B. T., Muir, D. C. G. und T. F. Bidleman (1993): Toxaphene in amphipods and zooplankton from the arctic ocean. *Chemosphere* 27: 1949-1963

- [139] Jansson, B., Vaz, R., Blomkvist, G., Jensen, S. und M. Olsson (1979): Chlorinated terpenes and chlordanes components found in fish, guillemot, and seal from Swedish waters. *Chemosphere* 8: 181-190
- [140] Kucklick, J. R., Mc Connell, L. L., Bidleman, T. F., Ivanov, G. P. und M. D. Walla (1993): Toxaphene contamination in Lake Baikal's water and food web. *Chemosphere* 27: 2017-2026
- [141] Willis, G. H. und L. L. McDowell (1987): Pesticide persistence on foliage. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 100: 23-73
- [142] Willis, G. H., McDowell, L. L., Harper, L. A., Southwick, E. R. und S. Smith (1983): Seasonal disappearance and volatilization of toxaphene and DDT from a cotton field. *J. Environ. Qual.* 12: 80-85
- [143] Bidleman, T. F. und C. E. Olney (1975): Long range transport of toxaphene insecticide in the atmosphere of the western North Atlantic. *Nature* 257: 475-477
- [144] Patton, G. W., Hinckley, D. A., Bidleman, T. F. und B. T. Hargrave (1989): Airborne organochlorines in the Canadian high arctic. *Tellus* 41B: 243-255
- [145] Arthur, R. D., Cain, J. D. und B. F. Barrentine (1976): Atmospheric levels of pesticides in the Mississippi Delta. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 15: 129-134
- [146] McConell, L. L., Kuklick, J. R., Bidleman, T. F. und M. D. Walla (1993): Long range atmospheric transport of toxaphene to Lake Baikal. *Chemosphere* 27: 2027-2036
- [147] Voldner, E. C. und W. H. Schroeder (1989): Modelling of atmospheric transport and deposition of toxaphene into the Great Lakes ecosystem. *Atmospheric Environment* 23: 1949-1961
- [148] Voldner, E. C. und W. H. Schroeder (1990): Long range atmospheric transport and deposition of toxaphene. In: Kurtz, D. A. (Hrsg.), *Long range transport of pesticides*. Lewis Publishers, INC, Chelsea, Michigan
- [149] Glassmeyer, S. T., de Vault, D. S., Myers, T. R. und R. A. Hites (1997): Toxaphene in Great Lakes fish: A temporal, spatial, and trophic study. *Environ. Sci. Technol.* 31: 84-88
- [150] Shoeib, M., Brice, K. A. und R. M. Hoff (1997): Airborne concentration of toxaphene congeners at Point Petre Ontario using gas chromatography-electron capture negative ion mass spectrometry (GC-ECNIMS) and multidimensional gas chromatography-electron capture detection (MDGCECC). *Organohalogen Compd.* 33: 68-69

- [151] Karlsson, H., Muir, D. C. G., Strachan, W., Backus, S., De Vault, D. und D. M. Whittle (1999): Enantiomer ratios of toxaphene in abiotic and biological samples from Lake Superior. *Organohalogen Compd.* 41: 597-600
- [152] Muir, D., Stern, G. und H. Karlsson (1999): Congener and enantiomer specific studies on the environmental fate of toxaphene. *Organohalogen Compd.* 41: 565-568
- [153] Shoeib, M., Brice, K. A. und R. M. Hoff (1999): Airborne concentrations of toxaphene congeners at Point Petre (Ontario) using gaschromatographyelectron capture negative ion mass spectrometry (GC-ECNIMS). *Chemosphere* 39: 849-871
- [154] Parlar, H., Angerhöfer, D., Coelhan, M. und L. Kimmel (1995): HRGC and HRGC-ECNI determination of toxaphene residues in fish with a new 22 components standard. *Organohalogen Compd.* 26: 357-362
- [155] de Boer, J. und P. G. Wester (1993): Determination of toxaphene in human milk from Nicaragua and fish and marine mammals from the northeastern Atlantic and the North Sea. *Chemosphere* 27: 1879-1890
- [156] Hoff, R. M., Bidleman, T. F. und S. J. Eisenreich (1993): Estimation of PCC loadings from the atmosphere to the Great Lakes. *Chemosphere* 27: 2047-2055
- [157] Harder, H. W., Christensen, J. R., Matthews, J. R. und T. F. Bidleman (1980): Rainfall input of toxaphene to a South Carolina estuary. *Estuaries* 3: 142-147
- [158] Villeneuve, J. -P. und C. Cattini (1986): Input of chlorinated hydrocarbons through wet and dry deposition to the western Mediterranean. *Chemosphere* 15: 115-120
- [159] Bidleman, T. F., Zaranski, M. T. und M. D. Walla (1988): Toxaphene: Usage, aerial transport and deposition. In: Schmidke, N. W. (Hrsg.), *Toxic contamination in large lakes. I: Chronic effects of toxic contaminants in large lakes.* Lewis Publishers, INC., Chelsea, Michigan
- [160] Muir, D., Kidd, K., Koczanski, K. und G. Stern (1997): Bioaccumulation of toxaphene congeners in freshwater and marine food webs. *Organohalogen Compd.* 33: 34-38
- [161] Terriere, L. C., Kiigemagi, U., Gerlach, A. R. und R. L. Borovicka (1966): The persistence of toxaphene in lake water and its uptake by aquatic plants and animals. *J. Agric. Food Chem.* 14: 66-69
- [162] Clark, J. M. und F. Matsumura (1979): Metabolism of toxaphene by aquatic sediment and a camphor degrading pseudomonad. *Arch. Environ. Toxicol.* 8: 285-298
- [163] Bradley, J. R., Sheets, T. J. und M. D. Jackson (1972): DDT and toxaphene movement in surface water from cotton plots. *J. Environ. Qual.* 1: 102-105

- [164] McDowell, L. L., Willis, G. H., Murphree, C. E., Southwick, L. M. und S. Sith (1981): Toxaphene and sediments yields in runoff from Mississippi Delta watershed. *J. Environ. Qual.* 10: 120-125
- [165] WHO (1984): Camphechlor. Environmental Health Criteria 45. World Health Organization, Genf, ISBN 92441541857
- [166] Miskimmin, B. M., Muir, D. C. G., Schindler, D. W., Stern, G. A. und N. P. Grift (1995): Chlorobornanes in sediments and fish after toxaphene treatment of lakes. *Environ. Sci. Technol.* 29: 2490-2495
- [167] Calero, S., Fomsgaard, I., Lacayo, M., Martinez, V. und R. Rugama (1992): Preliminary study of 15 organochlorine pesticides in Lake Xolontlán, Nicaragua. *Chemosphere* 24: 1413-1419
- [168] FAO/UN (1985): Production Yearbook für 1977-1985. 30-38, Rom, Italien
- [169] Seiber, J. N., Madden, S. C., McChesney, M. M. und W. L. Winterlin (1979): Toxaphene dissipation from treated cotton field environments: Component residual behaviour on leaves and in air, soil and sediments determined by gaschromatography. *J. Agric. Food Chem.* 27: 284-290
- [170] LaFleur, K. S., Wojeck, G. A. und W. R. McCaskill (1973): Movement of toxaphene and fluometuron through Dunbar soil to underlying ground water. *J. Environ. Quality* 2: 515-518
- [171] Gallagher, J. L., Robinson, S. E., Pfeiffer, W. J. und D. M. Seliskar (1979): Distribution and movement of toxaphene in anaerobic saline marsh soils. *Hydrobiologia* 63: 3-9
- [172] Jaquess, A. B., Winterlin, W. und D. Peterson (1989): Feasibility of toxaphene transport through sandy oil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 42: 417-423
- [173] Nash, R. G., Harris, W. G., Ensor, P. D. und E. A. Woolson (1973): Comparative extraction of chlorinated hydrocarbon insecticides from soils 20 years after treatment. *J. Assoc. Offic. Anal. Chem.* 56: 728-732
- [174] Nash, R. G. und W. G. Harris (1973): Chlorinated hydrocarbon insecticide residues in crops and soil. *J. Environ. Qual.* 2: 269-273
- [175] Nash, R. G. und E. A. Woolson (1967): Persistence of chlorinated hydrocarbon insecticides in soils. *Science* 157: 525-527
- [176] Stern, G. A., Loewen, M. D., Miskimmin, B. M., Muir, D. C. G. und J. B. Westmore (1996): Characterization of two major toxaphene components in treated lake sediment. *Environ. Sci. Technol.* 20: 2251-2258

- [177] Parlar, H., Fingerling, G., Angerhöfer, D., Christ, G. und M. Coelhan (1997): Toxaphene residue composition as an indicator of degradation pathways. In: Eganhouse, R. (Hrsg.): Molecular markers in environmental geochemistry: Source indicators and process probes. American Chemical Society (ACS), Washington, 346-364
- [178] Parlar, H. und D. Angerhöfer (1991): Chemische Ökotoxikologie. Springer Verlag, Berlin
- [179] Crowder, L. A. und E. F. Dindal (1974): Fate of <sup>36</sup>Cl-toxaphene in rats. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 12: 320-327
- [180] Ohsawa, T., Knox, J. R., Khalifa, S. und J. E. Casida (1975): Metabolic dechlorination of toxaphene in rats. J. Agric. Food Chem. 23: 98-106
- [181] Hassall, K. A. (1971): Reductive dechlorination of DDT: The effect of some physical and chemical agents on DDD production by pigeon liver preparations. Pestic. Biochem. Physiol. Vol.1: 259
- [182] Maiorino, R. M., Whiting, F.M., Brown, W.H., Reid, B.L. und Stull, J.W. (1984): Metabolism of toxaphene by the isolated perfused bovine liver. Arch. Environ. Contam. Toxicol. Vol.13: 565-571
- [183] Saleh, M. A., Skinner, R. F. und J. E. Casida (1979): Comparative metabolism of 2,2,5-endo,6-exo,8,9,10-heptachlorobornane and toxaphene in six mammalian species and chickens. J. Agric. Food Chem. 27: 731-737
- [184] Abdel Aziz, S., Shafik, M. und El-Khishen, S. (1965): The Separation of the in vitro breakdown products of toxaphene using paper chromatography. Alex. J. Agric. Res. 13, 37-44
- [185] Abdel Aziz, S., Shafik, M. und El-Khishen, S. (1966): A study of the in vitro breakdown of toxaphene by the cotton leafworm using the colorimetric methods of the analysis. Alex. J. Agric. Res. 14, 13-34
- [186] Muir, D. C. G., Wageman, R., Grift, N. P., Norstrom, R. J., Simon, M. und J. Lien (1990): Organochlorine chemical and heavy metal contaminants in white-banded dolphins (*Lagenorhynchus albirostris*) and pilot whales (*Globicephala malaene*) from the coast of Newfoundland, Canada. Arch. Environ. Toxicol. Chem. 17: 613-629
- [187] Muir, D. C. G., Ford, C. A., Grift, N. P., Steward, R. E. A. und T. F. Bidleman (1992): Organochlorine contaminants in narwhal (*Monodon monoceros*) from the Canadian Arctic. Environ. Pollut. 75: 307-316

- [188] Vetter, W., Oehme, M. und Luckas, B. (1993): Massspectrometric and gas chromatographic identification of the two main toxaphene congeners present in marine mammals as minor constituents in the technical product Chemosphere, Vol.27 597-605
- [189] Williams, R. R. und Bidleman, T. F. (1978): Toxaphene degradation in Estuarine sediments J. Agric. Food Chem. 26: 280-282
- [190] Mirsatari, S., McChesney, M., Craigmill, A., Winterlin, W. und J. Seiber (1987): Anaerobic microbial dechlorination: An approach to on-site treatment of toxaphene contaminated soil. J. Environ. Sci. Health 22: 663-690
- [191] Fingerling, G. (1995): Umwandlung von isolierten Toxaphenkomponenten unter abiotischen und biotischen Bedingungen. Dissertation, Gh Kassel
- [192] Fingerling, G., Hertkorn, N. und H. Parlar (1996): Formation and spectroscopic investigation of two hexachlorobornanes from six environmentally relevant toxaphene components by reductive dechlorination in soil under anaerobic conditions. Environ. Sci. Technol. 30: 2984-2992
- [193] Brett, C. H. und Bowery, T. G. (1958): J. Econ. Entomol. 51, 818
- [194] Khalifa, S., Holmstead, R. L. und J. E. Casida (1976): Toxaphene degradation by iron(II) protoporphyrin systems. J. Agric. Food Chem. 24: 277-282
- [195] Becker, F. (1987): Entwicklung einer Arbeitsmethode zur Bestimmung von Toxaphen-Rückständen in Umweltproben. Dissertation, TU München
- [196] Parlar, H. (1988): Photoinduced reactions of two toxaphene compounds in aqueous medium and adsorbed on silica gel. Chemosphere 17: 2141-2150
- [197] Lach, G. (1990): Zur Problematik der rückstandsanalytischen Bestimmung von Multikomponenten-Gemischen in der Umwelt - aufgezeigt am Beispiel des Insektizides „Toxaphen“. Dissertation, Gh Kassel
- [198] Lach, G., Ständecke, U., Pletsch, B., Xu, L. und H. Parlar (1991): Ein Beitrag zur Quantifizierung von Toxaphenrückständen in Fischölen. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 192: 440-444
- [199] Müller, R. (1988): Bestimmung von Toxaphen- und PCB-Rückständen in ausgewählten Nahrungsmitteln und Umweltproben. Dissertation, TU München
- [200] Xu, L. (1994): Quantifizierung von Toxaphenrückständen mit Hilfe eines neuen Standards und umweltrelevanten Toxaphenkomponenten in Fisch und Fischprodukten. Dissertation, Gh Kassel

- [201] Karlsson, H., Oehme, M. und J. Klungsøyr (1997): 4,5-dichloro-chlordene, a new synthetic internal standard for the quantification of toxaphene and chlordane congeners in fish from the Barents Sea and North Atlantic. Application and experience. *Chemosphere* 34: 951-963
- [202] Specht, W. und M. Tillkes (1985): Gaschromatographische Bestimmung von Rückständen an Pflanzenbehandlungsmitteln nach Clean-up über Gel-Chromatographie und Mini-Kieselgel-Säulen-Chromatographie. *Fresenius Z. Anal. Chem.* 322: 443-455
- [203] Fürst, P., Fürst, C. und W. Groebel (1989): Zur Analytik polychlorierter Terpene in fetthaltigen Lebensmitteln am Beispiel von Fischölen. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 85: 273-279
- [204] Coelhan, M., Fingerling, G., Christ, G. und H. Parlar (1998): Toxaphen in der Umwelt. Teil 2: Analytik von Toxaphenrückständen. *Z. Umweltchem. Ökotox.* 10: 109-122
- [205] Alder, L., Palavinkas, R. und P. Andrews (1996): Enantioselective determination of toxaphene components in fish, monkey adipose tissue from a feeding study and in human milk. *Organohalogen Compd.* 28: 410-415
- [206] Krock, B., Vetter, W. und B. Luckas (1997): PCB/toxaphene group separation on silica prior to congener specific determination of toxaphene residues in fish and other samples by GC/ECD. *Chemosphere* 35: 1519-1530
- [207] Vetter, W. und G. Scherer (1998): Variety, structures, GC properties, and persistence of compounds of technical toxaphene (CTTs). *Chemosphere* 37: 2525-2543
- [208] Oehme, M. (1999): State-of-the art of toxaphene analysis: Separation and detection. Report on the proceedings of the Quasimeme Workshop on Toxaphene: S. 4-6
- [209] Kimmel, L., Angerhöfer, D., Gill, U., Coelhan, M. und H. Parlar (1998): HRGCECD and HRGC-ECNI-SIM-HRMS quantification of toxaphene residues by six environmentally relevant chlorobornanes as standard. *Chemosphere* 37: 549-558
- [210] Glassmeyer, S. T., Shanks, K. E. und R. A. Hites (1999): Automated toxaphene quantification by GC-MS. *Anal. Chem.* 71: 1448-1453
- [211] Kaltenecker, M., Schwind, K. -H., Ueberschär, K. -H., Hecht, H. und M. Petz (1998): Transfer of toxaphene from animal feed to laying hens and their eggsfirst results of a withdrawal study. *Organohalogen Compd.* 35: 281-286
- [212] Vetter, W., Klobes, U., Krock, B. und B. Luckas (1997): Congener-specific separation of compounds of technical toxaphene on a nonpolar CP-Sil 2 phase. *J. Micro. Sep.* 9: 29-36

- [213] Bartha, R., Vetter, W. und B. Luckas (1997): Optimized pressure-pulse-splitless injection and electron-capture, negative ionization detection for the congener specific determination of compounds of technical toxaphene. *Fresenius J. Anal. Chem.* 358: 812-817
- [214] Alder, L., Beck, H., Khandker, S., Karl, H. und K. Lehmann (1997): Levels of toxaphene indicator compounds in fish. *Chemosphere* 34: 1389-1400
- [215] Alder, L., Bache, K., Beck, H. und H. Parlar (1995): Collaborative study on toxaphene indicator compounds chlorobornanes in fish oil. *Organohalogen Compd.* 26: 369-374
- [216] Lach, G. und H. Parlar (1991): Comparison of several detection methods for toxaphene (Camphechlor) residue analysis. *Toxicol. Environ. Chem.* 31: 209-219
- [217] Buser, H. R., Oehme, M., Vetter, W. und B. Luckas (1993): Partial structure elucidation of the most abundant octa and nonachlorotoxaphene congeners in marine mammals by using conventional electron ionization mass spectrometry and mass spectrometry/mass spectrometry. *Fresenius J. Anal. Chem.* 347: 502-512
- [218] Swackhamer, D. L., Charles, M. J. und R. A. Hites (1987): Quantification of toxaphene in environmental samples using negative chemical ionization mass spectrometry. *Anal. Chem.* 59: 913-917
- [219] Lau, B. P. Y., Weber, D. und P. Andrews (1996): GC/MS analysis of toxaphene: a comparative study of different mass spectrometric techniques. *Chemosphere* 32: 1021-1041
- [220] Carlin, F. J. und J. M. Hoffmann (1997): The effect on calculated results of analysis caused by the variability among toxaphene reference standards. *Organohalogen Compd.* 33: 70-75
- [221] Ballschmitter, K. und M. Zell (1980): Baseline studies of the global pollution. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* 8: 15-35
- [222] Andersson, Ö., Linder, C.-E., Olsson, M., Reutergård, L., Uvemo, U. -B. und U. Wideqvist (1988): Spatial differences and temporal trends of organochlorine compounds in biota from the northwestern hemisphere. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 17: 755-765
- [223] Wideqvist, U., Jansson, B., Olsson, M., Odsjö, T., Reutergård, L. und U. -B. Uvemo (1993): Temporal trends of PCC in guillemot eggs from the Baltic. *Chemosphere*, 27: 1987-2001

- [224] Muir, D. C. G., Wageman, R., Grift, N. P., Norstrom, R. J., Simon, M. und J. Lien (1990): Organochlorine contaminants in belugas, *Delphinapterus leucas*, from Canadian waters: Can. Bull. Fish Aquat. Sci. 224: 165-190
- [225] Newsome, W. H. und J. J. Ryan (1999): Toxaphene and other chlorinated compounds in human milk from northern and southern Canada: A comparison. Chemosphere 39: 519-526
- [226] Vetter, W., Klobes, U. und B. Luckas (1999): Levels of eight toxaphene congeners in different tissues of marine organisms. Organohalogen Compd. 41: 587-590
- [227] Paasivirta, J. und T. Rantio (1991): Chloroterpenes and other organochlorines in Baltic, Finnish and Arctic wildlife. Chemosphere 22: 47-55
- [228] Niethammer, K. R., Baskett, T. S. und D. W. White (1984): Organochlorine residues in three heron species as related to diet and age. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 33: 491-498
- [229] Kallenborn, R., Haugen, J. -E. und S. Nybø (1996): Toxaphenes and other organochlorines in Dippers (*Cinclus cinclus L.*) from southern Norway. Organohalogen Compd. 28: 469-472
- [230] Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe (1996): Schadstoffe in Elbefischen-Belastung und Vermarktungsfähigkeit-von der Grenze bis zur See (1994/95). Gaumert, T., Wassergütestelle Elbe, Neßdeich 120/121, 21119 Hamburg
- [231] Klobes, U., Vetter, W., Glotz, D., Luckas, B., Skírnisson, K. und P. Hersteinsson (1998): Levels and enantiomeric ratios of chlorinated hydrocarbons in liver of arctic fox (*Alopex Lagopus*) and adipose tissue and liver of a polar bear (*Ursus maritimus*) sampled in Iceland. Int. J. Environ. Anal. Chem. 69: 67-81
- [232] Niessen, K. H., Helbich, H. M., Teufel, M., Witt, K., Böhn, I. und J. Sartorius (1998): Altbekannte Schadstoffe und neuentdeckte Toxaphene im Fettgewebe von Kindern. Monatsschr. Kinderheilkd. 146: 235-240
- [233] Parlar, H., Gäb, S., Nitz, S. und F. Korte (1976): Zur Photochemie des Toxaphens: Reaktionen von chlorierten Bornanderivaten in Lösung und adsorbierten Kieselgel. Chemosphere 5: 333-338
- [234] Loewen, M. D., Stern, G. A., Westmore, J. B., Muir, D. C. G. und H. Parlar (1998): Characterization of three major toxaphene congeners in arctic ringed seal by electron ionization and electron capture negative ion mass spectrometry. Chemosphere 36: 3119-3135

- [235] Witte, J., Bütthe A. und W. Ternes (2000): Congener specific analysis of toxaphene in eggs of seabirds from Germany by HRGC-NCI-MS using a carborane-siloxane copolymer phase (HT-8). *Chemosphere* 41: 529-540
- [236] Witte, J., Bütthe A. und W. Ternes (2000): Toxaphene levels in eggs of Common terns *Sterna hirundo* breeding at the North Sea coast of Germany - a temporal and spatial study. 7th Seabird Group Conference Wilhelmshaven, Germany, 17. – 19. März 2000, Posterbeitrag, in Druck
- [237] Fingerling, G. und H. Parlar (1994): Mikrobieller Abbau von Toxaphenkomponenten im Boden. Posterbeitrag zur GDCh-Tagung „Fortschritte in der Bewertung von Stoffen“, Heidelberg, 3.-4. November 1994
- [238] Maga, J.A.; Egg and egg product flavour. *J. Agric. Food Chem.* 90, 9. (1982)
- [239] Fingerling, G., Coelhan, M., Angerhöfer, D. und H. Parlar (1997): Structurestability of chlorinated bornanes in the environment. *Organohalogen Compd.* 33: 17-21
- [240] Schwind, K. -H., Kaltenecker, M. und K. -H. Ueberschär (1998): Untersuchungen zum Übergang (Carry-over) des Breitbandinsektizids Toxaphen in Legehühner und Eier. *Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach* 141: 350-353